

# Ingurune aberastuak nerabazaroko gehiegizko alkohol-kontsumoaren ondorioz kaltetutako gaitasun motorrak eta kognitiboak berreskuratzen ditu C57BL/6J sagu helduetan

(Enriched environment rescues motor and cognitive impairment after heavy alcohol consumption during adolescence in C57BL/6J adult mice)

Leire Lekunberri\*, Irantzu Rico-Barrio, Maitane Serrano, Izaskun Elezgarai, Nagore Puente, Itziar Bonilla-Del Río, Ilazki Anaut-Lusar, Inmaculada Gerrikagoitia, Pedro Grandes

Neurozientziak Saila. Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea.  
Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa, Bizkaia.  
Achucarro Basque Center for Neuroscience.  
UPV/EHUko Zientzia Parkea. UPV/EHU, Leioa, Bizkaia.

**LABURPENA:** Alkohola (EtOH) munduan gehien kontsumitzen den substantzia psikoaktiboa da, eta nerabazaroko alkoholaren kontsumo intentsiboa ge-roz eta ohikoagoa da. Adin tartetorretan burmuina garatzen ari da, eta hainbat garun-atal zaurgarriagoak dira neurotoxikoen kalteen aurrean; hipokanpoa eta garuntxoa, esaterako. Ingurune aberastuak (IAk), aldaketa molekular, anatomiko zein funtzionalak eragiten dituzten garunaren garapen-prozesuan, eta alkohola-ren ondorioz helduaro goiztiarreko saguek galdutako portaera-gaitasunen berreskurapena sustatzen du. Hala ere, IAk eragindako efektu mesedegarri horiek epe luzeago batean mantentzen diren ala ez aztertzeke dago. Ikerketa honen helburuak honako hauek dira: nerabazaroko gehiegizko alkohol-kontsumoak helduaroan eragiten dituzten portaera-aldaketak ikeretzea eta parametro hauetan IAk izan ditzakeen onurak aztertzea. Horretarako, C57BL/6J sagu arrei nerabeza-roko 4 asteaz zehar (p32-p56) alkohol- edo ur-tratamendua eman zaie. Ondoren, helduaro goiztiarrean (p56-p90) animaliak abstinentzia-egoeran mantendu dira eta helduaroan (p90-p104) saguen kumaldi erdia IAko baldintzetan jarri da 2 astez. Abstinentzia-tarte horren azken egunetan portaera probak burutu dira: eremu irekiaren proba, ansietate-maila neurtzeko; objektu berrien ezagutze-proba, ezagutze-oroimenerako; objektuen kokaleku berrien ezagutze-proba, oroimen espazialerako; eta oreka-proba, oreka eta koordinazio motorerako. Alkohol-taldeko saguek bereizketa-indize baxuagoak erakutsi dituzte bai ezagutze-oroimenaren proban bai eta oroimen espazialean ere, alkohol kontsumoaren ondoriozko nariadura kognitibo adierazgarria iradokiz. Antzeko emaitzak behatu dira oreka-proban ere, non alkohol taldeko saguek (EtOH) oreka eta koordinazio motorra kaltetuta erakutsi duten. Interesgarriki, animaliak IAko baldintzapean jartzean objektuak eta kokalekuak bereizteko gaitasuna berreskuratzen dute eta oreka eta koordinazio-maila hobetzen dute helduaroan, kontrol-taldekoen (H2O) antzeko balioetara. IAk erakutsi du gaitasuna duela alkoholaren ondoriozko helduaroeko efektu kaltegarriak leheneratzeko.

**HITZ GAKOAK:** alkohol-kontsumoa; ingurune aberastua; kognizioa; hipokanpoa; garuntxoa; terapia.

**ABSTRACT:** The use and abuse of alcohol (EtOH) is one of the world's main health issues that strikingly impacts on our society, as heavy episodic drinking is becoming more and more common in the adolescence when the brain is particularly vulnerable to EtOH. However, molecular, anatomical, functional and behavioral alterations improve in young adult mice brains by an enriched environment (EE) exposure after adolescence EtOH consumption [21]. It remains unknown whether these beneficial effects are maintained over a long period of time after cessation of EtOH consumption. The aim of this study was to measure the long-term behavioral consequences of EtOH consumption and to explore the effects of EE in adulthood. For this goal, we treated C57BL/6J male mice with 20% EtOH or water during the 4 weeks of adolescence (p32-p56) followed by an abstinence period (p56-p90). Finally, they were exposed to EE for two weeks (p90-p104) and behavioral tests were conducted at their full adulthood: thigmotaxis for anxiety-like behaviour; novel object recognition test (NORT) for object recognition memory; novel object location test (NOLT) for location memory and beam walking balance test (BWBT) for motor coordination and balance. Object and spatial recognition memory were significantly lower in EtOH-treated mice. Also, motor coordination and balance were impaired after EtOH intake. Noticeably, memory and motor deficits reversed to control values after EE. In conclusion, we show that EE recovers the long-term behavioral and motor deficits after abusive EtOH consumption during adolescence. These results point to the beneficial effects EE have in EtOH addiction.

**KEYWORDS:** alcohol-consumption; enriched environment; cognition; hippocampus; cerebellum; therapy.

\* **Harremanetan jartzeko / Corresponding author:** Leire Lekunberri Odriozola. Neurozientziak Saila. Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa, Bizkaia. – [leire.lecumberri@ehu.es](mailto:leire.lecumberri@ehu.es) – <https://orcid.org/0000-0001-9097-5028>

**Nola aipatu / How to cite:** Lekunberri, Leire; Rico-Barrio, Irantzu; Serrano, Maitane; Elezgarai, Izaskun; Puente, Nagore; Grandes, Pedro (2021). «Ingurune aberastuak nerabazaroko gehiegizko alkohol kontsumoaren ondoriozko portaera kalteak berreskuratzen ditu C57BL/6J sagu helduetan». *Ekaia*, 41, 2021, 49-68. (<https://doi.org/10.1387/ekaia.21816>).

Jasotze-data: 2020, ekainak 12; Onartze-data: 2021, apirilak 27.

ISSN 0214-9753 - eISSN 2444-3581 / © 2021 UPV/EHU



Lan hau Creative Commons Aitortu-EzKomertziala-LanEratorririkGabe 4.0 Nazioartekoa lizentzia baten mende dago

## **1. SARRERA**

### **1.1. Nerabezaroko betekadetan oinarritutako kontsumoa edo «binge drinking»-a**

Alkohola mundu-mailan gehien kontsumitzen den sustantzia psikoaktiboa da. Izan ere, munduko 15 eta 64 urte bitarteko populazioaren % 91,2k noizbait kontsumitu izan du [1]. 15 urtetik gorako pertsonen artean alkohol puruaren kontsumoa 6,2 L/urtekoa da, hau da, 13,5g/egunekoa bataz beste. Munduko eskualde ezberdinen artean desberdintasun nabarmenak daude, eta azpimarratzekoa da garatutako herrialdeetan alkoholaren kontsumoa altuena dela; Europan, esaterako. Hori gutxi ez, eta, Munduko Osasun Erakundeak argitaratutako datuen arabera, alkoholak 3,3 milioi hildako eragiten ditu urtero; mundu osoko heriotza guztien % 5,9, hain zuzen ere [1].

Azken urteotan, alkoholaren kontsumo intentsiboa, «binge drinking»-a edo betekadetan oinarritutako kontsumoa (botiloia) geroz eta ohikoagoa bilakatu da nerabeetan, eta kontsumo eredu hau legez kanpoko hainbat drogaren kontsumoarekin erlazionatu da. «Binge drinking»-a denbora tarte motzean alkohol kantitate handia kontsumitzean datza; bi orduan 5 edari edo gehiago mutilen kasuan eta 4 edari edo gehiago nesken kasuan. Kontsumo mota honetan odoleko etanol kontzentrazioa 0,08 g/dL-koa izatera irits daiteke [2, 3]. 2014ko datuen arabera, 14 eta 18 urte bitarteko nerabeen % 78,9k noizbait kontsumitu du alkohola, % 76,8k azken urtean kontsumitu du eta % 68,2k azken hilabeteetan edan du alkohola. Gainera, urte berean 285.700 neraberen lehen alkohol kontsumoa 14 eta 18 urteen bitartean gertatu da [4]. Haatik, adingabeko gazteek alkohola arrisku gutxien sorrarazten duen substantzia psikoaktibotzat hartzen dute. Izan ere, 14 eta 18 urte bitarteko nerabeen erdiak soilik uste du asteburuetan 5 edo 6 edari edo kopa hartzea arriskutsua izan daitekeela beren osasunerako [4].

