


Biotecnología para el estudio de enfermedades neuropsiquiátricas y la búsqueda de nuevos tratamientos: caso de las neuregulinas

Biotechnology for the study of neuropsychiatric diseases and the search for new treatments: case of neuregulins

María Clara Soto-Bernardini¹

Soto-Bernardini, MC. Biotecnología para el estudio de enfermedades neuropsiquiátricas y la búsqueda de nuevos tratamientos: caso de las neuregulinas. *Tecnología en Marcha*. Especial 2019. 25 Aniversario del Centro de Investigación en Biotecnología. Pág 66-76.

 <https://doi.org/10.18845/tm.v32i9.4629>

¹ Profesora/Investigadora. Centro de Investigaciones en Biotecnología (CIB). Escuela de Biología. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: masoto@tec.ac.cr.  <https://orcid.org/0000-0003-2266-787X>



Palabras clave

Neuregulinas; ErbB4; esquizofrenia; neurociencias.

Resumen

Las neuregulinas (NRGs) son factores de crecimiento tipo epidérmicos (EGF), que actúan como ligandos para receptores transmembrana tirosin quinasa de la familia ErbB. La señalización de NRG1 y su principal receptor en el cerebro, ErbB4, participa en procesos del desarrollo embrionario, la neurotransmisión y la plasticidad sináptica. Existe evidencia de que distintas isoformas de NRG1 desempeñan funciones específicas, pero la medida de como estas participan en los procesos mencionados no está clara. *Nrg1* se ha asociado a la esquizofrenia (EZ) en distintas poblaciones. Además, se ha reportado un incremento en la expresión de este gen en cerebros *post mortem* de pacientes con EZ, así como hiperfosforilación de ErbB4. Esto sugiere que la hiperestimulación de NRG1/ErbB4 puede representar un componente de la etiología de la EZ. Los mecanismos patológicos asociados aún no se conocen.

En el Centro de Investigaciones en Biotecnología (CIB), se está desarrollando una línea de investigación que se enmarca dentro del área de ciencias biomédicas, específicamente las neurociencias. Estos estudios cuentan con colaboradores en el Instituto Max Planck para Medicina Experimental (Göttingen) y cuentan con líneas únicas de ratones sobreexpresores de NRGs. Estas valiosas herramientas nos permitirán realizar estudios *in vivo* sobre las consecuencias de hiperestimular NRG1/ErbB4 en circuitos corticales, relevante para las enfermedades neuropsiquiátricas. Se espera que la nueva línea de investigación contribuya a establecer/fortalecer redes de colaboración científica inter-institucional e internacional y al mismo tiempo, incremente la cantidad y la calidad del Capital Humano en la investigación de neurociencias en Costa Rica.

Keywords

Neuregulins; ErbB4; schizophrenia; neuroscience.

Abstract

Neuregulins (NRGs) are epidermal growth factor (EGF)-like and differentiation factors, which serve as ligands for transmembrane receptor tyrosine kinases of the ErbB family. NRG1/ErbB4 signaling in the brain, has been involved in processes of embryonic development, neurotransmission and synaptic plasticity. Evidence suggests that different isoforms of NRG1 perform specific functions, but the extent to which they participate in the mentioned processes is not clear. *Nrg1* has been associated with schizophrenia (SC) in different populations. Furthermore, an increased expression of this gene in post-mortem brains of SC patients and hyperphosphorylation of ErbB4 has been reported. Thus, hyperstimulation of NRG1/ErbB4 signaling may represent a component of the etiology of SC. The associated pathological mechanisms are not yet known.

A research line is being developed at the Center for Research in Biotechnology (CIB) which is part of the biomedical sciences, specifically neuroscience. These studies have collaborators at the Max Planck Institute for Experimental Medicine (Göttingen) and have available unique mouse lines for overexpression of NRGs. These invaluable tools will allow us to carry out *in vivo* studies on the consequences of hyperstimulation of NRG1/ErbB4 in cortical circuits, relevant in the context of neuropsychiatric diseases. Besides, these investigations will be an

important contribution for the development of neuroscience in Costa Rica. It is also expected that the new line of research will establish/strengthen inter-institutional and international scientific collaboration networks and will significantly increase the quantity and quality of Human Capital in neuroscience research in Costa Rica.

Neuregulina 1 (NRG1)

Las NRGs son una familia de factores de crecimiento y diferenciación codificados por cuatro genes (*Nrg1-4*). NRG1, corresponde a la NRG más representativa y mejor estudiada. Mediante procesos de corte y empalme alternativo y el uso diferencial de promotores, el gen *Nrg1*, puede dar origen a más de 30 isoformas que pueden agruparse en 6 tipos de proteínas. Las NRG1 tipo I-VI difieren en sus dominios N-terminal, sin embargo todas estas proteínas contienen un dominio tipo EGF (factor de crecimiento epidérmico), el cual es necesario y suficiente para activar receptores tirosina quinasa de la familia ErbB. Además, las NRG1 tipo I, II, IV y V poseen un dominio tipo inmunoglobulina (Ig) hacia el extremo N-terminal, razón por la cual son referidas como Ig-NRG. Por otro lado, la NRG1 tipo III contiene un dominio rico en cisteínas (CRD) que funciona como un segundo dominio transmembrana y son referidas como CRD-NRGs [1]–[3] NRG2, NRG3, and NRG4.

La mayoría de las isoformas de NRG1 son sintetizadas como precursores transmembrana, que posteriormente sufren una escisión proteolítica. Como consecuencia de ese procesamiento, las isoformas Ig-NRG1 tienen un fragmento N-terminal difusible, que incluye los dominios EGF y tipo Ig. Por lo tanto, estas isoformas actúan mayoritariamente por señalización paracrina (figura 1), uniéndose a receptores ErbB en células vecinas. La CRD-NRG1 es una excepción debido a que después del procesamiento proteolítico, esta permanece unida a la membrana mediante el dominio CRD y actúa mediante señalización yuxtacrina (figura 1) [1].

Las formas más abundantes de NRG1 en cerebro humano y de rata son la tipo III y la tipo II, seguidas por las tipo I y tipo V. Por otro lado, las diferentes isoformas de NRG1, exhiben perfiles de expresión dinámicos, con mayor expresión en etapas tempranas del desarrollo embrionario (alrededor E13) y pocos días después del nacimiento, hacia el día posnatal (P)5. Además, estas isoformas se expresan en neuronas de proyección tanto en la corteza como en el hipocampo de humanos y ratas. También se han encontrado en interneuronas GABAérgicas y astrocitos [4], [5]. Esto sugiere que ejercen funciones importantes en el neurodesarrollo.

La complejidad y diversidad de la biología de NRG1 se ha evidenciado también mediante estudios que demuestran funciones específicas para distintas isoformas. Por ejemplo, migración de interneuronas en la corteza en desarrollo [6]–[8]. Adicionalmente, la complejidad de la señalización de NRG1 se ve incrementada por modificaciones post-traduccionales, como glicosilaciones [9] y procesamiento por proteasas como TACE/ADAM17 (tumor necrosis factor- α converting enzyme [10], [11]), BACE ([12], [13]) y ADAM19 (-meltrin beta, [14]). Además, la expresión y el procesamiento de las isoformas de NRG1 parecen estar distintamente regulados temporal y espacialmente por la actividad neuronal [1], [5].

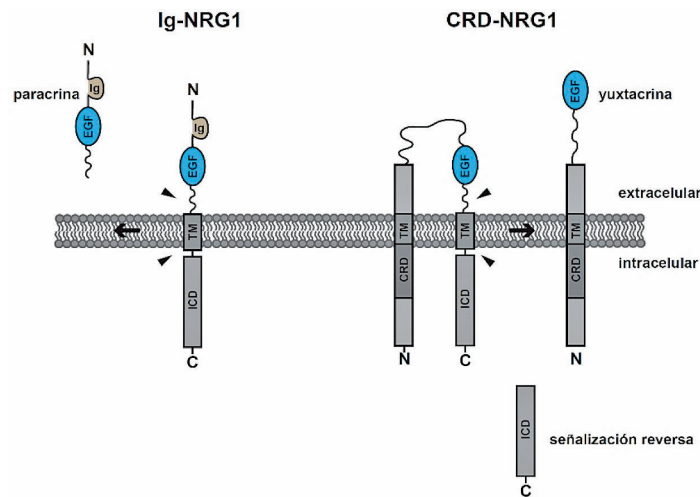


Figura 1. NRG1: corte y empalme alternativo, estructura de proteínas y procesamiento proteolítico. Estructura de Ig-NGR1 y CRD-NGR1. Las isoformas de NRG1 se sintetizan como pre-proteínas transmembrana (pro-NGR1s). En CRD-NGR1, los dominios N y C-terminal están localizados en el citoplasma. La escisión proteolítica genera Ig-NGR1 solubles maduros que actúan mediante señalización paracrina; en el caso de CRD-NGR1, el dominio de tipo EGF permanece unido a la membrana después del procesamiento, funciona principalmente por señalización yuxtacrina. También puede producirse señalización reversa a través del ICD (dominio intracelular). Las flechas indican sitios de procesamiento proteolítico.

Por otro lado, NRG1 también podría actuar como un “receptor” de ErbB, posterior al procesamiento proteolítico por la γ -secretasa del dominio intracelular (ICD). Después del procesamiento y su traslocación al núcleo, el ICD podría actuar como un factor de transcripción que regula la expresión de genes involucrados en la sobrevivencia neuronal, así como en el mantenimiento y la maduración sináptica. Se ha sugerido que la señalización reversa, mediada por el ICD, regula el crecimiento y la ramificación de dendritas corticales [15], [16].

Esquizofrenia, una enfermedad multifactorial

La esquizofrenia (EZ) es una enfermedad mental severa que se presenta en alrededor del 1% de la población mundial. Este trastorno está caracterizado por la presencia de síntomas positivos (alucinaciones y delirios), síntomas negativos (alogia, abulia) y déficit cognitivo. La enfermedad se manifiesta usualmente en los últimos años de la adolescencia o adultos jóvenes. Esta condición es sumamente incapacitante para los pacientes y resulta en altos costos financieros para las familias y los sistemas de salud. Se ha estimado que en Costa Rica los trastornos neuropsiquiátricos contribuyen al 26.3% de la carga por enfermedad del país [17], [18].

Algunas anomalías morfológicas son frecuentemente encontradas en pacientes con EZ. Entre ellas reducción en el volumen cerebral y agrandamiento de ventrículos [19], [20]. Además, se han encontrado alteraciones sinápticas, así como en la organización de axones y dendritas, por lo que esta enfermedad es considerada un trastorno sináptico. Además, en cerebros postmortem de pacientes con EZ se han observado cambios funcionales en circuitos tanto excitatorios como inhibitorios [21]–[23]. Aparentemente, el desbalance entre la actividad excitatoria e inhibitoria juega un papel importante en la fisiopatología de la EZ [24]. Asimismo, se ha reportado actividad aberrante en circuitos corticales y subcorticales, lo cual sugiere que existe una desconectividad entre esas regiones del cerebro [25].

Esta enfermedad es considerada multifactorial, en donde múltiples genes con efecto menor en combinación con factores ambientales, desencadenan el trastorno. Entre los factores ambientales que se cree que son relevantes para la EZ están las complicaciones obstétricas pre- y peri-natales como bajo peso al nacer, incompatibilidad Rh, hipoxia, deficiencias nutricionales de la madre en el primer trimestre del embarazo, exposición al virus de la influenza en el segundo trimestre, estrés en la madre. Adicionalmente, la residencia en zonas urbanas y el abuso de sustancias como anfetaminas, cocaína, alucinógenos y marihuana, son considerados factores de riesgo para la EZ [26], [27].

La contribución genética a la etiología de la EZ se ha puesto en evidencia mediante estudios con gemelos y se ha estimado una heredabilidad de alrededor del 85% [28]. Por otro lado, los resultados de estudios de ligamiento y asociación para EZ no han sido siempre consistentes. Esto parece deberse a la participación combinada de distintos factores ambientales, con loci de susceptibilidad con un riesgo asociado desconocido, heterogeneidad genética y gran cantidad y complejidad de síntomas que presentan los pacientes con EZ, así como el traslape de síntomas que existe entre la EZ y otras enfermedades neuropsiquiátricas [29], [30].

Estudios genómicos y meta-análisis han reportado resultados significativos para el cromosoma 8p. En esta región está localizado el gen que codifica para la NRG1 (*Nrg1*), el cual es uno de los genes candidatos para la EZ con mayor reproducibilidad. Distintas variantes de este gen han sido asociadas a la EZ en distintas poblaciones (aunque no todas). Entre ellas se incluye a la población del Valle Central de Costa Rica. Asimismo, estudios genómicos de asociación (GWAS) también han reportado resultados positivos para *Nrg1* y su receptor *ErbB4* con la EZ [31]–[35]. Por estas razones, ambos genes se encuentran en la lista de los genes candidatos del Schizophrenia Gene Resource (SZGR) en la Universidad de Vanderbilt (<http://bioinfo.mc.vanderbilt.edu/SZGR>). Sin embargo, al igual que para la mayoría de los factores de riesgo genético, no está claro cómo variantes de los genes de NRG1 o ERBB4 pueden conferir una mayor susceptibilidad para desarrollar la enfermedad.

Debido a que la mayoría de las variantes están localizadas en regiones no codificantes del gen [36]–[39], se sugiere que cambios en los niveles de expresión de NRG1 causan funciones anormales. En apoyo a este concepto, se ha observado aumento y disminución en la expresión de NRG1. Asimismo, se ha reportado una fosforilación de ErbB4 incrementada, en muestras de cerebros *post mortem* de pacientes con EZ [40]–[43]. Estos hallazgos indican efectos de “ganancia de función” tras la hiperestimulación de la señalización de NRG1/ErbB4, los cuales podrían desencadenar alteraciones, corriente abajo en otros eventos de señalización. En última instancia, esto podría conducir a alteraciones a nivel de las redes corticales. Lo descrito anteriormente, indica que los genes *Nrg1* y *ErbB4* son candidatos interesantes y los mecanismos patológicos asociados a la señalización NRG1/ErbB4 son un blanco de estudio importante, en el contexto de enfermedades neuropsiquiátricas como la EZ.

Señalización de NRG1/ErbB4 en el cerebro

Las moléculas de señalización y los receptores que se encuentran en la superficie celular sirven como importantes reguladores para la formación de la red neural durante el desarrollo y de la plasticidad de red en el cerebro maduro. La evidencia sugiere que alteraciones funcionales en tales módulos de señalización podrían provocar disfunciones en las redes neuronales, que podrían conducir al desarrollo de trastornos neuropsiquiátricos, como la esquizofrenia.

Específicamente, NRG1 y su principal receptor en el cerebro, ErbB4, están involucrados en procesos del neurodesarrollo que afectan el establecimiento y la función adecuada de los circuitos neuronales, como la migración neuronal. Adicionalmente, la señalización de NRG1/

ErbB4 regula el desarrollo de axones y dendritas de neuronas GABAérgicas y promueve la formación y maduración de sinapsis GABAérgicas sobre neuronas piramidales. NRG1/ErbB4 también puede ser necesaria para la maduración de las sinapsis GABAérgicas en las interneuronas del hipocampo. Varios estudios sugieren que la eliminación de ErbB4 de las interneuronas que expresan Parvalbumina (Parv⁺) también tiene un efecto indirecto en las sinapsis excitatorias. Por lo tanto, las funciones de ErbB4 en la población de interneuronas donde mayoritariamente se expresa, pueden afectar indirectamente a las funciones de la red excitadora [7], [44]–[51].

Estudios *in vitro* sugieren que la señalización NRG1/ErbB4 también participa en la modulación de las funciones sinápticas y la neurotransmisión en redes maduras [52]–[55]. Adicionalmente, análisis *in vitro* e *in vivo* han sugerido que NRG1/ErbB4 también está involucrada en la plasticidad sináptica [53], [56]–[60]. Estos estudios sugieren que este módulo de señalización está involucrado en el equilibrio de la relación excitatoria/inhibitoria (E/I) en los circuitos corticales. Además, las isoformas NRG1 participan de manera diferente en la modulación de los circuitos corticales. Por esta razón, son necesarios nuevos estudios *in vivo* para analizar las funciones de isoformas específicas.

Algunos procesos en los que NRG1/ErbB4 está involucrada, se han observado afectados en EZ, incluyendo número reducido de interneuronas inhibitorias [61]–[63], expresión reducida de GAD67 en interneuronas Parv⁺ de la corteza prefrontal dorsolateral y funciones inhibitorias perturbadas [64]–[69], alteraciones en las espinas dendríticas [70] y déficits en la sincronización cortical, como alteraciones en gama-oscilaciones [71]–[73].

Asimismo, investigaciones en ratones mutantes también han revelado similitudes con los pacientes con EZ. Los ratones mutantes convencionales (ErbB4^{-/-}) y mutantes de ErbB4 específicos para interneuronas (ErbB4^{-/-}*Parv-Cre) manifestaron hiperactividad inducida por la novedad y déficits en la inhibición prepulso (PPI), en línea con los hallazgos en pacientes con EZ. Además, mutantes condicionales posnatales de NRG1 exhibieron hipoactividad y deterioro del aprendizaje condicionado por el miedo. Mientras que el aumento de la expresión de NRG1 fue asociado con un deterioro del PPI [56], [74], [75]. Por otro lado, la sobreexpresión pan-neuronal de CRD-NRG1 en ratones conduce al agrandamiento ventricular, el endofenotipo más replicado en pacientes con EZ que también se asoció con variantes del gen *Nrg1* [56], [76]. En conjunto, estos hallazgos sugieren que la alteración de la actividad de señalización de NRG1/ErbB4 puede ser relevante para la etiopatología de la EZ.

Herramientas biotecnológicas para estudios de la señalización de NRG1/ErbB4

El modelaje de la pérdida o la ganancia de funciones del módulo de señalización de NRG1/ErbB4 en cultivos neuronales y en modelos de ratones transgénicos se han convertido en herramientas valiosas para estudiar sus funciones *in vitro* e *in vivo*, respectivamente. Estos enfoques han brindado información importante sobre la participación de NRG1/ErbB4 en la formación y mantenimiento de circuitos corticales bajo condiciones normales y de enfermedad.

La mayoría de los estudios que analizan las funciones de señalización de NRG1 en el cerebro han empleado una versión recombinante del dominio soluble de tipo EGF de NRG1 (NRG1 β), pero no está claro hasta que medida éste enfoque recapitula las funciones de señalización de las formas completas de isoformas de NRG1, en su contexto natural. Por lo tanto, los modelos de ratón, que poseen similitudes genéticas y fisiológicas con los humanos, son herramientas necesarias para estudios de mecanismos biológicos y fisiopatológicos, así como para la búsqueda de nuevas estrategias de tratamiento. En el área de las neurociencias, los modelos genéticos de ratones son herramientas invaluable para investigar el impacto de alteraciones moleculares específicas

en los procesos cerebrales *in vivo*. En este contexto, en el Departamento de Neurogenética del Max Planck para Medicina Experimental (MPI-em) en Göttingen, Alemania, se han generado varios modelos de ratones transgénicos en los que isoformas de NRG1 (Ig y CRD) están sobreexpresadas neuronalmente (bajo el control del promotor Thy 1.2; [77], [78]). Actualmente, en el CIB del Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC), se desarrollan proyectos de investigación en colaboración con el MPI-em. Una característica única de estos proyectos es la disponibilidad de estas líneas de ratones transgénicos establecidas y bien caracterizadas, que permiten examinar las (dis)funciones de la red cortical en respuesta a la señalización hiperestimulada de NRG1/ErbB4. Es importante destacar que, ya se ha demostrado que el aumento de expresión NRG1 en estos ratones transgénicos está asociado con la hiperfosforilación crónica de ErbB4, como se ha observado en pacientes con EZ [41], [56].

Asimismo, y en el marco de esta colaboración, contamos con la disponibilidad de otras líneas de ratones transgénicos que permiten la sobreexpresión condicional de NRG1 de manera específica en diferentes tipos celulares y etapas del desarrollo. Adicionalmente, contamos con una novedosa línea de ratones, que generamos recientemente y que es única en el mundo, para la sobreexpresión condicional de NRG2. Esta proteína de la familia de las NRGs, es un factor de crecimiento altamente relacionado, cuya expresión en cerebro es mucho mayor en etapas postnatales y durante la adultez comparada con la de NRG1 [79], que también se une y activa a ErbB4 [80]. Además, estudios genéticos han sugerido que NRG2 es un candidato atractivo para regular distintos procesos de señalización mediados por el receptor ErbB4 en el cerebro, con relevancia para los trastornos neuropsiquiátricos [35], [81], [82]. Mediante el modelaje *in vivo* de mecanismos patológicos de señalización que involucran a proteínas asociadas a la EZ, estos estudios pretenden generar una mejor comprensión de la etiopatología de los trastornos neuropsiquiátricos y proporcionar nuevos blancos para el desarrollo de estrategias de tratamiento más potentes y selectivas.

Perspectivas

Con estos estudios se comienza a desarrollar en el CIB una nueva línea de investigaciones dentro del área biomédica, específicamente las neurociencias. Se espera que estos, complementen los estudios sobre genética de enfermedades neuropsiquiátricas, que empezaron a desarrollarse en Costa Rica desde la década de los 90s [27]. Estas investigaciones pretenden aportar significativamente al entendimiento de las funciones biológicas y patológicas de proteínas cuyos genes son candidatos para enfermedades como la EZ.

Asimismo, se pretende que estos estudios propicien la introducción y desarrollo en el país de la tecnología para la generación y utilización de organismos transgénicos, para modelar *in vivo* distintos procesos patológicos en humanos. Esto es indispensable tanto para la comprensión de los mecanismos biológicos y fisiopatológicos asociados, como para la búsqueda de tratamientos adecuados. Esta tecnología proporciona herramientas necesarias para investigaciones científicas, incluyendo el área biomédica.

Además, aprovechando el intercambio científico y tecnológico con el MPI-em, se espera colaborar con el desarrollo de las neurociencias en Costa Rica. Para cumplir este objetivo y por las características del país con respecto a Institutos de investigación que se dediquen a este tema, disponibilidad de financiamiento, laboratorios y capital humano capacitado en el área, es necesaria además, la colaboración interinstitucional. Lo anterior se desea fomentar mediante los proyectos de investigación vigentes y en futuras propuestas de investigación. Por último, pero no menos importante, se tiene como objetivo la formación de profesionales en esta área, lo cual es el principal propósito de las Universidades y que aporta enormemente al desarrollo científico y tecnológico del país.

Referencias

- [1] L. Mei and W. C. Xiong, "Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia Lin," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 9, pp. 437–452, 2008.
- [2] V. Steinhorsdottir *et al.*, "Multiple novel transcription initiation sites for NRG1," *Gene*, vol. 342, no. 1, pp. 97–105, 2004.
- [3] D. L. Falls, "Neuregulins: Functions, forms, and signaling strategies," in *The EGF Receptor Family: Biologic Mechanisms and Role in Cancer*, 2003, pp. 15–31.
- [4] A. J. Law, C. Shannon Weickert, T. M. Hyde, J. E. Kleinman, and P. J. Harrison, "Neuregulin-1 (NRG-1) mRNA and protein in the adult human brain," *Neuroscience*, vol. 127, no. 1, pp. 125–136, 2004.
- [5] X. Liu *et al.*, "Specific regulation of NRG1 isoform expression by neuronal activity.," *J. Neurosci.*, vol. 31, no. 23, pp. 8491–8501, 2011.
- [6] E. S. Anton, M. A. Marchionni, K. F. Lee, and P. Rakic, "Role of GGF/neuregulin signaling in interactions between migrating neurons and radial glia in the developing cerebral cortex," *Development*, vol. 124, pp. 3501–3510, 1997.
- [7] N. Flames *et al.*, "Short- and long-range attraction of cortical GABAergic interneurons by neuregulin-1," *Neuron*, vol. 44, no. 2, pp. 251–561, 2004.
- [8] C. Rio, H. I. Rieff, P. Qi, T. S. Khurana, and G. Corfas, "Neuregulin and erbB receptors play a critical role in neuronal migration.," *Neuron*, vol. 19, pp. 39–50, 1997.
- [9] T. L. Burgess, S. L. Ross, Y. Qian, D. Brankow, and S. Hu, "Biosynthetic processing of neu differentiation factor," *J. Biol. Chem.*, vol. 270, pp. 19188–19196, 1995.
- [10] J. A. Loeb, E. T. Susanto, and G. D. Fischbach, "The neuregulin precursor proARIA is processed to ARIA expression of the cell surface by a protein kinase C-enhanced mechanism," *Mol. Cell. Neurosci.*, vol. 91, pp. 77–91, 1998.
- [11] J. C. Montero *et al.*, "The extracellular linker of pro-Neuregulin-a2c is required for efficient sorting and juxtacrine function," *Mol. Biol. Cell*, vol. 18, no. December, pp. 380–393, 2007.
- [12] X. Hu *et al.*, "Bace1 modulates myelination in the central and peripheral nervous system.," *Nat. Neurosci.*, vol. 9, no. 12, pp. 1520–1525, 2006.
- [13] M. Willem *et al.*, "Control of peripheral nerve myelination by the β -secretase BACE1.," *Science*, vol. 314, no. 5799, pp. 664–666, 2006.
- [14] T. Yokozeki, S. Wakatsuki, K. Hatsuzawa, R. A. Black, I. Wada, and A. Sehara-Fujisawa, "Meltrin β (ADAM19) mediates ectodomain shedding of Neuregulin β 1 in the Golgi apparatus: Fluorescence correlation spectroscopic observation of the dynamics of ectodomain shedding in living cells," *Genes to Cells*, vol. 12, no. 3, pp. 329–343, 2007.
- [15] Y. Chen, M. L. Hancock, L. W. Role, and D. A. Talmage, "Intramembranous valine linked to schizophrenia is required for neuregulin 1 regulation of the morphological development of cortical neurons.," *J. Neurosci.*, vol. 30, no. 27, pp. 9199–9208, 2010.
- [16] J. Bao, D. Wolpowitz, L. W. Role, and D. A. Talmage, "Back signaling by the Nrg-1 intracellular domain," *J. Cell Biol.*, vol. 161, no. 6, pp. 1133–1141, 2003.
- [17] T. R. Insel, "Rethinking schizophrenia.," *Nature*, vol. 468, no. 7321, pp. 187–193, 2010.
- [18] J. Contreras, H. Raventós, G. Rodríguez, and M. Leandro, "Call for a change in research funding priorities: the example of mental health in Costa Rica.," *Rev. Panam. