



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

III. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2019ko maiatzaren 27, 28 eta 29
Baiona, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

OSASUN ZIENTZIAK

**Ingurune aberastuak
nerabezaroan alkoholarekin
trataturiko C57BL6J saguen
iraupen luzeko CB1 hartzailearen
menpeko plastikotasuna
berreskuratzen du. -Paradigma
honen azpian ezkutatzen
diren mekanismo zelularren bila-**

*Irantzu Rico-Barrio, Sara Peñasco,
Ianire Buceta, Nagore Puente, Ane
Olea, Leire Lekunberri, Maitane
Serrano, Leire Reguero, Jon Egaña-
Huguet, Itziar Terradillos, Svein
Achicallende, Inmaculada
Gerrikagoitia, Izaskun Elezgarai eta
Pedro Grandes*

49-56 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iii.04.06>



Ingurune aberastuak nerabezaroan alkoholarekin trataturiko C57BL6J saguen iraupen luzeko CB₁ hartzailearen mendeko plastikotasuna berreskuratzen du.

-Paradigma honen azpian ezkututzen diren mekanismo zelularren bila-

Rico-Barrio, Irantzu^{1,2}; Peñasco, Sara^{1,2}; Buceta, Ianire^{1,2}; Puente, Nagore^{1,2}; Olea, Ane^{1,2}; Lekunberri, Leire^{1,2}; Serrano, Maitane^{1,2}; Reguero, Leire^{1,2}; Egaña-Huguet, Jon^{1,2}; Terradillos, Itziar^{1,2}; Achicallende, Svein^{1,2}; Gerrickagoitia, Inmaculada⁽²⁾; Elezgarai, Izaskun^{1,2} eta Grandes, Pedro^{1,2}

¹Neurozientziak Saila, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea,

²Achucarro Basque Center for Neuroscience, UPV/EHU Zientzia Parkea

irantzu.rico@ehu.eus

Laburpena

Gizartean duen prebalentzia-tasa altua dela eta, gehiegizko alkohol-kontsumoa, batez ere nerabezaroan, osasun arazo larria bilakatzen ari da. Alkohol kontsumoaren erregulazioan, endokannabinoiden sistemak funtsezko eginkizun bat betetzen du. Izan ere, etanolaren gehiegizko kontsumoak CB₁ hartzailearen mendeko iraupen luzeko plastikotasunaren galera eragiten du. Ingurune aberastuak (IAk) hainbat aldaketa mesedegarri eragiten ditu garunaren garapen prozesuan; garun lesio ezberdinen berreskurapenean duen parte-hartzea egiaztatuz. Gure xedea, nerabezaroan alkohol-kontsumoaren ondorioz sorturiko iraupen luzeko plastikotasun asalduren aurrean IAk duen potentzialtasun terapeutikoa aztertzea da; baita onura posible horien azpian dauden mekanismo zelularrak ere.

Hitz gakoak: Alkohol-kontsumoa, endokannabinoiden sistema, ingurune aberastua, plastikotasuna.

Abstract

Abusive alcohol consumption, especially during the adolescent stage, has become one of the main problems that most concern our society. There is considerable evidence for the involvement of the endocannabinoid system in alcohol. In fact, alcohol abuse promotes long-term CB₁ mediated loss of plasticity. Enriched environment (EE) significantly facilitates recovery from brain injury through the interaction with functional changes occurring along brain development. Our aim is to investigate the therapeutic potential long-term effect of the EE on the plasticity impairment induced by chronic ethanol intake during adolescence; including the cellular mechanisms that underlie the possible beneficial effects.

Keywords: Alcohol, endocannabinoid system, enriched environment, plasticity.

1. Sarrera eta motibazioa

Alkohola nerabeek astebururo gehien kontsumitzen duten mendekotasun-sortzailea da. Munduko Osasun Erakundearen (MOE) arabera alkohola da; kokainaren, bizigarri sintetikoen, haluzinogenoen edo kannabisaren deribatuen gainetik, pertsonen osasun fisikorako, psikorako eta sozialerako drogarik arriskutsuena. Adingabeko gazteak gero eta goizago hasten dira gehiegizko alkohol-kontsumo intentsiboan murgiltzen eta asteburuetakozko mozkorraldiak, botiloia edo "litroak egin" deritzon ohiturak handipen nabarmena adierazi du azken hamarkadan (Osasun Saila, 2014). Botiloia bi orduko tartean bost edari edo gehiago hartzean datza. Ohitura horrek epe luzeko ondorio neurobiologikoak eta psikopatologikoak eragiten ditu; neurogenesiararen inhibizioa, neurotransmisioaren galera, plastikotasunaren asaldura (Keshavan et al., 2014), eta prozesu hauekin zuzenki erlazionatuta dagoen narriadura kognitiboa aipatzekoak dira, besteak beste (Rico-Barrio et al., 2018). Hori gutxi balitz bezala, alkoholak arre-ta maila murrizten du, gizarte harremanak zaildu, portaera arazoak sortu eta epe luzera, mendekotasuna sortzeko arriskua handitzen du.

Aipatutako kalte horiek jasateko arriskua handiagotu egiten da kontsumoa nerabezaroan hasi bada, non garunean etengabeko garapen eta heltze prozesu bat ematen den (Crews et al., 2016). Nerabezaroa bizitzako bigarren hamarkadarekin bat datorren aldaketa denboraldi garrantzitsu bat da. Tarte horretan, garun sentikortasuna handitzen da; etengabeko garapen fisiko, psikiko, emozional eta soziala gertatuz. Hortaz, nerabezaroko gehiegizko alkohol kontsumoak, epe luzeko garun erasana jasateko arriskua esanguratsuki handiagotzen du (Kyzar et al., 2016).

Sistema kannabinoide endogenoa (SKE) garuneko komunikazio sistema fisiologiko moldakor neuromodulatzaile bat da eta alkohol kontsumoaren erregulazioan, funtsezko eginkizun bat betetzen du. SKE bi oinarriko endokannabinoidetaz (eKB) konposatuta dago: anadamina (AEA) eta 2-arakinodilglicerol (2-AG). EKB hauen efektuak bi hartzaile nagusien bitartez gauzatuko dira: CB₁ eta CB₂. Azken urteotako ikerketek ere TRPV1 hartzailea SKEarekin zuzenki erlazionatuta dagoela agerian utzi dute (Ianotti et al., 2016). N-azil fosfatidiletanolamina (NAPE-PLD) eta diazilglicerol lipasa (DAGL) entzimek AEA eta 2-AGren biosintesian parte hartzen dute. Bestalde, gantz azidoen amida hidrolasa (FAAH) eta monoazilglicerol lipasa (MAGL); AEA eta 2-AGren degradazioaz arduratuko dira, hurrenez hurren (Ianotti et al., 2016). SKE alkohol kontsumo eta mendekotasun portaeren iturri garrantzitsu gisa identifikatu da (Pava eta Woodward, 2012). CB₁ hartzaile kannabinoideen agonisten administrazio akutua, dosiaren mendeko alkohol kontsumoaren handipen bat dakar (Colombo et al., 2002); CB₁ hartzailearen alderantzizko agonistak, aldiz, borondatezko alkohol kontsumoaren murriztapen esanguratsua erakutsi dute (Economidou et al., 2006).

Ingurune aberastua (IA) “objektu desberdinen, elkarrekintza soziala eta ariketa fisikoaren konbinazioa da” (Rosenweig et al., 1978). Ingurugiro berezi hauek ohiko laborategi kaiolak (1. irudia a) baino handiagoak dira. Bertan, korrika egiteko gurrpilak, aldapak, tunelak eta kolore, tamaina eta ehundura ezberdinetako objektuak kokatzen dira. Objektu hauei esker, animalien zentzumenen kitzikapena, ariketa fisikoa eta elkarrekintza soziala sustatu egiten dira, garunaren gaitasun motorra, sentsitiboa eta kognitiboa sustatuz eta garapen prozesuko aldaketa molekular, anatomiko zein funtzionalak bermatuz (Yau et al., 2014). IAk plastikotasun aldaketa nabarmenak bultzatzen ditu eta deskribatutako onura hauek, faktore neurotrofikoaren askapenaren areagotzearekin, arborizazio dendritiko handiago batekin eta helduaroan behatutako sinaptogenesi (sinapsien eraketa) eta neurogenesi (neuronen sorrera) hipokanpalaren handipenarekin lotuta daude (Yau et al., 2014). Hortaz, ingurune aberastuaren paradigma honek garun lesio ezberdinen berreskurapenean izan dezakeen parte-hartze garrantzitsua zein onuragarria azpimarratu beharra dago.