### **1.2. Garunaren garapen berantiarra eta neurotoxikoen eragina**

Nerabezaroa gizakien bizitzaren bigarren hamarkada osorik hartzen duen trantsizio tarte da [4], 12 eta 18-24 urte bitartean gertatzen baita [5, 6, 7]. Hazkuntza-, garapen- eta heltze-eredu luze baten azken fasea, alegia. Guztiz mendekoa den haur bat guztiz autonomoa den heldu bilakatzeko prozesuan, nerabeak aldaketak izango ditu hazkuntza fisikoan, fisiologian eta trebetasun kognitibo eta emozionaletan [4]. Izan ere, frogatu da, emozio-, arrazoitze- eta erabaki-ahalmenaren arteko elkarrekintza dela nerabezaroko heltze-prozesuko ezinbesteko osagaietako bat dela [8]. Nerabeen erabaki-ahalmena emozioari estuki lotuta dago. Epe luzera kaltegarria izan daitekeen portaera espezifiko baten ondorioak —zigarroak erretzea,

alkohola edatea— ezin dira guztiz ulertu prozesu kognitibo «hotzik» gabe (emozio gutxiko pentsamendu-prozesua da). Ondorioz, prozesu kognitibo «beroak» emozio eta kitzikapenez betetako erabakiak hartzera bultzatzen ditu nerabeak [8]. Harira, esplorazioa, sentsazio berrien eta arrisku egoeren bilaketa eta interakzio soziala nerabezaroan bereizgarriak dira bai gizakietan eta bai beste espezie sozial batzuetan. Aldi berean, portaera bereizgarri hauek burmuineko egitura desberdinen garapenarekin zerikusi handia daukate, eta ezinbestekoak dira nerabea heldu burujabe bilakatzeko beharrezko gaitasunak eskuratzeko [7, 9, 10, 11]. Garapena gene-adierazpenak baldintzatzen duen arren, ingurugiroaren eta esperientziaren eragina ere garrantzitsuak dira prozesu honetan. Nutrizioak eta alkohol-kontsumoak, esate baterako, ondorioak dituzte jaiotza aurreko eta ondorengo garapen fisiokoan [11].

Gure espeziearen eboluzioan garunaren garapena berantiarra da. Izan ere, burmuinak eta haren aparatu kognitiboaren heltze-prozesuak denbora luzea behar dute garunaren ahalmen maximoa garatzeko [12, 13, 14]. Burmuinak haurtzaroan eta nerabezaroan zehar egiturazko aldaketak eta aldaketa funtzional garrantzitsuak izaten ditu. Garunaren garapen-prozesu luze horren amaiera helduaro goiztiarrean gertatzen da, non konexio zaharrak ezabatzen diren berriak sortzeko eta egonkortzeko [15]. Helduaro goiztiarra, helduaroaren lehen fasea dena, 18-24 urtetik 39-42 urteetaraino luzatzen da [16, 17]. Ondoren, oinarrizko hizkuntza-trebetasun eta espazio-arretarekin erlazionatutako asoziazio-eskualde kortikalak garatzen dira. Maila altuagoko funtzio kognitiboekin erlazionatutako integraziorako eskualdeak (bekoki aurreko kortexa eta ildaskatua, adibidez), garapen berantiarrena duten eskualdeak dira [18, 19, 20, 21, 22]. Beraz, neurotoxikoen esposizioaren ondoriozko burmuinaren garapenaren asaldurak, batez ere alkoholaren ondoriozkoak, arazo kognitibo eta funtzionalak eragin ditzake helduaroan; funtzio sozial, emozional eta kognitiboak aldaraziz.

Nerabeek alkoholarekiko erakusten duten erantzun fisiologikoa eta morfologikoa desberdina da helduenarekin konparatuz. Arratoietan burututako ikerketen arabera, nerabeen memoria helduena baino sentikorragoa da alkohol-esposiziopean. Adin txikiko gazteek kalteak pairatzeko erraztasun handiagoa daukate, haien garuna garapen-fasean aurkitzen baita oraindik [23, 24]. Izan ere, gizakian alkohol-kontsumoari lotutako arazoak dituzten nerabeek (13-21 urte bitartean), edan ez duten gazteekin konparatuz, hipokanpoen tamaina txikiagoa dutela frogatu da [25], haren funtzioak, memoria eta espazio ikasketak, kaltetuz [26]. Horrez gain, nerabe hauetan, bekoki aurreko lobuluko gai zuri eta grisaren bolumena txikiagoa dela deskribatu da [27]. Garuntxoak funtzio motorrak eta kognitiboak gauzatzen ditu, eta «binge drinking»-a garuntxo tamaina txikiagoarekin erlazionatuta dagoela behatu da [28].

### 1.3. Ingurune aberastua eta haren eraginak

Ingurune aberastua (IA) «objektu desberdinen, sozializazioaren eta ariketa fisikoaren konbinazioa da»; laborategi-baldintza estandarretan baino estimulu gehiago dituzten ingurugiroak dira (1. irudia). IAKo kaiolak handiagoak dira, eta haietan ariketa fisikoa egiteko gupila eta aldapak, jolas edo objektu desberdinak izango dituzte. Horrez gain, beste animaliekin sozializatzeko aukera izango dute. 1960. urtetik aurrera gero eta garrantzia handiagoa hartzen ari da IAKo paradigma, plastikotasun neuronalak bultzatzen baitu [29]. Horrez gain, neurogenesia, angiogenesia, sinaptogenesia eta dendriten arborizazioa sustatzen ditu; oroimena eta ikasketa-prozesuak emendatuz [29, 30, 31]. Hortaz, egiaztatu da IAK zeresan handia duela gaitz batzuen tratamenduan: gaixotasun psikiatrikoak, neuroendekapenezko gaixotasunak, garuneko lesio traumatikoak, autismoa, epilepsia eta beste hainbat gaitz [29].

a



b



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

Gure laborategian oraintsu frogatu da nerabezaroko «binge drinking»-ak eragin kaltegarria duela helduaro goiztiarrean. Izan ere, nerabezaroko zeharreko alkohol-kontsumo kronikoak C57BL/6J saguetan arazo kognitiboak dakartzala behatu da, portaera-proba desberdinen bidez memoria eta ikasketa espaziala kaltetuta daudela frogatuz helduaro goiztiarrean [32]. Horrez gain, asaldura adierazgarriak behatu dira koordinazio- eta oreka-funtzioetan ere. Hala ere, ikerketa berdinen arabera, IAK gaitasun hauek guztiak berreskuratzeko ahalmena du [32]; alkoholismoa tratatzeko terapia aproposa izan daitekeela iradokiz.

Ikerketa honen helburuak honako hauek dira: nerabazaroko «binge drinking»-ean oinarritutako alkohol-kontsumoak helduaroan dituen ondorioak ikertzea. Horrela, antsietatean, kognizioan eta koordinazioan eta orekan dituen eraginak neurtuko dira. Bestalde, IAK helduaro goiztiarrean eragindako efektu mesedegarri horiek epe luzeagoan mantentzen diren aztertuko da, helduaroan, alegia. Modu horretan, ingurune aberastua terapia edo tratamendu gisa ikertuko da, helduaroan alkoholak eragindako kalteak leheneratzen diren ala ez aztertuz.

## **2. MATERIALAK ETA METODOAK**

### **2.1. Ikerketako animaliak**

Ikerketa hau C57BL/6J 28 sagu arretan burutu zen. Saguek, ikerketa osoan zehar, ura eta janaria *ad libitum*, nahi adina, izan zuten.

Ikerketako saguak, alkohol-tratamendua hasi baino egun batzuk lehenago iritsi ziren laborategira. Han, argi-ilun fase-aldaketara aklimatatu ziren. Saguak gautarrak dira, eta, beraz, aktibitatea gauez burutzen dute. Laborategia 12h ilun/12h argi izateko programatuta dago, eta goizeko 9:00etan argia itzaltzen da.

Lan hau Animaliekin egiten den Esperimentaziorako Etika Batzordeak (AEEB) eta Agente biologikoen eta genetikoki eraldatutako organismoen ikerketetarako Etika Batzordeak (ABIEB) onartutako ikerketaproiektu markoaren barruan burutu da, AEEB/M20/2016/073 eta ABIEB/M30/2016/074, hurrenez hurren. Ikerlan honetan burututako prozedura guztiek helburu zientifikoekin erabilitako animaliak babesteko Europako Zuzentaraua betetzen dute (2010/63/UE). Gainera, proiektu hau burutzeko, animalien sufrimendua eta erabili beharreko animalia kopurua murrizteko esfortzu guztiak aurrera eraman dira.

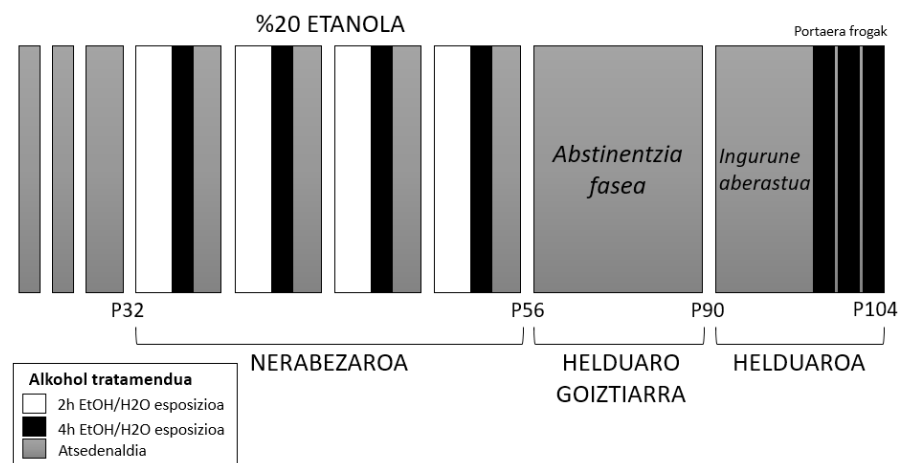
### **2.2. Ilunpetako alkohol-kontsumoaren protokoloa**

Saguak H<sub>2</sub>O edo kontrol-taldean (urarekin trataturikoak) (n = 15) eta EtOH edo alkoholarekin trataturiko taldean (n = 13) banatu ziren. Nerabazaroko lau astean zehar (p32-p56), ilunpetako alkohol-kontsumoaren edo «drinking in the dark (DID)» protokoloan egon ziren; «binge drinking» modeloa simulatzen duen protokoloaren mende, alegia. Protokolo horretan, asteko lehen lau egunetan alkohol- edo ur-tratamendua ematen zitzairen nerabazaroko lau astean zehar. Asteko lehenengo hiru egunetan animaliek bi orduz izaten zuten alkohola (EtOH taldea) edo ura (H<sub>2</sub>O taldea) eskuragarri. Laugarren egunean lau orduko esposizioa izaten zuten (2. irudia). Asteko gainerako hiru egunetan atsedena hartzen zuten. Tratamenduko lau egunetan, lehendabizi saguak pisatzen ziren. Ondoren, sa-

guak banatu egiten ziren, tratamendurako banaka egon zitezen. Saguek banakako kaioretan ere janaria *ad libitum* izan zuten. Alkohol-tratamendua, argia itzali eta ordu bira hasten zen, saguek aktibitate gehien erakusten duten momentuan, alegia. Biberoiak 10mL urez edo 10mL alkoholez [% 20 EtOH (v/v) % 96 EtOH-rekin prestatua] betetzen ziren. eta tratamendua bukatzerakoan geratzen zena neurtzen zen. Uraren lurrunketa kontuan hartzeko, bi biberoi gehiago jartzen ziren kontrol gisa, bat alkoholarentzat eta bestea urarentzat. Egunero, alkohol-kontsumoa neurtu zen [EtOH gramoak animalia kilogramoko 2 edo 4 orduko (g/kg/2 h edo 4 h)], asteroko alkohol-kontsumoa neurtu zen [EtOH gramoak animalia kilogramoko h-ko (g/kg/h)] eta tratamenduaren bukaeran alkohol [edo H<sub>2</sub>O (ml/kg)] kontsumo totala neurtu zen [EtOH gramoak animalia kilogramoko h-ko (g/kg/h)]. Tratamenduko lau asteetan, astero janaria pisatu zitzaien, jandako kantitatea neurtzeko (g).

### 2.3. Abstinentzia-fasea

Nerabezaroa bukatu ondoren, helduaro goiztiarrean (p56-p90) saguek abstinentzia-fasean egon ziren, bakoitza bere kaiolan mantenduz (2. irudia). Saguek kasuan, helduaro goiztiarraren hasiera jaio ondorengo 60 egunean (p60) finkatzen da, eta jaio ondorengo 90 egunetik aurrera helduaro gisa definitzen da (p90) [33].



**2. irudia.** Diseinu experimentalaren eskema: % 20ko alkohol-tratamendua nerabezaroan (p32-p56), abstinentzia-fasea helduaro goiztiarrean (p56-p90), ingurune aberastua helduaroan eta portaera-probak helduaroan (p90-p104).

### 2.3.1. Ingurune aberastuko baldintzak

Abstinentzia-fasean 5 aste pasatu ondoren (p56-p90), helduaroko kontrol taldeko 7 sagu eta alkohol taldeko 7 sagu IAko baldintzetan jarri ziren, 2 astez (IA-H<sub>2</sub>O, ingurune aberastuko kontrolak, IA-OH ingurune aberastuko alkohol-taldekoak) (p90-p104). IAko baldintza, bi solairuko karioletan eman zen. Hauetan, aldapak, tunelak, etxetxoak, korrika egiteko gupilak eta astero aldatzen zitzaizkien kolore, ehundura eta tamaina desberdineko jostailuak eta lekualdatzen ziren biberoiak zeuden barneratuta.

## 2.4. Portaera-probak

Alkoholak epe luzera garunean sortutako kalteak eta IAren gaitasun terapeutikoa neurtzeko, portaera-probak burutu ziren. Antsietatea neurtzeko eremu irekiaren proba gauzatu zen. Ezagutze-memoria ikertzeko, objektu berrien ezagutze-proba erabili zen, eta memoria edo ikasketa espaziala, berriz, objektuen kokaleku berriaren ezagutze-probaren bitartez neurtu zen. Oreka eta koordinazio motorra oreka-probaren bitartez zertu zen.

### 2.4.1. Eremu irekiaren proba

Eremu irekiaren proba antsietate-maila neurtzeko proba da. Saguak banaka goitik irekita dagoen kaxa lauki zuri batean (40 cm × 45 cm × 40 cm) sartzen dira. Objektu berrien ezagutze-probako ohitze-eguneko lehenengo 5 minutuetan zehar, paretetan pasatzen duten denbora neurtzen da (tigmotaxia). Saguak paretetan igarotako denbora antsietate-seinale gisa hartuko da [32].

### 2.4.2. Objektu berrien ezagutze-proba

Ezagutze-oroimena, objektu berrien probaren bitartez neurtzen da. Proba hau saguek daukaten objektu berrietara joateko berezko joeran oinarritzen da. Eremu irekiaren probaren kaxa lauki zuri berean burutzen da. Probaren lehen bi egunetan, ohitze-prozesua burutzen da. 10 minutuz saguek askatasunez hutsik dagoen kaxa esploratzen dute. Hirugarren egunean edo proba-egunean, saguei berdinak diren bi objektu erakusten zaizkie 10 minutuz miatzeko. Bi ordu geroago, objektu bietako bat aldatzen zaie. Kasu bietan, saguek objektu bakoitza miatzen pasatzen duten denbora neurtzen da. Ondoren, bereizketa-indizea (BI) kalkulatu da:  $BI = (\text{denbora objektu berrian} - \text{denbora objektu ezagunean}) / \text{denbora totala}$  [32].

