



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

**Zelulaz kanpoko matrizeko hevin  
proteinaren ikerketa giza garunean**

*Amaia Nuñez, Vincent Vialou,  
Sylvie Dumas, Luis F. Callado eta  
Amaia M. Erdozain*

12-17 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iii.04.01>



# Zelulaz kanpoko matrizeko hevin proteinaren ikerketa giza garunean

Núñez, Amaia<sup>1</sup>; Vialou, Vincent<sup>2</sup>; Dumas, Sylvie<sup>3</sup>; Callado, Luis F.<sup>1,4</sup> eta Erdozain, Amaia M.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Farmakologia saila, Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU

<sup>2</sup> Neurosciences Paris Seine - Institut de Biologie Paris Seine (NPS – IBPS)

<sup>3</sup> Oramacell, Paris, France

<sup>4</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM)

amaia.nunez@ehu.eus

## Laburpena

Azkeneko urteotan egindako ikerketa anitzek konexio neuronaletan laugarren egitura batek eragin zuzenak dituela frogatu dute: zelulaz kanpoko matrizea (ZKMa) hain zuzen ere. ZKMko proteina gehienak garunaren garapena ematen den bitartean espresatzen dira, eta garun helduan haien adierazpenaren murrizpena jasaten dute.

Hala ere, hevin proteina maila altuetan espresatzen jarraitzen da garun helduan, non plastikotasun neuronalean parte hartzen duen. Horretaz gain, hevinen adierazpenaren aldaketak neurogarapeneko gaixotasunekin eta gaitz neuropsikiatrikoekin erlazionatu dira.

Beraz, ikerketa proiektu honen helburua giza garun *postmortem*-ean hevin ikertzea da, Western Blot eta FISH teknikak erabiliz. Ikerlan honek, hevin patologiarik gabeko subjektu helduen garunetan espresatzen dela ezagutarazi du.

Hitz gakoak: sinapsia, zelulaz kanpoko matrizea, astrozitoak, hevin, Western Blot, *in situ* egindako hibridazio fluoreszentea.

## Abstract

*Recent studies have described a fourth structure in neuronal connections, which produces direct effects on them: the extracellular matrix (ECM). Most of ECM proteins are expressed during brain development, and their expression is reduced in adult brain.*

*However, hevin protein remains highly expressed in adult brain, where it contributes to neuronal plasticity. Besides that, alterations in hevin's expression are related to neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders.*

*Therefore, the objective of this research project is to study hevin's expression in postmortem human brain, by Western Blot and FISH techniques. The present work reveals the presence of hevin in the brain of non-pathologic adult subjects.*

*Keywords: synapse, extracellular matrix, astrocytes, hevin, Western Blot, fluorescence in situ hybridization.*

## 1. Sarrera eta motibazioa

Gero eta onartuago dago estresak giza garunean ondorioak eragiten dituela. Azkenengo ikerkuntzek estresa hainbat gaitz neuropsikiatrikoekin erlazionatzen dute zuzen-zuzenean, hala nola, depresioarekin, eskizofreniarekin edo adikzioetara eramaten duen sari-memoriarekin (Gomes eta Grace, 2017; Liu eta Alloy, 2010; Shinohara et al., 2018). Gaitz psikiatrikoen sintomak sari-prozesamenduaren alterazioekin, disfunzio kognitiboekin eta afektibitate- eta jarrera- disfunzioekin erlazionatuta daude (Nestler eta Carlezon, 2006). Disfunzio hauek plastikotasun sinpatikoak eta morfologia neuronalaren aldaketek eragindako garun-aktibitatearen alterazioekin lotu dira (Duman eta Aghajanian, 2012). Alzheimerren gaixotasuna aipatutako mekanismo molekularren adibide ona da, astrozitoen disfunzioaren ondoriozko plastikotasun sinaptiko anormalarekin erlazionatu egin baita (Acosta et al., 2017).