1. irudia. a) Ohiko laborategi kaiola eta b) ingurune aberasturiko kaiola

a



b



2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Gehiegizko alkohol kontsumoaren ohitura, sahiestu edo ekidin daitekeen lehen hilkortasun kausa da. Oro har, MOEk onartutako datuen arabera, alkoholaren gehiegizko kontsumoak edo alkoholismoak 3,3 milioi hildako eragiten ditu urtero. Azken urteetan betekadetan oinarritutako alkohol-kontsumoa,

sendo nagusitu da gazteen ohituren artean, eta inkesten arabera, 14-18 urte bitarteko gazteriaren herena tradizio horretan murgildu da azken hilabeteen (Osasun Saila 2014). Alde batetik, epe motzeko arriskuak ekar ditzake eta hain ezagunak ez diren, eta berriki behatu izan ditugun iraupen luzeko narriadura kognitiboa eta plastikotasun sinaptikoan inplikaturiko dagoen seinaleztapen endokannabinoiden fisiologikoa aupadatzen du. Zehazki, nerabegaroko 4 astetan zehar aldizkako %20ko alkohol kontsumoan egon diren sagu arren CB₁ hartzailearen mendeko iraupen luzeko plastikotasuna galtzen da [Peñasco et al., 2015 (argitaratzeko zain)].

Ingurune aberastuak hainbat aldaketa eragiten ditu garunean; kortexaren pisua, lodiera zein tamaina handiagotu eta ikas-ahalmenarekin eta oroimen prozesuekin erlazionaturiko dagoen hipokanpoa deritzon eremu anatomiko bolumenaren handipena deskribatu dira besteak beste (Bennett et al., 1969; Diamond et al., 1976). Zentzumeneren garapena eta kitzikapena bultzatzeaz gain, angiogenesisia (lehendik dauden odol-hodietatik odol-hodi berriak sortzea) (He et al., 2017), sinaptogenesisia (Birch et al., 2013), neurogenesisia eta faktore neurotrofikoaren adierazpena eta askapena sustatzen ditu (Ickes et al., 2000), hipokanpoan bereziki. Horrez gain, apoptosi (zelulen heriotza programatua) prozesuaren murriztapenean ere parte hartzen duela frogatu da (Chen et al., 2017).

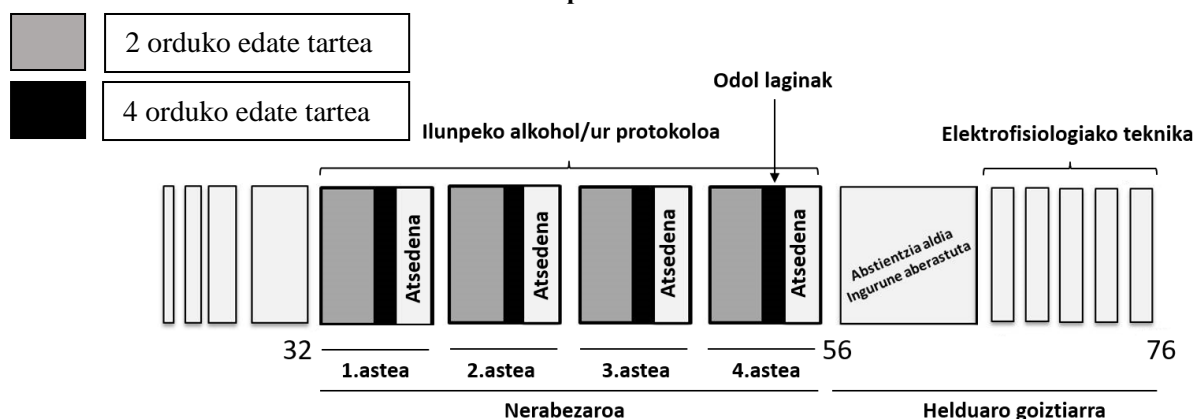
Ingurune berastuak eskaintzen duen berritasunak, ariketa fisikoak eta gizarte-elkarrekintzak, garuneko sari-zirkuituak behin eta berriz aktibatzea eramatean du, drogen mendekotasunean hain berezigarria den substantzia psikoestimulatuaren autokudeaketa konpulsiboa murriztuz. Era berean, arratoietan aurkeztu den drogekiko kalteberatasuna ere gutxiagotu egiten dela egiaztatzen da (Green et al., 2002). Prozesu hauen guztien egiaztapenaren ondorioz, aberastutako ingurugiroak tresna preziazatutako batean bilakatu dira drogen mendekotasunari aurre egiteko. Izan ere, paradigma esperimental honek nerabegaroko gehiegizko alkohol kontsumoak eragindako desoreka, koordinazio motorren kaltea eta narriadura kognitiboa berreskuratzen ditu (Rico-Barrio et al., 2018).

Ikerlan honen helburua, nerabegaroko gehiegizko alkohol-kontsumoaren ondorioz sorturiko iraupen luzeko plastikotasun asalduren aurrean ingurune aberastuak duen potentzialtasun terapeutikoa aztertzea da: baita onura posible horien azpian dauden mekanismo zelularren ikerketa ere. Lortutako emaitzen ekarpenari esker, paradigma honek helduaroan eduki dezakeen ahalmen terapeutikoa aztertzeke aukera emango digu.

3. Ikerketaren muina

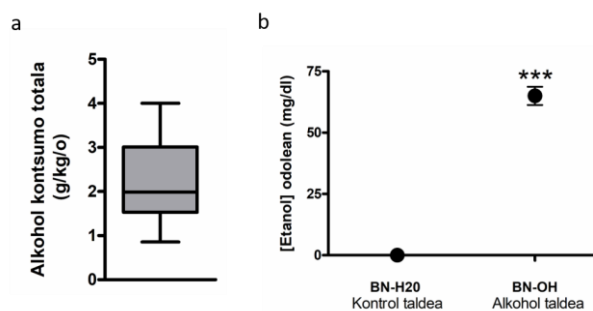
Azterlan honen helburua gauzatzeko, lau astetan zehar (jaio osteko 32. egunetik 56. egunera arte), nerabegaroko C57BL6J ar saguei (5 animali talde esperimental bakoitzeko), alkohol/ur edateko ilunpeko protokolo batean barneratu zitzaizkien. Asteko lehenengo hiru egunetan, animaliak bi orduz segidan egon ziren alkohola % 20an (alkohol taldea) edota ura (kontrol taldea) era aske batean edaten. Laugarren egunean, edateko denbora-tartea lau orduz luzatu zen eta asteko gainontzeko hiru egunak atsedena gisa hartu ziren (ura eta janaria *ad libitum*) (2. irudia) (Rhodes et al., 2007).

2. irudia. C57BL6J ar saguei ezarritako alkohola edateko lau asteko ilunpeko alkohol/ur protokoloa eta diseinu esperimentalaren eskema



Alkohol eredu honen egiazkotasuna baieztatzeko, prozeduran zehar edandako batz besteko alkohol kontsumo totala [(g/kg/o)] neurtu zen (3a. irudia), 2.10 g/kg/o-ko balioa lortuz. Horrez gain, odol laginak buztaneko alboko zainetik hartu ziren, ilunpeko alkohol/ur esposizio prozeduraren 4 orduko azkenengo saioa bukatu eta 30 minututara. Horrela, kit komertzial baten bitartez odoleko alkohol kontzentrazioa aztertu zen (3b. irudia). Alkohol taldeko saguek (BN-OH) kontrolekin alderatuz (BN-H2O) odoleko etanol kontzentrazio esanguratsuak aurkeztu zituzten, eredu honen baliotasuna bermatuz (2b irudia). Ilunpeko alkohol/ur esposizioa amaitu ostean, animaliak abstinentsia denboraldian barneratu ziren (jaio osteko 56. egunetik 76. egunera arte) helduaro goiztiarrera arte, alegia. Bi asteko abstinentsia aldiaz baliatuz, animaliak ingurune aberastuko karioletan barruratu ziren. Beraz, ikerketa honi hasiera emateko lau talde esperimental osatu ziren: Baldintza normaletan hazitako kontrol taldea (BN-H2O; n=5), baldintza normaletan hazitako alkohol taldea (BN-OH; n=5), ingurune aberastuko kontrol taldea (IA-H2O; n=5) eta ingurune aberastuko alkohol taldea (IA-OH; n=5).

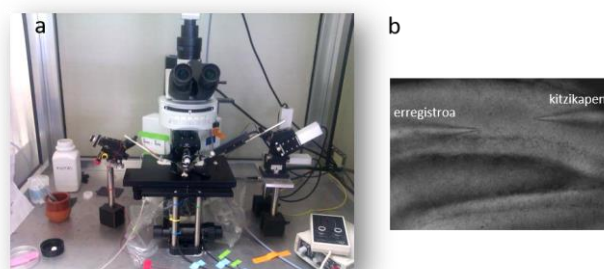
3. irudia. C57BL6J ar saguek lau astetan zehar edandako a) batz besteko alkohol kontsumo totalaren maila tratamenduan zehar eta b) odoleko etanol kontzentrazioaren neurketa tratamenduaren azkenengo egunean (p=0.000)**



3.1. Teknika elektrofisiologikoak

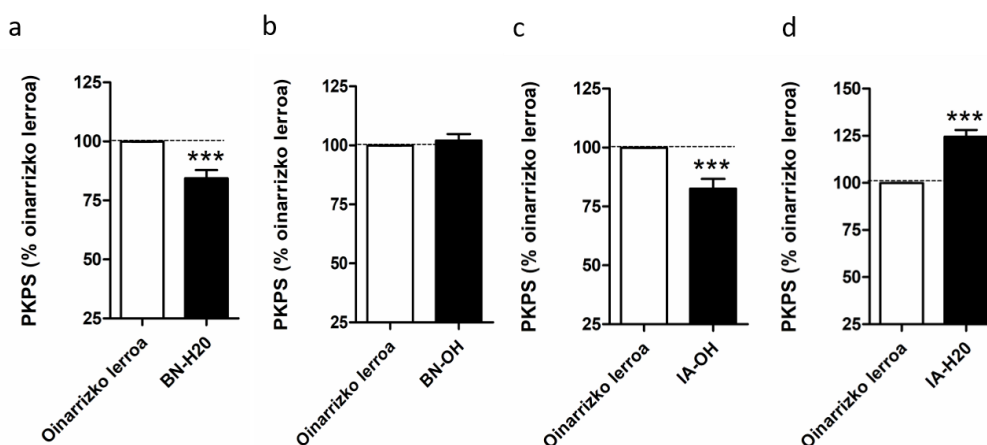
C57BL6J sagu helduak, abstinentsia aldia eta gero, elektrofisiologiako tekniken bitartez (4a. irudia), talde esperimental ezberdinen (BN-H2O/BN-OH/IA-OH/IA-H2O) hipokanpoko iraupen luzeko plastikotasunaren ikerketa zertu zen; baita behatutako plastikotasun mota bakoitzaren azpian ezkutatzen ziren mekanismo zelularren azterketa ere. Elektrodo kitzikatzaila erdialdeko bide zulatzailearen zuntzetan kokatu zen eta erregistroko elektrodoa, berriz, hortz bihurguneko geruza molekularren barneko herenean (4b. irudia). Esperimentu hauetan, iraupen luzeko depresioaren (ILD) plastikotasun motaren azterketa sakona egin zen. Ikerlanean erabilitako maiztasun baxuko kitzikapenaren protokoloa (10 minutu 10 Hz-tara) CB₁ hartzaile kannabinoidearen mendeko iraupen luzeko transmisio sinaptiko kitzikatzailaren depresio (CB₁-ELD) motako plastikotasun sinaptikoa eragiteko gai zela frogatu zen aldeztatik gure laborategian (Puente et al., 2011).

4. irudia. a) Elektrofisiologiako aparatua eta b) elektrodo kitzikatzailaren eta erregistro elektrodoaren kokapena hipokanpoan.



BN-OH taldeko animalia alkoholikoek, kontrolekin parekatuz (BN-H2O) CB₁ hartzailearen bitarteko iraupen luzeko plastikotasunaren galera esanguratsua adierazi zuten; kontroletan maiztasun baxuko kitzikapenaren protokoloarekin lortutako ILDk deuseztatuz (5.a,b irudia, Peñasco et al., argitaratzeko zain). Harrigarriro, animalia alkoholiko hauek aberastutako katioletan sartzean (IA-OH), kontrol taldeko bezalako ILDa erakutsi zituzten (5.c irudia). Bestalde, IA-H2O taldeko animaliek beste motako plastikotasun mota bat adierazi zuten, iraupen luzeko indartzea (ILI) deritzon plastikotasuna, hain zuzen ere. BN-H2O taldean behatutako ILDa CB₁, mGluR1, mGluR5 hartzaileen bitartez eta 2-AG endokannabinoidearen bidez ematen dela egiaztatu zen (Peñasco et al., argitaratzeko zain)

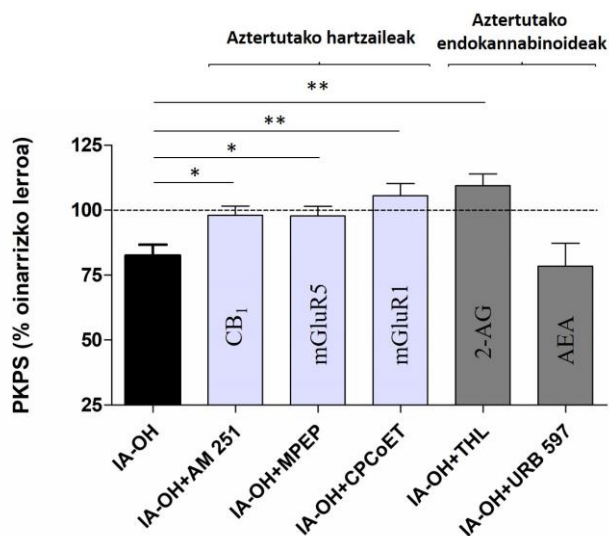
5. irudia. a) BN-H₂O, b) BN-OH, c) IA-OH eta d) IA-H₂O taldeetako iraupen luzeko plastikotasuna azterketa. Potentzial kitzikatzaille postsinaptikoa (PKPS). ***p=0.000. Balioak t t-testaren birtartez analizatu dira talde esperimental bakoitza bere oinarritzko lerroarekin konparatuz.