#### *2.4.3. Objektuen kokaleku berriaren ezagutze-proba*

Oroimen espaziala, kokaleku berrien portaera probaren bitartez neur-tzen da. Proba hau saguek daukaten leku berrietara joateko berezko joeran oinarritzen da, eta objektu berrien ezagutze-probako kaxa berdina erabil-tzen da. Kaxaren horma bakoitzean, arrasto edo pista bana jartzen da, jos-tailuak, globoak edo kolore desberdinetako paperak, adibidez. Probaren lehenengo bi egunetan, objektu berrien ezagutze-proban bezala ohitze-pro-zesua burutzen da. Saguak 10 minutuz pistak dituen kutxa karratuan aska-tasunez ibiliko dira. Hirugarren egunean edo probaren egunean, berdinak diren bi objektu jartzen dira bi kokaleku desberdinetan, saguek 10 minutuz miatu ditzaten. Bi ordura, objektuetako bat lekualdatu egingo da, berriz ere 10 minutuz miatu ditzaten. Kasu honetan ere, objektu bakoitza saguek mia-tzen pasatzen duten denbora neurtuko da, eta ondoren, bereizketa indizea (BI) kalkulatu da.  $BI = (\text{denbora kokaleku berrian} - \text{denbora kokaleku ezagunean}) / \text{denbora totala}$  [32].

#### *2.4.4. Oreka-proba*

Oreka eta koordinazioa neurtzeko erabiltzen den proba da. Diametro desberdinak dituzten bi makila biribil erabiltzen dira (zabala: 2 cm-ko dia-metroa; estua: 1cm-ko diametroa). Entrenatze-prozesuko lehenengo egu-nean, makila zabalean saguak alde batetik bestera 3 aldiz pasatzen treba-razten dira. Saguek buelta eman edo jausiz gero, berriro hasi beharko dute makilaren hasiera puntutik. Entrenatze-prozesuko bigarren egunean, saguek berriz ere hiru aldiz pasatu behar dute makila lodia-aren alde batetik bestera. Ondoren, eta modu berean, makila estua-aren alde batetik bestera pasaraziko zaie saguei hiru aldiz. Probaren egunean, makila loditik hiru aldiz pasatu ondoren makila estutik behin pasatuko dira. Makila estua-aren alde batetik bestera igarotzen behar duten denbora neurtzen da; baita saiakera honetan dituzten erorialdiak ere [32].

### **2.5. Analisi estatistikoak**

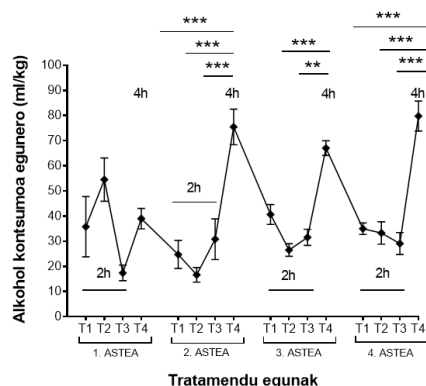
Datuen prozesaketetarako, emaitzen irudikapenerako eta tratamendu estatistikorako Microsoft Excel, GraphPad Prism 4 eta IBM SPSS Statis-tics 22.0 erabili ziren. Analisi estatistikoak burutu aurretik, datuek bana-keta normala eta homogeneotasuna betetzen zuten ala ez egiaztatu zen. T student probaz baliatuz, aldagaiek modu independentean zuten eragina aztertu zen, eta ANOVA probaren bidez, lau talde esperimentalen arteko elkarrekintza miatu zen. Tamhane, Tukey HSD eta Bonferroni frogan arabera, alkohol-kontsumoaren eta IAaren arteko elkarrekintzak ebaluatu ziren.

### 3. EMAITZAK

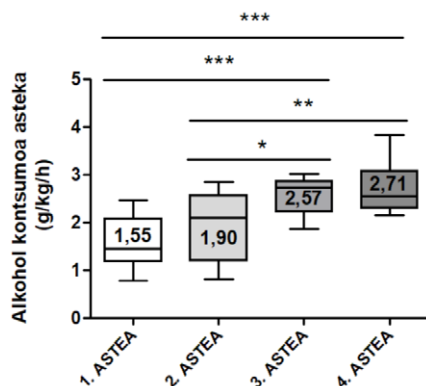
#### 3.1. Alkohol-, ur- eta janari-kontsumoaren neurketak

Ezarritako alkohol-protokoloaren balioztapena bermatzeko, animaliak egunero kontsumitutako alkohol kantitatea neurtzeaz gain, astero edandako eta tratamendu osoko bataz besteko alkohol-kontsumo maila kalkulatu ziren (3. irudia).

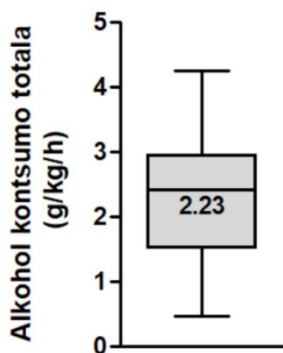
##### a) Alkohol-kontsumoa egunero



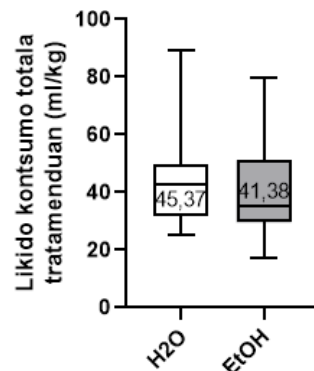
##### b) Alkohol-kontsumoa asteka



##### c) Alkohol-kontsumo totala

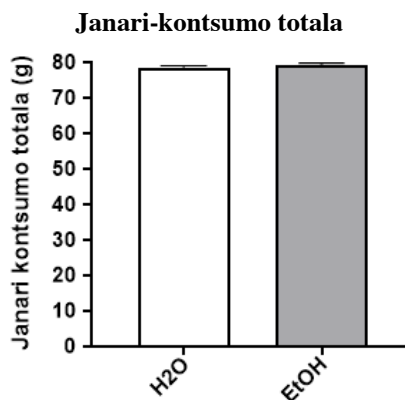


##### d) Likido-kontsumoa tratamenduan



**3. irudia.** C57BL/6J saguetan tratamenduan neurtutako a) eguneroko bataz besteko alkohol-kontsumoa (ml/kg) \*asteo laugarren eguneko (T4) esangarritasun estatistikoa lehen hiru egunekin konparatuz Tukey HSD probaren arabera (\*\* $p < 0,01$  eta \*\*\* $p < 0,001$ ) b) aste bakoitzeko bataz besteko alkohol-kontsumoa (g/kg/h) \*asteen arteko esangarritasun estatistikoa Tukey HSD probaren arabera (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  eta \*\*\* $p < 0,001$ ) c) bataz besteko alkohol-kontsumo totala (g/kg/h) eta d) likido (ur edo EtOH) kontsumo totala (ml/kg). Barrek bataz beste-koaren errore estandarra adierazten dute.

Alkohol-kontsumoaren grafikari erreparatuz, ikus daiteke animaliek alkoholaren 4 orduko esposizio egunetan, denbora tarte luzeagoa izanik, 2 orduko esposizio egunetan baino gehiago edaten dutela ( $p < 0,01$  eta  $p < 0,001$ ) (3a. irudia). Asteroko batz besteko alkohol-kontsumoari dagokionez, astetik atera alkohol-kontsumoaren emendio geroz eta esanguratsuagoa beha daiteke ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  eta  $p < 0,001$ ) (3b. irudia), alkohol-adikzioaren adierazle gisa. Saguen tratamenduko batz besteko alkohol-kontsumo totala  $2,23 \text{ g/kg/h}$ -koa da (3c. irudia). Datu hauek bat datoz aurretik protokolo berei jarraitu dieten saguen datuekin [32]. Tratamenduan zehar saguek kontsumitutako likido kantitatea aztertzean, alkohol-taldeko eta kontrol-taldeko saguek likido kantitate bera edan dutela ikus daiteke (3d. irudia), alkohol-kontsumoa urarena baino baxuagoa ez izatea adikzioaren adierazletzat hartzen da.