Testuinguru honetan, jakina da astrozitoak sinaptogenesi neuronalen erregulatzaileak direla. Beraz, nerbio sistema zentralaren (NSZ) garapenean gaitz neuronalak ez gertatzeko ezinbesteko funtzioa dute (Eroglu, 2009; Mendis et al., 1996). Horrelako erregulazioa burutzeko, astrozitoek zenbait molekula jariatzeko garunaren garapena ematen den bitartean. Molekula hauek proteina matrize zelularrak dira eta zelulaz kanpoko matrizea (ZKM) osatzen dute (Allen, 2013; Jones eta Bouvier, 2014). ZKMak neurona presinaptikoa, neurona postsinaptikoa eta gliarekin batera, sinapsi tetrapartita bezala izendatu izan den sinapsiaren oinarriko unitate funtzionala

osetzen du (Dityatev eta Rusakov, 2011). Astrozitoek hainbat proteina matrizelularrak espresatzen eta jariatzen dituzte: tronboespondinak, SPARC, hevin eta tenaszina C, besteak beste (Jones eta Bouvier, 2014).

Lan honetan hevin (SPARC-like1 edo SC1 ere deritzo) proteina aztertuko da. Hevin berezia egiten duen ezaugarria, beste proteina matrizelularrak ez bezala, garun helduan maila altuetan espresatzen jarraitzen dela da. Eta honek iradokitzen du hevinek helduetan etengabe ematen den plastikotasun neuronalean eraginak dituela, eta ez bakarrik garatzen ari den burmuinean (Jones eta Bouvier, 2014). Hevin sinapsi glutamatergikoen tarte sinaptikoan agertzen den glikoproteina bat da, eta zelula-zelula eta zelula-ZKM elkarrekintzan parte hartuz zelulen oinarritzko prozesuetan eragiten du: morfologian, ugaritzean eta migrazioan (Girard eta Springer, 1996; Gongidi et al., 2004; Johnston et al., 1990). Hevinen funtzio azpimarragarrienetako bat sinapsi kitzikatzaile hauen eraketa sustatzea da, sinapsi glutamatergikoen orekatzaile moduan jokatuz (Kucukdereli et al., 2011). Beraz, garun-kortexaren garapena ematen ari den bitartean, sinapsi talamokortikal egokiak sortzeko eta arantza dendritikoak heltzeko beharrezkoa da (Risher et al., 2014). Funtzio honen mekanismo molekularra orain dela gutxi ezagutu da: hevin neurexina deritzon proteina presinaptikoa eta neurologina deritzon proteina postsinaptikoa lotzen ditu. Neurexina eta neurologinaren arteko loturak neurona presinaptikoetan neurotransmisoreen jariatzea eragiten du sinapsi axo-dendritikoetan. Bi proteina hauek, berez, ezin dira lotu baina hevinek zubi bat osatzen du beraien artean. Hortaz, sinapsi glutamatergikoen egonkortasuna eta sinapsi talamokortikalen konexioetan plastikotasuna sustatzen ditu (Singh et al., 2016).

## **2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak**

### **2.1. Hevin hainbat patologiatan**

Hevinen adierazpenaren aldaketak disfuntzio neuronalekin, neurogarapeneko gaitzekin, gaixotasun neurologikoekin edota gaitz psikiatrikoekin erlazionatu egin da:

- 1) Autismoa pairatzen duten subjektuetan hevinen eta hainbat neurexinen eta neurologinen mutazioak aurkitu direnez, hevinek sortzen duen sinapsien arteko loturak autismoan garrantzia izan dezakeela iradoki da (De Rubeis et al., 2014). Gainera, gaixo hauengan konexio talamokortikal anormalak daudela ikusi da (Nair et al., 2013).
- 2) Autismo eta depresioa bezalako gaitz neuropsikiatrikoetan hevinen adierazpena murriztuta dago (Purcell et al., 2001; Zhurov et al., 2012).
- 3) Estres sozialeko animalia eredu batean (social defeat) hevinek erresilientzia sustatzen du (estresaren aurrean eragin negatiboak ez izateko gaitasuna). Horretaz gain, depresio motako sintomen agerpena murriztu dezake (Vialou et al., 2010).
- 4) X hauskorren sindromea (Fragile X Syndrome, FXS) bezalako neurogarapeneko gaitzetan hevin proteinaren adierazpena aldatuta dago (Wallingford et al., 2017).
- 5) Alzheimer edo Parkinson gaixotasunak pairatzen duten gaixoen likido zefalorrakideoan (LZR) hevinen gainadierazpena ikusi da (Yin et al., 2009).
- 6) Hevinen adierazpenaren mailak igotzen dira garun-infartu iskemiko baten ondoren, agian, infartuaren ondoriozko heriotza neuronala orekatzeko helburuarekin (Lively et al., 2011).
- 7) Alkoholismoaren kasuan ikusi dugu saguen accumbens nukleoan (drogen sari-gaitasunean parte hartzen duen garun atala) eragindako hevinen adierazpenaren murrizpenak alkoholaren kontsumoa handitzen duela. Era honetan, bai alkoholismoan bai beste substantziekiko menpekotasunean hevinen eginkizun garrantzitsua antzeman dugu.

### **2.2. Helburuak**

Orohar, ikerketa lerro honek hevin proteinak konexio neuronalean, garunaren funtzionamenduan eta gaixotasun psikiatrikoetan duen betebeharrari buruzko informazioa handitzea du helburu. Nahiz eta hevin proteina matrizelularren ikerketak saguan anitzak izan diren, oraindik ez da proteinaren azterketa sakonik egin giza garunean.

Beraz, lan honen helburu orokorra hurrengo izango da: Western Blot eta FISH (*in situ* egindako hibridazio fluoreszentea) tekniken bitartez hevin proteinaren adierazpena karakterizatzea *postmortem* giza garunean, subjektu kontrolak (patologiarik gabekoak) erabiliz. Oinarritzko karakterizazio hau behar-beharrezkoa da ondoren hevin proteinaren adierazpena neurtu ahal izateko gaixotasun neuropsikiatriko ezberdinak pairatu dituzten gizakien garunetan, eta horrela, gaixotasun hauen fisiopatologian izan dezakeen funtzioa ulertzeko.

### 3. Ikerketaren muina

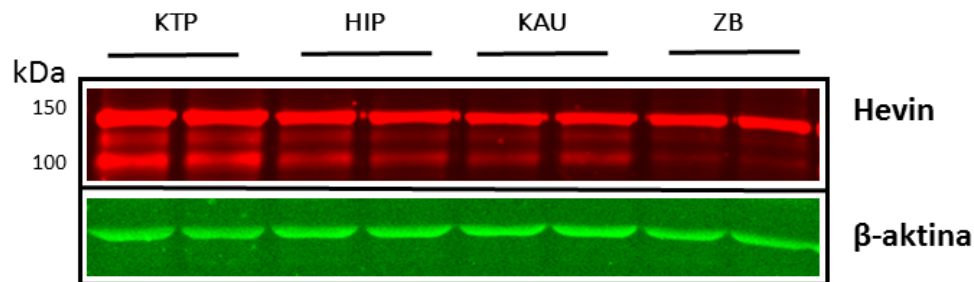
#### 3.1. Hevin proteinaren karakterizazioa Western Blot teknikaren bitartez

Western Blot teknikaren bitartez giza garun ehunean hevin proteina detektatu eta bere adierazpena 4 garun atalen artean (kortex prefrontala, hipokanpoa, nukleo kaudatua eta zerebeloa) konparatu da semikuantifikazioa eginez. Teknika honetan lehenengo eta behin, laginean dauden proteinak tamainaren arabera banatzen dira, eta ondoren, aztertuko den proteinari espezifikoki lotzen zaion antigorputz bat erabiliz (antigorputz primarioa) proteina hori markatu egiten da. Segidan, antigorputz fluoreszente bat erabiliz antigorputz primarioa markatu egiten da eta honen fluoreszentsia infragorri irudi sistema baten bitartez proteinaren seinale immunoerreaktiboa detektatzen da.

Erabilitako lagin kantitateak kasu guztietan berdinak izan direla ziurtatzeko hevinen banden seinale immunoerreaktiboa aktinaren bandaren seinalearekin normalizatu dira.  $\beta$ -aktina era konstitutibo batean espresatzen den proteina bat denez, aztertzen diren proteinen seinale immunoerreaktiboa normalizatzeko erabili daiteke.

Prozesu honi esker hevin proteinaren bi tamaina ezberdineko formen presentzia detektatu ditugu garun atal guztietan, bata 130 kDa-ekoa eta bestea 100 kDa-ekoa. Garun atalen konparaketaren kasuan hevinen bi formek kortex prefrontalean erakutsi dute seinale immunoerreaktibo handiena (1. irudia).

**1. irudia. 5 subjektuen adierazgarria den subjektu baten Western Blot irudia. Gorriz hevinen bi formen bandak (130 kDa-ekoa eta 100 kDa-ekoa) eta berdez aktinaren bandak. 4 garun ataletan lagin bakoitzaren bi erreplika egin dira. (KTP: kortex prefrontala, HIP: hipokanpoa, KAU: nukleo kaudatua, ZB: zerebeloa)**



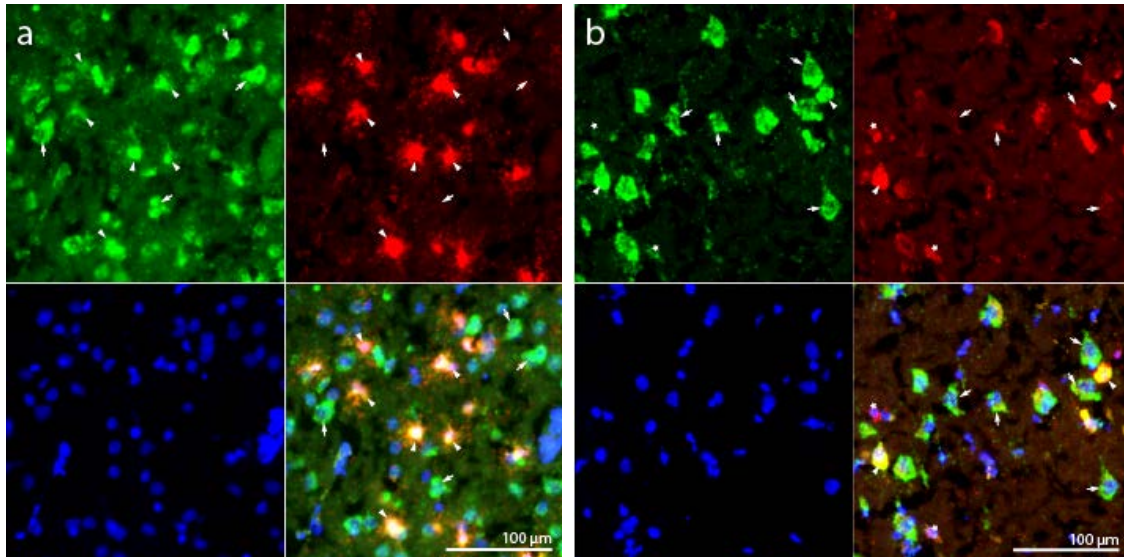
#### 3.2. Hevin proteinaren detekzioa FISH teknikaren bitartez

FISH (*in situ* egindako hibridazio fluoreszente bikoitza) teknikaren bitartez hevin proteinarentzako kodifikatzen duen mRNA (RNA mezularia) detektatu dezakegu zelula mota ezberdinetan. Kasu honetan, oliglonukleotidoz osatutako markatutako zunda batekin hevinen mRNA antzeman egin dugu giza garun *postmortem*-ean, zehazki kortex prefrontalean. Hevinen mRNA markatzeaz gain beste hiru mRNA markatzaile erabili ditugu: GLAST (astrozitoen markatzailea), GAD67 (neurona GABAergikoen markatzailea) edota VGLUT1 (neurona glutamatergikoen markatzailea). Gainera, esperimentu guztietan nukleo zelularrak markatu dira DAPI erabiliz.