3.2. SKERen implikazioa IA-OH taldean

IA-OH taldeak plastikotasunean eragiten zituen onurak aztertu ondoren, farmako antagonista ezberdinen erabilpenaz, SKE osagaien implikazioa aztertu zen; plastikotasun mota honen azpian aurkitzen ziren mekanismo zelularren bilaketari hasiera emanez. Zehazki CB₁ hartzailearen, 2-AGren eta AEAren endokannabinoideen eta mGluR5 eta mGluR1 hartzaile metabotropikoen implikazioa ikertu zen. Emaitzek nola CB₁, mGluR5, mGluR1 hartzaileen hala 2-AG endokannabinoidearen implikazio zuzena adierazi zuten behatutako iraupen luzeko depresioetan. Izan ere, hartzaile hauen antagonistek eta 2-AG entzimaren inhibizioak jatorrizko animalian behatutako iraupen luzeko depresioa desagerrarazten du, beraien implikazioa iradokiz. Anandamidak, berriz, ez zuen inongo eraginik aurkeztu plastikotasun mota hau aztertzerakoan, URB 597 farmakoa erabiltzean jatorrizko animalian behatutako ILD mantenduz (6. irudia).

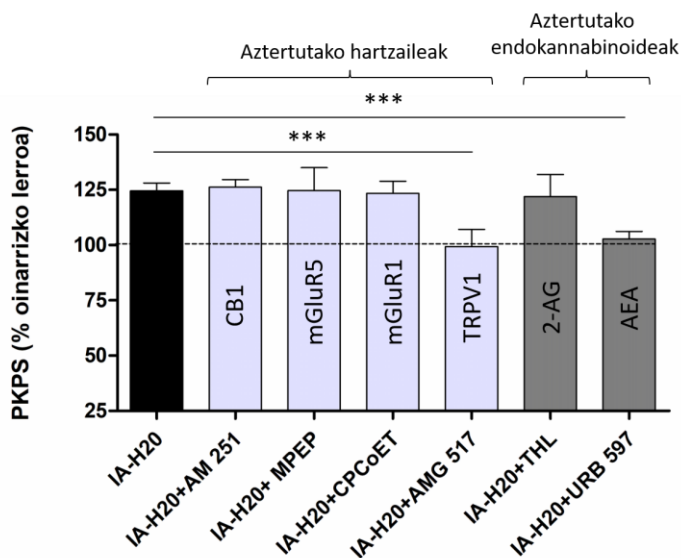
6. irudia. IA-OH taldeko plastikotasunaren azpian dauden hartzaile ezberdinen inplikazioa (AM 251: CB₁ hartzailearen antagonista; MPEP: mGluR5 hartzailearen antagonista; CPCoET: mGluR1 hartzailearen antagonista) eta d) IA-OH taldeko plastikotasunaren azpian dauden endokannabinoide ezberdinen inplikazioa (THL: DAGL-ren inhibitzailea; URB 597: FAAH-ren inhibitzailea)



3.3. SKEreren inplikazioa IA-H20 taldean

Bestalde, IA-H20 taldean lortutako iraupen luzeko indartzearen azpiko mekanismo zelularrak aztertu nahian, beste behin, farmako antagonista ezberdinen erabilpenaz, SKE osagaien inplikazioa ikertu zen plastikotasun mota honetan (7. irudia). Emaitzek TRPV1 hartzailearen eta AEA endokannabinoidearen inplikazioa adierazi zuten behatutako iraupen luzeko indartzean. CB₁, mGluR1, mGluR5 hartzaileak eta 2-AG endokannabinoideak, berriz, ez zuten inongo eraginik adierazi ILIan (7. irudia)

7. irudia. IA-H20 taldeko plastikotasunaren azpian dauden hartzaile ezberdinen inplikazioa (AM 251: CB₁ hartzailearen antagonista; MPEP : mGluR5 hartzailearen antagonista; CPCoET: mGluR1 hartzailearen antagonista; AMG 517: TRPV1 hartzailearen antagonista) eta IA-H20 taldeko plastikotasunaren azpian dauden endokannabinoide ezberdinen inplikazioa (THL: DAGL-ren inhibitzailea; URB 597: FAAH-ren inhibitzailea)