**4. irudia.** Alkohol-tratamenduan zehar kontrol-taldeak (H<sub>2</sub>O) (zutabe zuria) eta EtOH taldeak (zutabe grisa) irentsitako janari totala (g). Barrek batz bestekoaren errore estandarra adierazten dute.

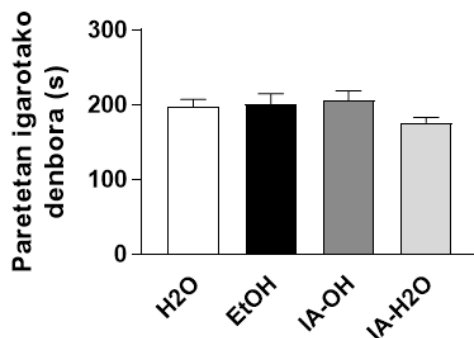
Tratamenduaren janari-kontsumoaren datuak aztertuz gero, ez da desberdintasun esanguratsurik behatu taldeen artean; EtOH taldeko eta kontrol-taldeko saguek tratamenduan zehar irentsitako janaria berdintsua izan dela iradokitzen da (4. irudia), nahiz eta alkohol-kontsumoak janari ingestaren patroia aldatzen duen [34].

## 3.2. Portaera-frogen emaitzak

### 3.2.1. Ereku irekiaren proba

Antsietate-mailari dagokionez, ez da desberdintasun adierazgarririk behatu taldeen artean, hau da, animalia-talde ezberdinek denbora berdina

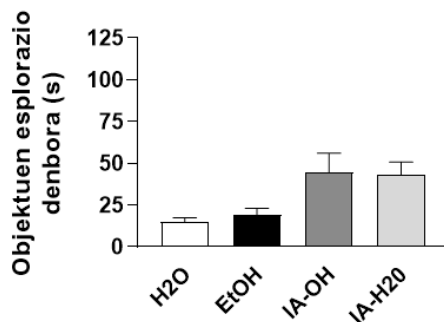
tsua igaro dute kaxaren paretetan; antsietate-maila berdinak iradokitzen dituzte ( $p > 0,05$ ).



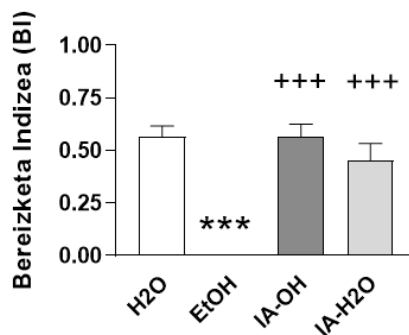
**5. irudia.** Eremu irekiaren probaren emaitzen grafikoa: paretetan igarotako denboraren neurketa (tigmotaxia). Barrek batz bestekoaren errore estandarra adierazten dute.

### 3.2.2. Objektu berrien ezagutze-proba

#### a) Esplorazio-denbora



#### b) Bereizketa-indizea



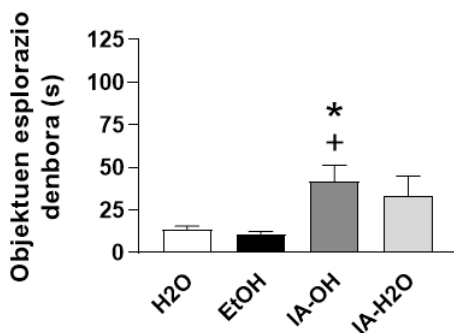
**6. irudia.** Objektu berrien ezagutze-probaren emaitzen grafikoa: a) Objektuak esploratzen igarotako denbora totala (s) eta b) objektuen bereizketa indizea. \* EtOH, IA-OH eta IA-H<sub>2</sub>O taldeen esangarritasun estatistikoa kontrol (H<sub>2</sub>O) taldearekin konparatuz (\*\* $p < 0,001$ ). + IA-OH eta IA-H<sub>2</sub>O taldeen esangarritasun estatistikoa, EtOH taldearekin konparatuz (++ $p < 0,001$ ) Bonferroni probaren arabera. Barrek batz bestekoaren errore estandarra adierazten dute.

Objektu berrien ezagutze-proban alkohol-taldearen bereizketa-indizea kontrolekin parekatuz, esanguratsuki baxuagoa da ( $p < 0,001$ ) (6a. irudia),

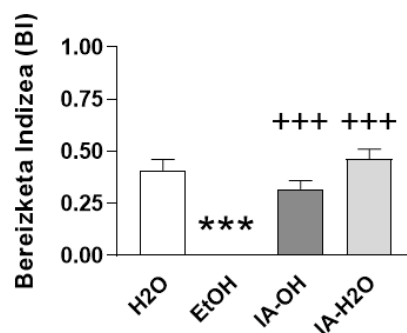
nahiz eta objektuen esplorazio-denbora berdintsua izan bi taldeen artean ( $p > 0,05$ ) (6b. irudia). Horrek aditzera ematen du nerabezaroko alkohol-kontsumoaren ondorioz epe luzera narriadura kognitibo nabarmena gertatzen dela. Bestalde, IAren paradigmak ezagutze-oroimen mailaren berreskurapena sustatzen du ( $p < 0,001$ ), kontrol-taldeko balio berdintsuak behatuz (7b. irudia). Emaiza hauek iradokitzen dute aberastutako ingurugiroen erabilpena tresna baliagarria izan daitekeela alkoholismoaren tratamenduan.

### 3.2.3. Objektuen kokaleku berriaren ezagutze-proba

#### a) Esplorazio-denbora



#### b) Bereizketa-indizea

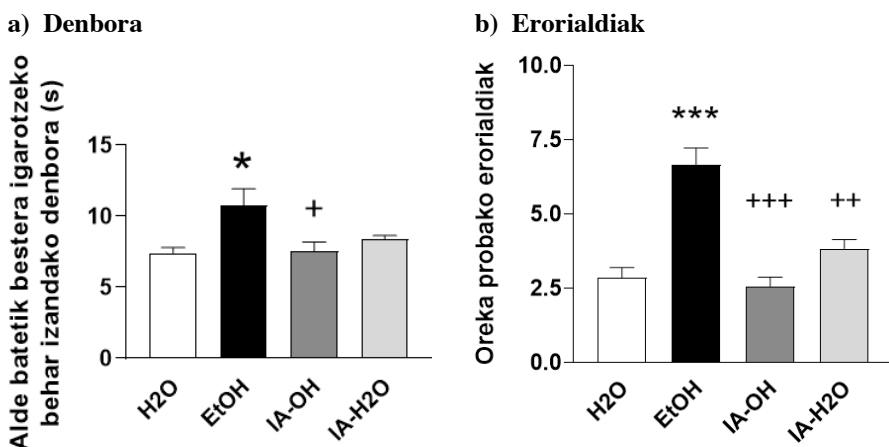


**7. irudia.** Objektuen kokaleku berriaren ezagutze-probaren emaitzen grafikoak: a) Objektuak esploratzen igarotako denbora totala (s) eta b) kokaleku berriaren bereizketa indizea. \* EtOH, IA-OH eta IA-H<sub>2</sub>O taldeen esangarritasun estatistikoa kontrol (H<sub>2</sub>O) taldearekin konparatuz (\* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ). + IA-OH eta IA-H<sub>2</sub>O taldeen esangarritasun estatistikoa, EtOH taldearekin konparatuz (\* $p < 0,05$ ; +++ $p < 0,001$ ) Bonferroni probaren arabera. Barrek batz bestekoaren errore estandarra adierazten dute.