Zunda hauei esker ikusi izan dugu, alde batetik, hevinen mRNA astrozitoen markatzailearekin aldi berean espresatzen dela. Eta bestetik, hevinen mRNA neurona GABAergikoen markatzailearekin baterako adierazpenaduela (2.irudia). Neurona

glutamatergikoen kasuan gutxi batzuk aldi berean espresatu dute hevinen mRNA. Beraz, esan dezakegu giza kortex prefrontalean hevin astrozitoetan eta neurona GABAergikoetan espresatzen dela batez ere.

**2. irudia. 5 subjektuen adierazgarria den subjektu baten FISH irudiak. (a) Hevin astrozitoetan eta (b) hevin neurona GABAergikoetan. Berdez hevinen mRNA, gorriz GLAST (a) eta GAD67 (b), urdinez DAPI eta horiz hevinen mRNA GLAST-rekin (a) edo GAD67-rekin (b) gainjarrita (gezi zuriek zelulak adierazten dituzte) (Mongrédien et al., 2019).**



#### 4. Ondorioak

Aipatu den bezala, orain arte dagoen hevinari buruzko informazio gehiena karraskarrietan egindako ikerkuntzetatik datorrenez, proteina hau giza garunean ikertzea funtsezkoa da. Ikerlan honek hevin patologiarik gabeko subjektu helduen garunetan espresatzen dela ezagutarazi du, hevinek helduen NSZean funtzio fisiologikoak betetzen dituela iradokiz. Honetaz gain, kortex prefrontala aztertutako garun atalen artean proteina honetan aberatsena dela ikusi da. Bestalde, hevin zelula mota ezberdinetan agertzen dela frogatu da, bai astrozitoetan eta bai neurona GABAergikoetan. Nahiz eta hevinek giza garunean duen funtzio zehatza ezagutzeko informazio gehiago beharrezkoa izan, lortutakoa hevinen adierazpen profila gaitz neuropsikiatriko ezberdinetan agertzen denarekin konparatzea ahalbidetzen du.

#### 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Behin hevinen adierazpen profila giza garun osasuntsuan deskribatuta dagoela, emango dugun hurrengo pausua hevin bi gaixotasun psikiatrikoetan ikertzea izango da: depresioan eta alkoholismoan. Depresioaren kasuan, hevin ikertzea erabaki dugu erresilentzia sustatzen duela ikusita, ematen duelako depresioa pairatzeko arriskua murrizten duela eta beraz, subjektu depresiboak hevinen espresioa murriztuta erakutsiko lukete (Vialou et al., 2010). Alkoholismoaren kasuan, hevin alkoholarekiko menpekotasunaren garapenean edota menpekotasunaren ondoriozko aldaketa neurologikoetan parte har dezakeela dugu hipotesi bezala. Aurretiko esperimenduetan hevinen espresioaren murrizpena substantziarikiko menpekotasuna garatzeko funtsezko saguean garun atal batetan alkoholaren autokontsumoa handitzen duela ikusi dugulako. Hastear dagoen proiektu hau burutzeko depresioa pairatzen zuten subjektuen eta alkoholismoa pairatzen zuten subjektuen giza garun *postmortem*-ak erabiliko dira.

#### 6. Erreferentziak

Acosta, C., Anderson, H.D., Anderson, C.M. (2017). Astrocyte dysfunction in Alzheimer disease. *J. Neurosci. Res.*, 95, 2430–2447.

- Allen, N.J. (2013). Role of glia in developmental synapse formation. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 23, 1027–1033.
- De Rubeis, S., He, X., Goldberg, A.P., Poultney, C.S., Samocha, K., Cicek, A.E., Kou, Y., Liu, L., Fromer, M., Walker, S., Singh, T., Klei, L., Kosmicki, J., Fu, S.-C., Aleksic, B., Biscaldi, M., Bolton, P.F., Brownfeld, J.M., Cai, J., Campbell, N.J., Carracedo, A., Chahrour, M.H., Chiocchetti, A.G., Coon, H., Crawford, E.L., Crooks, L., Curran, S.R., Dawson, G., Duketis, E., Fernandez, B.A., Gallagher, L., Geller, E., Guter, S.J., Hill, R.S., Ionita-Laza, I., Gonzalez, P.J., Kilpinen, H., Klauck, S.M., Klevzon, A., Lee, I., Lei, J., Lehtimäki, T., Lin, C.-F., Ma'ayan, A., Marshall, C.R., McInnes, A.L., Neale, B., Owen, M.J., Ozaki, N., Parellada, M., Parr, J.R., Purcell, S., Puura, K., Rajagopalan, D., Rehnström, K., Reichenberg, A., Sabo, A., Sachse, M., Sanders, S.J., Schafer, C., Schulte-Rüther, M., Skuse, D., Stevens, C., Szatmari, P., Tammimies, K., Valladares, O., Voran, A., Wang, L.-S., Weiss, L.A., Willsey, A.J., Yu, T.W., Yuen, R.K.C., Cook, E.H., Freitag, C.M., Gill, M., Hultman, C.M., Lehner, T., Palotie, A., Schellenberg, G.D., Sklar, P., State, M.W., Sutcliffe, J.S., Walsh, C.A., Scherer, S.W., Zwick, M.E., Barrett, J.C., Cutler, D.J., Roeder, K., Devlin, B., Daly, M.J., Buxbaum, J.D. (2014). Synaptic, transcriptional, and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, 515, 209–215.
- Dityatev, A., Rusakov, D.A. (2011). Molecular signals of plasticity at the tetrapartite synapse. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 21, 353–359.
- Duman, R.S., Aghajanian, G.K. (2012). Synaptic Dysfunction in Depression: Potential Therapeutic Targets. *Science*, 338, 68–72.
- Eroglu, C. (2009). The role of astrocyte-secreted matricellular proteins in central nervous system development and function. *J. Cell Commun. Signal.*, 3, 167–176.
- Girard, J.-P., Springer, T.A. (1996). Modulation of Endothelial Cell Adhesion by Hevin, an Acidic Protein Associated with High Endothelial Venules. *J. Biol. Chem.*, 271, 4511–4517.
- Gomes, F.V., Grace, A.A. (2017). Adolescent Stress as a Driving Factor for Schizophrenia Development—A Basic Science Perspective. *Schizophr. Bull.*, 43, 486–489.
- Gongidi, V., Ring, C., Moody, M., Brekken, R., Sage, E.H., Rakic, P., Anton, E.S. (2004). SPARC-like 1 regulates the terminal phase of radial glia-guided migration in the cerebral cortex. *Neuron*, 41, 57–69.
- Johnston, I.G., Paladino, T., Gurd, J.W., Brown, I.R. (1990). Molecular cloning of SC1: A putative brain extracellular matrix glycoprotein showing partial similarity to osteonectin/BM40/SPARC. *Neuron*, 4, 165–176.
- Jones, E.V., Bouvier, D.S. (2014). Astrocyte-Secreted Matricellular Proteins in CNS Remodelling during Development and Disease, *Neural Plast.*, 2014, 1-12.
- Kucukdereli, H., Allen, N.J., Lee, A.T., Feng, A., Ozlu, M.I., Conatser, L.M., Chakraborty, C., Workman, G., Weaver, M., Sage, E.H., Barres, B.A., Eroglu, C. (2011). Control of excitatory CNS synaptogenesis by astrocyte-secreted proteins Hevin and SPARC. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 108, 440-449.
- Liu, R.T., Alloy, L.B. (2010). Stress generation in depression: A systematic review of the empirical literature and recommendations for future study. *Clin. Psychol. Rev.*, 30, 582–593.
- Lively, S., Moxon-Emre, I., Schlichter, L.C. (2011). SC1/hevin and reactive gliosis after transient ischemic stroke in young and aged rats. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 70, 913–929.
- Mendis, D.B., Shahin, S., Gurd, J.W., Brown, I.R. (1996). SC1, A SPARC-related glycoprotein, exhibits features of an ECM component in the developing and adult brain. *Brain Res.*, 713, 53–63.
- Mongrédien, R., Erdozain, A.M., Dumas, S., Cutando, L., del Moral, A.N., Puighermanal, E., Rezai Amin, S., Giros, B., Valjent, E., Meana, J.J., Gautron, S., Callado, L.F., Fabre, V., Vialou, V. (2019). Cartography of hevin-expressing cells in the adult brain reveals prominent expression in astrocytes and parvalbumin neurons. *Brain Struct. Funct.* doi: 10.1007/s00429-019-01831-x.
- Nair, A., Treiber, J.M., Shukla, D.K., Shih, P., Müller, R.-A. (2013). Impaired thalamocortical connectivity in autism spectrum disorder: a study of functional and anatomical connectivity. *Brain*, 136, 1942–1955.
- Nestler, E.J., Carlezon, W.A. (2006). The Mesolimbic Dopamine Reward Circuit in Depression. *Biol. Psychiatry*, 59, 1151–1159.
- Purcell, A.E., Jeon, O.H., Zimmerman, A.W., Blue, M.E., Pevsner, J. (2001). Postmortem brain abnormalities of the glutamate neurotransmitter system in autism. *Neurology*, 57, 1618-28.