4. Ondorioak

Emaitza hauei esker bi ondorio nagusi atera daitezke. Batetik, ingurune aberastuko baldintza berezia nerabegaroko gehiegizko alkohol kontsumoak plastikotasunean eragiten dituen kalteak berreskuratzeko gai dela; bere potentzialtasun terapeutikoa bermatuz. Bestetik, garuneko egoera fisiologikoaren arabera, ingurune aberastuaren paradigmatikak, plastikotasun mota ezberdinetarako bidea emango duela (ILD edo ILI).

Aztertutako plastikotasun mota bietan; bai ILDan baita ILIn ere, SKEn parte-hartzea agerikoa da. Lortutako emaitzen arabera, ingurune aberastuaren paradigmatikak eragiten dituen onurak, garunaren egoera fisiologikoaren arabera, mekanismo zelular ezberdinen bitartez bideratuko dira.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Nerabezaroa, funtzio kognitiboak, emozionalak eta sozialak garatzen diren denboraldi erabakigarri bat izateaz gain, alkoholaren kontsumoaren hasierarekin kointziditzen duen aldia da. Garai honetan gazteek ez dituzte alkoholak eragiten dituen iraupen luzeko (helduaroko) kalteak aintzat hartzen eta droga hau, adingabeko gazteen artean, arrisku gutxien eragiten duen substantzia psikoaktibo gisa kontsideratuta dago (Osasun Saila 2016). Munduko osasun erakundearen arabera, alkoholaren kontsumorik handiena mundu garatuan ematen da eta 200 gaixotasun eta lesio baino gehiagoren eragile nagusia bilakatu da. Horrez gain, 20 eta 39 urte bitarteko pertsonetan gertatzen diren heriotzen % 25aren erantzule zuzen gisa kontsideratuta dago (Munduko Osasun Erakundea, 2015). Adingabeko gazteen gehiegizko alkohol kontsumoaren intzidentzia eta prebalentzia-tasaren ohartarazpenak, hortaz, terapia eraginkor berrien ikerketak burutzeko eta jorratzeko egitasmoen beharra erakusten du.

Testuinguru horretan, ingurune aberastua, arestian gure laborategian egindako ikerketetan terapia ez farmakologiko fidagarri bat bezala aurkeztzen da, botiloak eragindako kalteak leheneratuz. Alde batetik, gehiegizko alkohol kontsumo horrek epe luzera sortutako narriadura kognitiboa berreskuratzen du; baita kaltetutako koordinazio motorra eta oreka ere. Bestalde, ikerlan honetan behatutako emaitzek ere ildo beretik doaz, alkohol-kontsumoaren ondorioz ager daitezkeen iraupen luzeko plastikotasun kalteak berrezarritik. Hori dela eta, etorkizunari begira, baldintza berezi honen potentzialtasun terapeutikoa argi zantzu bat bezala igarri daiteke, prebentzio edo tratamendu bezala, droga honen mende bizi diren edo bizi izan diren pertsonen bizi-kalitatea hobetzeko.

6. Erreferentziak

- Bennett, E.L., Rosenzweig, M.R. eta Diamond, M.C. (1969), Rat brain: effects of environmental enrichment on wet and dry weights, *Science*, 163, 825-826.
- Birch, A.M., McGarry, N.B. eta Kelly, A.M. (2013), Short-term environmental enrichment, in the absence of exercise, improves memory, and increases NGF concentration, early neuronal survival, and synaptogenesis in the dentate gyrus in a time-dependent manner, *Hippocampus*, 23, 437-450.
- Chen, X., Zhang, X., Xue, L., Hao, C., Liao, W. eta Wan, Q. (2017), Treatment with Enriched Environment Reduces Neuronal Apoptosis in the Periinfarct Cortex after Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem*, 41, 1445-1456.
- Colombo, G., Serra, S., Brunetti, G., Atzori, G., Pani, M., Vacca, G., Addolorato, G., Froestl, W., Carai, M.A. eta Gessa, G.L. (2002), The GABAB receptor agonists baclofen and CGP 44532 prevent acquisition of alcohol drinking behaviour in alcohol-preferring rats, *Alcohol*, 37:499-503.
- Crews, F.T., Vetreno, R.P., Broadwater, M.A. eta Robinson, D.L. (2016), Adolescent alcohol exposure persistently impacts adult neurobiology and behavior, *Pharmacol Rev*, 68:1074-1109.