Objektuen kokaleku berriaren ezagutze-probaren emaitzei erreparatuz, alkohol-taldeko saguen bereizketa-indizea zero ingurukoa da, eta desberdintasun estatistikoki esangarriak daude kontrol-taldekoekin parekatuz ( $p < 0,001$ ) (7b. irudia), nahiz eta bi talde hauen esplorazio-denbora berdintsua izan den ( $p > 0,05$ ) (7a. irudia). Animalia helduak gehiegizko alkohol-kontsumoaren ostean IAKo baldintzetan jartzen ditugunean, bereizketa-indizea kontrol-mailara leheneratzen da, paradigma honen potentzialtasuna bermatuz ( $p < 0,001$ ).

### 3.2.4. Oreka-proba

Makilaren alde batetik bestera igarotzean alkohol taldeko saguek behar izan duten denbora luzeagoa izan da kontrolekin konparatuz ( $p < 0,05$ ) (8a. irudia). IAn egondako alkohol-taldeak, berriz, oreka- eta koordinazio-motorra berreskuratzen du; alkohol-taldean behatutako oreka-asaldura horiek leheneratuz ( $p < 0,05$ ), kontrol-taldekoen mailara. Bestalde, alkohol-taldeko saguak kontrol-taldekoen bikoitza baino gehiago behatzen dira ( $p < 0,001$ ) (8b. irudia), baina IAKo baldintzetan jartzean erorialdi hauek esanguratsuki murrizten dira ( $p < 0,001$ ), eta kontrol-taldekoen mailara leheneratzen dira (8b. irudia).



**8. irudia.** Oreka-probaren emaitzen grafikoak: a) Makilaren alde batetik bestera igarotzeko saguek behar izandako denbora (s) eta b) makilaren alde batetik bestera igarotzerakoan saguek izandako erorialdiak. \* EtOH, IA-OH eta IA-H<sub>2</sub>O taldeen esangarritasun estatistikoa kontrol taldearekin konparatuz (\* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ). + IA-OH eta IA-H<sub>2</sub>O taldeen esangarritasun estatistikoa EtOH taldearekin konparatuz (+ $p < 0,05$ ; ++ $p < 0,01$ ; +++ $p < 0,001$ ) Bonferroni probaren arabera. Barrek batatz bestekoaren errore estandarra adierazten dute.

## 4. EZTABAIDA

Ikerlan honetan, nerabezaroko betekadetan oinarritutako alkohol-kontsumo ereduak epe luzera (helduaroan) dituen ondorioak aztertu dira. Horrela, alkoholak kognizioan, orekan eta koordinazioan kalteak sortzen dituela frogatu da. Nerabezaroa aro kritikoa da burmuinaren heltze-prozesuan. Hori dela eta, sentikorragoa da etanolaren efektuen aurrean [23, 24]. Hala ere, ikerketa honetan IA epe luzera funtzio horiek berreskuratzeke gai dela egiaztatu da.

Emaitzetan adierazi denez, alkoholak saguetan adikzioa sortu du. Alkohol-kontsumoak, beste ondorio batzuen artean, janari-ingestaren patroia eraldatzen du. Alkohola edatean, gosea eta, beraz, janari-ingesta emendatzen da, efektu hau dosiaren arabera delarik, hau da, edandako alkohol kantitatearen arabera; alkohol kantitate handiak gosea areagotzen du, baina kantitate hau murriztean, aldiz, ez da janari-ingestaren emendiorik behatzen [35]. Ikerketa honetan ez da taldeen arteko janari-ingestan desberdintasunik ikusi; edandako alkohol kantitatea nahiko handia izan denez, agian animalia kopurua handitzeak desberdintasunak behatzea ahalbidetuko luke.

#### **4.1. Alkoholaren epe luzerako ondorioak C57BL/6J sagu ar nerabeetan**

Ikerlan honetako saguen alkohol-kontsumoaren ondoriozko kalteak aztertzeke, portaera-probak burutu ziren. Lehenik eta behin, ez zen antsietate-mailan desberdintasunik behatu eremu irekiaren proban.

Ezagutze-oroimenean eta oroimen espazialean behatutako asaldurak bat datoz aurretik eginiko beste ikerketa batzuekin [3, 32, 36]. Alkoholaren ondorioz hipokanpoko neurogenesi- eta sinaptogenesi-prozesuak kalte-tzen dira, funtzio kognitiboa asaldatur; bai oroimena bai ikasteko ahalmena ere [37, 38]. Hipokanpoko neurogenesi-prozesua hortz-bihurguneko zelula pikortsuen azpiko geruzan gertatzen da, eta sortutako zelula berriek hortz-bihurguneko zelula pikortsuen geruzara migratzen dute. Han desberdindu, axoiak eta dendritak luzatu eta markatzaile espezifikoak adierazten dituzte, neuronen populazio eferente eta aferenteekin konektatur [39, 40, 41]. Azken urteotan burututako ikerketek iradoki dute neurogenesi-prozesu horrek hilabetero zelula pikortsuen populazioaren % 6 sortarazten duela [42]. Nerabazaroko «binge drinking»-aren ondorioz hipokanpoko neurogenesi-prozesua kaltetu daiteke; kalte hori iraunkorra izan daiteke, eta helduarora luzatu, eta, beraz, hipokanpoko funtzioan ondorio larriak eragin ditzake [43]. Zehazki, memoria-defizitak eraginez, portaera aldaraziz eta burmuineko plastikotasun, transmisio eta funtzio kognitiboak asaldatur, besteak beste [43, 44].

Oreka-proban behatutako asaldurak garuntxoan eta bekoki aurreko lobuluan kalteak gertatu direla aditzera ematen du, koordinazio-motorren eta oreka-funtzioen arduradun baitira [45]. Izan ere, nerabazaroko alkohol-kontsumoa bekoki aurreko lobuluaren tamaina txikiagoarekin erlazionatuta dago [27]. Gizaki nerabeetan eginiko ikerketen arabera, garuntxoaren tamaina txikiagoa alkohol-arazoekin dago erlazionatuta: gai grisaren eta zuriaren galera bat ikusi da [27, 28]. Bolumenaren murrizpen hau zelulen galeraren ondorio zuzena da, alkohol-kontsumoak apoptosi neuronala eragiten baitu [46] eta garuntxoko Purkinje zelulen endekapena sustatzen du, neuroendekapen honen ondorioz funtzio motorra kaltetuz [47].

#### **4.2. Ingurune aberastuaren ondorioak helduaroan**

Ikerketa honetako helburu nagusia IA terapia moduan ikertzea izan da. Gure ikerketa-taldean ikusi den bezala, nerabegaroko betekadetan oinarritutako alkohol-kontsumoaren ondoren, helduaro goiztiarrean, IA gai da burmuineko portaera-funtzioak berreskuratzeko [32]. Ikerketa honetan, epe luzeagora, hau da, helduaroan, IAK eragin bera duen ala ez aztertu nahi zen, etorkizunera begira terapia moduan erabiltzeko bideragarritasuna bermatzeko.

IAk estimulu sozialak, fisikoak eta kognitiboak sustatzen ditu, burmuineko funtzioetan? eta egituran eraginez [48]. IA alkoholaren ondorioz galdutako ezagutzak? eta espazio memorian sortutako kalteak berreskuratzeko gai da, kontroleko balio antzekoetara bueltatuz. Emaiza hauek bat datoz beste ikerketa batzuekin. Hipokanpoko neurogenesia-adinarekin jaitziz doan bitartean, IAK emendio bat dakarrela ikusi da [32, 49]. Ugaztunen burmuina plastikotasun handidun organoa da. IAK hortz-bihurguneko zelula pikortsuen neurogenesia, glia zelulen ugartzea eta hipokanpoko angiogenesisia estimulatu ditu [30, 31]. Horretaz gain, neurotrofinen askapena sustatzen du, eta apoptosia inhibitzen du; funtzio neurobabesle nabarmena agerian jarritz [30]. Paradigma honek, arantza dendritikoen eta hauen besoen luzeraren emendioa eta neurona bakoitzeko sinapsi kantitatea bultzatzen ditu [30]. Gainera, ikasketa espazialeko memoria hobetzen du [30]. Honek guztiak azaldu lezake nerabegaroko alkohol-kontsumoak epe luzera kaltetutako funtzioen berreskurapena.