- Risher, W.C., Patel, S., Kim, I.H., Uezu, A., Bhagat, S., Wilton, D.K., Pilaz, L.-J., Singh Alvarado, J., Calhan, O.Y., Silver, D.L., Stevens, B., Calakos, N., Soderling, S.H., Eroglu, C. (2014). Astrocytes refine cortical connectivity at dendritic spines. *eLife*, 3, 1-24.
- Shinohara, F., Asaoka, Y., Kamii, H., Minami, M., Kaneda, K. (2018). Stress augments the rewarding memory of cocaine via the activation of brainstem-reward circuitry. *Addict. Biol.* doi: 10.1111/adb.12617.
- Singh, S.K., Stogsdill, J.A., Pulimood, N.S., Dingsdale, H., Kim, Y.H., Pilaz, L.-J., Kim, I.H., Manhaes, A.C., Rodrigues-Junior, W.S., Pamukcu, A., Enustun, E., Ertuz, Z., Scheiffele, P., Soderling, S., Silver, D.L., Ji, R.-R., Medina, A.E., Eroglu, C. (2016). Astrocytes Assemble Thalamocortical Synapses by Bridging Nr1 $\alpha$  and NL1 via Hevin. *Cell*, 164, 183–196.
- Vialou, V., Robison, A.J., LaPlant, Q.C., Covington, H.E., Dietz, D.M., Ohnishi, Y.N., Mouzon, E., Rush, A.J., Watts, E.L., Wallace, D.L., Iniguez, S.D., Ohnishi, Y.H., Steiner, M.A., Warren, B., Krishnan, V., Neve, R.L., Ghose, S., Berton, O., Tammimga, C.A., Nestler, E.J. (2010).  $\Delta$ FosB in brain reward circuits mediates resilience to stress and antidepressant responses. *Nat. Neurosci.*, 13, 745–752.
- Wallingford, J., Scott, A.L., Rodrigues, K., Doering, L.C. (2017). Altered Developmental Expression of the Astrocyte-Secreted Factors Hevin and SPARC in the Fragile X Mouse Model. *Front. Mol. Neurosci.*, 10, 1-12.
- Yin, G.N., Lee, H.W., Cho, J.-Y., Suk, K. (2009). Neuronal pentraxin receptor in cerebrospinal fluid as a potential biomarker for neurodegenerative diseases. *Brain Res.* 1265, 158–170.
- Zhurov, V., Stead, J.D.H., Merali, Z., Palkovits, M., Faludi, G., Schild-Poulter, C., Anisman, H., Poulter, M.O., (2012). Molecular Pathway Reconstruction and Analysis of Disturbed Gene Expression in Depressed Individuals Who Died by Suicide. *PLoS ONE*, 7, 1-13.

## 7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa lan honek Fundación Vital eta ERAB-en (The European Foundation For Alcohol Research) (EA 1819) diru-laguntzak jaso ditu. Nuñez A. Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza sailaren Doktoratu Aurreko Programaren laguntza baten jabea da.