- Diamond, M.C., Ingham, CA., Johnson, RE., Bennett, E.L. eta Rosenzweig, MR. (1976), Effects of environment on morphology of rat cerebral cortex and hippocampus, *J Neurobiol*, 7,75-85.
- Economidou, D., Mattioli, L., Cifani, C., Perfumi, M., Massi, M., Cuomo, V., Trabace, L. eta Ciccocioppo, R. (2006), Effect of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR-141716A on ethanol self-administration and ethanol-seeking behaviour in rats, *Psychopharmacology (Berl)*, 183:394–403.
- Green, T.A., Gehrke, B.J. eta Bardo, M.T. (2002), Environmental enrichment decreases intravenous amphetamine self-administration in rats: dose-response functions for fixed- and progressive-ratio schedules, *Psychopharmacology*, 162, 373-378.
- He, C., Tsipis, C.P., LaManna, J.C. eta Xu, K. (2017), Environmental Enrichment Induces Increased Cerebral Capillary Density and Improved Cognitive Function in Mice, *Adv Exp Med Biol*, 977, 175-181.
- Iannotti, F.A., Di Marzo, V. eta Petrosino, S. (2016), Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: targets, metabolism and role in neurological disorders, *Progress in lipid research*, 62, 107-128.
- Ickes, B.R., Pham, T.M., Sanders, L.A., Albeck, D.S., Mohammed, A.H. eta Granholm, AC. (2000), Long term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain, *Exp Neurol*, 164, 45-52.
- Keshavan, M.S., Giedd, J., Lau, J.Y., Lewis, D.A. eta Paus, T. (2014), Changes in the adolescent brain and the pathophysiology of psychotic disorders, *Lancet Psychiatry*, 1, 549-558.
- Kyzar, E.J., Zhang, H., Sakharkar, A.J. eta Pandey, S.C. (2016), Adolescent alcohol exposure alters lysine demethylase I (LSD I) expression and histone methylation in the amygdala during adulthood, *Addiction Biology*, 1-14.
- Pava, M.J. eta Woodward, J.J. (2012), A review of the interactions between alcohol and the endocannabinoid system: implications for alcohol dependence and future directions for research. *Alcohol*, 46:185–204.
- Peñasco, S., Puente, N., Ramos, A., Royo, R., Gutiérrez, A., Bonilla, I., Reguero, L., Canduela, M.J., Mendizabal-Zubiaga, J., Rodríguez De Fonseca, F., Suárez, J., Elezgarai, I. eta Grandes, P. (2015), Alteration of the Endocannabinoid-Dependent Synaptic Plasticity in Adult Brain After Ethanol Exposure of Mice During Adolescence, *25th Annual Symposium on the Cannabinoids*, p. 17. International Cannabinoid Research Society: Research Triangle Park, NC, USA.
- Puente, N., Cui, Y., Lassalle, O., Lafourcade, M., Georges, F., Venance, L., Grandes, P. eta Manzoni, O.J. (2011), Polymodal activation of the endocannabinoid system in the extended amygdala, *Nature Neuroscience*, 14, 1542,1547.
- Rhodes, J.S., Ford, M.M., Yu, C.H., Brown, L.L., Finn, D.A., Garland, T. Jr, eta Crabbe, J.C. (2007), Mouse inbred strain differences in ethanol drinking to intoxication, *Genes Brain Behav*, 6, 1–18.
- Rico-Barrio, I., Peñasco, S., Puente, N., Ramos, A., Reguero, L., Giordano, M.E., Buceta, I., Terradillos, I., Mendizabal-Zubiaga, J., Gerrikagoitia, I., Elezgarai, I. eta Grandes, P. (2018), Cognitive and neurobehavioral benefits of an enriched environment on young adult mice after chronic ethanol consumption during adolescence, *Addiction biology*, 1-12.
- Rosenzweig, M.R., Bennett, E.L., Hebert, M. eta Morimoto, H. (1978), Social grouping cannot account for cerebral effects of enriched environments, *Brain research*, 153, 563-576.
- Yau, S.Y., Gil-Mohapel, J., Christie, B.R. eta So, K.F. (2014), Physical exercise-induced adult neurogenesis: a good strategy to prevent cognitive decline in neurodegenerative diseases?, *Biomed Res Int*, 2014:403120.

7. Eskerrak eta oharrak

Ikerlan honek Eusko Jaurlaritzako (IT764-13) eta SAF2015-65034-R (MINECO/FEDER) diru laguntzen babesa jaso du.