IAk koordinazioan eta orekan gertatutako kalteak arintzen ditu. Emaiza hau bat dator beste ikerketa batzuetan ikusitakoarekin [32, 50]. Areago, burmuineko traumatismo baten ondoriozko koordinazio-motorra eta oreka berreskuratu dezake IAK, neuronan hazkuntza-faktorearen aktibazioaren ondorioz [51]. Antzeko emaitzak ikusi ziren bizkarrezur-muineko lesio baten ondoren [52]. Hortaz, ikerketa honek agerian jartzen du IAK zeresan handia izan dezakeela alkoholak kaltetutako orekaren eta koordinazio-motorraren berreskurapenean.

Laburbilduz, alkoholak kognizioan eta orekan kalteak eragiten ditu, epe luzera mantentzen direnak; helduarora arte, hain zuzen ere. Bestalde, IA kalte hauek berreskuratzeko gai dela ere frogatu da, kalte edo asaldura hauen tratamendurako terapia eraginkorra izan daitekeela iradokiz. Horren harira, zentzumen anitzeko terapian oinarritutako Snoezelen kontzeptua geroz eta erabilgarritasun handiagoa izaten ari da klinikan, non nabarmentzekoak diren hainbat gaixotasunetan eragiten dituen onurak. Snoezelen norbanako zentzumenen estimulazioan edo erlaxazioan oinarritzen den terapia ez-farmakologikoa da [53]. Terapia honetan ikusmena, ukimena, dastamena, oreka, propiozepzioa eta usaimena (finean, zentzumenak) hainbat koloredun argiztapen artifizialen bitartez, musika terapeutikoaren bidez, uki-

tzeko hainbat ehundura eta usaintzeko hainbat lurrinen bitartez kitzikatzen dira. Horrela, garun-lesio traumatikoan, min kronikoan, nerabeen ikasketaprozesuan eta dementzian nabarmenak diren sintoma fisiologikoak eta portaera-asaldurak arintzeko terapia eraginkor bezala deskribatu da. Zentzu horretan eta oinarrizko ikerkuntzan ingurune aberastuak alkoholak dakartzan asaldurei aurre egiteko aurkezten dituen onurak aintzat hartuta, Snoezelen terapiak zeresan handia izan dezake maila klinikoan alkoholismoaren ondoriozko kalteak apaltzeko eta pertsona horien bizi-kalitatea hobetzeko [53].

## 5. ESKER ONAK

Artikulu hau honako hauei esker gauzatu da: Eusko Jaurlaritzak (IT1230-19), Red de Trastornos Adictivos, Instituto de Salud Carlos III (ISC-III) eta Fondo Europeo de Desarrollo Regional-Unión Europea (ERDF-EU; RD16/0017/0012); MINECO/FEDER, UE (SAF2015-65034-R) finantzatutako ikerketari esker eta Euskal Herriko Unibertsitatearen (UPV/EHU) Ikertzaileak Prestatzeko Doktoretza Aurreko Kontratatuiei esker: PIF 18/315 (Leire Lekunberri) eta PIF 19/164 (Maitane Serrano).

## BIBLIOGRAFIA

- [1] WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2019. *Global status report on alcohol and health 2018*. World Health Organization.
- [2] MERRILL, J. E., eta CAREY, K. B. 2016. Drinking over the lifespan: Focus on college ages. *Alcohol research: current reviews*.
- [3] PEÑASCO, S., RICO-BARRIO, I., PUENTE, N., FONTAINE, C. J., RAMOS, A., REGUERO, L., ... eta GRANDES, P. 2020. «Intermittent ethanol exposure during adolescence impairs cannabinoid type 1 receptor-dependent long-term depression and recognition memory in adult mice». *Neuropsychopharmacology*, **45**(2), 309-318.
- [4] PAUS, T. 2005. «Mapping brain maturation and cognitive development during adolescence». *Trends in cognitive sciences*, **9**(2), 60-68.
- [5] SPEAR, L. P. 2000. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **24**(4), 417-463.
- [6] COLLINS, W. A., eta MADSEN, S. D. 2006. Personal Relationships in Adolescence and Early Adulthood. *The Cambridge handbook of personal relationships*, 191-209. Cambridge University Press.
- [7] CREWS, F., HE, J., eta HODGE, C. 2007. Adolescent cortical development: a critical period of vulnerability for addiction. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, **86**, 189-199.
- [8] STEINBERG, L. 2005. «Cognitive and affective development in adolescence». *Trends in cognitive sciences*, **9**(2), 69-74.

- [9] LENROOT, R. K. eta GIEDD, J. N. 2006. Brain development in children and adolescents: insights from anatomical magnetic resonance imaging. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **30**, 718-729.
- [10] BAVA, S., eta TAPERT, S. F. 2010. Adolescent brain development and the risk for alcohol and other drug problems. *Neuropsychology Review*, **20**, 398-413.
- [11] CREWS, F. T., VETRENO, R. P., BROADWATER, M. A., eta ROBINSON, D. L. 2016. Adolescent alcohol exposure persistently impacts adult neurobiology and behavior. *Pharmacological reviews*, **68**(4), 1074-1109.
- [12] BOGIN, B. 1999. «Evolutionary perspective on human growth». *Annual Review of Anthropology*, **28**(1), 109-153.
- [13] DEAN, J. T., LEAKEY, M. G., REID, D., SCHRENK, F., SCHWARTZ, G. T., STRINGER, C., eta WALKER, A. 2001. «Growth processes in teeth distinguish modern humans from Homo erectus and earlier hominins». *Nature*, **414**(6864), 628.
- [14] MINUGH-PURVIS, N., eta MCNAMARA, K. J. (Eds.). 2002. «Human evolution through developmental change». *JHU Press*.
- [15] PFEFFERBAUM, A., MATHALON, D. H., SULLIVAN, E. V., RAWLES, J. M., ZIPURSKY, R. B., eta LIM, K. O. 1994. «A quantitative magnetic resonance imaging study of changes in brain morphology from infancy to late adulthood». *Archives of neurology*, **51**(9), 874-887.
- [16] HOOKER, K., & KAUS, C. R. 1994. Health-related possible selves in young and middle adulthood. *Psychology and Aging*, **9**(1), 126.
- [17] PRUESSNER, J. C., COLLINS, D. L., PRUESSNER, M., eta EVANS, A. C. (2001). Age and gender predict volume decline in the anterior and posterior hippocampus in early adulthood. *Journal of Neuroscience*, **21**(1), 194-200.
- [18] SOWELL, E. R., THOMPSON, P. M., HOLMES, C. J., JERNIGAN, T. L., eta TOGA, A. W. 1999. «In vivo evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions». *Nature neuroscience*, **2**(10), 859.
- [19] SOWELL, E. R., THOMPSON, P. M., LEONARD, C. M., WELCOME, S. E., KAN, E., & TOGA, A. W. 2004. «Longitudinal mapping of cortical thickness and brain growth in normal children». *Journal of Neuroscience*, **24**(38), 8223-8231.
- [20] SHAW, P., KABANI, N. J., LERCH, J. P., ECKSTRAND, K., LENROOT, R., GOGTAY, N., eta GIEDD, J. N. 2008. «Neurodevelopmental trajectories of the human cerebral cortex». *Journal of Neuroscience*, **28**(14), 3586-3594.
- [21] GIEDD, J. N., eta RAPOPORT, J. L. 2010. «Structural MRI of pediatric brain development: what have we learned and where are we going?». *Neuron*, **67**(5), 728-734.
- [22] STILES, J., eta JERNIGAN, T. L. 2010. «The basics of brain development». *Neuropsychology review*, **20**(4), 327-348.
- [23] MARKWIESE, B. J., ACHESON, S. K., LEVIN, E. D., WILSON, W. A., eta SWARTZWELDER, H. S. 1998. «Differential effects of ethanol on me-

- mory in adolescent and adult rats». *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **22**(2), 416-421.
- [24] ACHESON, S. K., RICHARDSON, R., eta SWARTZWELDER, H. S. 1999. «Developmental changes in seizure susceptibility during ethanol withdrawal». *Alcohol*, **18**(1), 23-26.
- [25] DE BELLIS, M. D., CLARK, D. B., BEERS, S. R., SOLOFF, P. H., BORING, A. M., HALL, J., eta KESHAVAN, M. S. 2000. «Hippocampal volume in adolescent-onset alcohol use disorders». *American Journal of Psychiatry*, **157**(5), 737-744.
- [26] FRANKE, H., KITTNER, H., BERGER, P., WIRKNER, K., eta SCHRAMMEK, J. 1997. «The reaction of astrocytes and neurons in the hippocampus of adult rats during chronic ethanol treatment and correlations to behavioral impairments». *Alcohol*, **14**(5), 445-454.
- [27] DE BELLIS, M. D., NARASIMHAN, A., THATCHER, D. L., KESHAVAN, M. S., SOLOFF, P., & CLARK, D. B. (2005). «Prefrontal cortex, thalamus, and cerebellar volumes in adolescents and young adults with adolescent-onset alcohol use disorders and comorbid mental disorders». *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **29**(9), 1590-1600.
- [28] LISDAHL, K. M., THAYER, R., SQUEGLIA, L. M., MCQUEENY, T. M., eta TAPERT, S. F. 2013. «Recent binge drinking predicts smaller cerebellar volumes in adolescents». *Psychiatry Research: Neuroimaging*, **211**(1), 17-23.
- [29] SIMPSON, J., eta KELLY, J. P. 2011. «The impact of environmental enrichment in laboratory rats—behavioural and neurochemical aspects». *Behavioural brain research*, **222**(1), 246-264.
- [30] YOUNG, D., LAWLOR, P. A., LEONE, P., DRAGUNOW, M., eta DURING, M. J. 1999. «Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective». *Nature medicine*, **5**(4), 448.
- [31] YU, K., WU, Y., ZHANG, Q., XIE, H., LIU, G., GUO, Z., ... eta HU, R. 2014. Enriched environment induces angiogenesis and improves neural function outcomes in rat stroke model. *Journal of the neurological sciences*, **347**(1-2), 275-280.
- [32] RICO-BARRIO, I., PEÑASCO, S., PUENTE, N., RAMOS, A., FONTAINE, C., REGUERO, L., GIORDANO, M., BUCETA, I., TERRADILLOS, I., LEKUNBERRI, L., MENDIZABAL, J., RODRÍGUEZ DE FONSECA, F., GERRIKAGOITIA, I., ELEZGARAI, I., eta GRANDES, P. 2019. «Cognitive and neurobehavioral benefits of an enriched environment on young adult mice after chronic ethanol consumption during adolescence». *Addiction biology*, **24**(5), 969-980.
- [33] JI, M. H., WANG, Z. Y., SUN, X. R., TANG, H., ZHANG, H., JIA, M., QIU L. L., ZHANG G. F., PENG Y. G. eta YANG, J. J. (2017). «Repeated neonatal sevoflurane exposure-induced developmental delays of parvalbumin interneurons and cognitive impairments are reversed by environmental enrichment». *Molecular neurobiology*, **54**(5), 3759-3770.

- [34] YEOMANS, M. R., CATON, S., eta HETHERINGTON, M. M. 2003. Alcohol and food intake. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, **6**(6), 639-644.
- [35] CATON, S. J., BALL, M., AHERN, A., eta HETHERINGTON, M. M. (2004). Dose-dependent effects of alcohol on appetite and food intake. *Physiology & behavior*, **81**(1), 51-58.
- [36] LUCIA, D., BURGESS, D., CULLEN, C. L., DOREY, E. S., RAWASHDEH, O., eta MORITZ, K. M. 2019. Periconceptional maternal alcohol consumption leads to behavioural changes in adult and aged offspring and alters the expression of hippocampal genes associated with learning and memory and regulators of the epigenome. *Behavioural brain research*, **362**, 249-257.
- [37] IKONOMIDOU, C., BITTIGAU, P., ISHIMARU, M. J., WOZNIAK, D. F., KOCH, C., GENZ, K., ... eta OLNEY, J. W. 2000. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. *Science*, **287**(5455), 1056-1060.
- [38] NIXON, K., eta CREWS, F. T. 2002. «Binge ethanol exposure decreases neurogenesis in adult rat hippocampus». *Journal of Neurochemistry*, **83**(5), 1087-1093.
- [39] GAGE F. H. eta SONG H. J. 2002. «Neural stem cells from adult hippocampus develop essential properties of functional CNS neurons». *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* **41**, 354-356.
- [40] GOULD E. eta GROSS C. G. (2002) «Neurogenesis in adult mammals: Some progress and problems». *J. Neurosci.* **22**, 619-623.
- [41] VAN PRAAG, H., SCHINDER, A. F., CHRISTIE, B. R., TONI, N., PALMER, T. D., eta GAGE, F. H. 2002. «Functional neurogenesis in the adult hippocampus». *Nature*, **415**(6875), 1030.
- [42] REDILA, V. A., eta CHRISTIE, B. R. (2006). Exercise-induced changes in dendritic structure and complexity in the adult hippocampal dentate gyrus. *Neuroscience*, **137**(4), 1299-1307.
- [43] VETRENO, RP., eta CREWS, F.T. 2015. «Binge ethanol exposure during adolescence leads to a persistent loss of neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus that is associated with impaired adult cognitive functioning». *Front Neurosci* **12**, 9-35.
- [44] MIRA, R. G., LIRA, M., TAPIA-ROJAS, C., REBOLLEDO, D. L., QUINTANILLA, R. A., eta CERPA, W. 2020. Effect of alcohol on hippocampal-dependent plasticity and behavior: role of glutamatergic synaptic transmission. *Frontiers in behavioral neuroscience*, **13**, 288.
- [45] DIAMOND, A. 2000. Close interrelation of motor development and cognitive development and of the cerebellum and prefrontal cortex. *Child development*, **71**(1), 44-56.
- [46] LAMONT, M. G., MCCALLUM, P., HEAD, N., BLUNDELL, J., eta WEBER, J. T. 2020. Binge drinking in male adolescent rats and its relationship to persistent behavioral impairments and elevated proinflammatory/proapoptotic proteins in the cerebellum. *Psychopharmacology*, **237**(5), 1305-1315.

- [47] FORBES, A., COOZE, J., MALONE, C., FRENCH, V., eta WEBER, J. T. 2013. Effects of intermittent binge alcohol exposure on long-term motor function in young rats. *Alcohol*, **47**(2), 95-102.
- [48] VAN PRAAG, H., KEMPERMANN, G. eta GAGE, F. H. 2000. «Neural consequences of environmental enrichment». *Nat Rev Neurosci* **1**, 191-198.
- [49] KEMPERMANN, G., GAST, D., eta GAGE, F. H. 2002. «Neuroplasticity in old age: Sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment». *Annals of neurology*, **52**(2), 135-143.
- [50] TIPYASANG, R., KUNWITTAYA, S., MUKDA, S., KOTCHABHAKDI, N. J., eta KOTCHABHAKDI, N. 2014. Enriched environment attenuates changes in water-maze performance and BDNF level caused by prenatal alcohol exposure. *EXCLI journal*, **13**, 536.
- [51] NYGREN, J., eta WIELOCH, T. 2005. «Enriched environment enhances recovery of motor function after focal ischemia in mice, and downregulates the transcription factor NGFI-A». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **25**(12), 1625-1633.
- [52] BERROCAL, Y., PEARSE, D. D., SINGH, A., ANDRADE, C. M., MCBROOM, J. S., PUENTES, R., eta EATON, M. J. 2007. «Social and environmental enrichment improves sensory and motor recovery after severe contusive spinal cord injury in the rat». *Journal of neurotrauma*, **24**(11), 1761-1772.
- [53] RICO-BARRIO, I., ROJAS, J., BUCETA, I., PUENTE, N., SERRANO, M., eta GRANDES, P. (2019). Snoezelen terapia: zazpi funtsezko zentzumenen ahalmena. *Osagaiz: osasun-zientzien aldizkaria*, **3**(1).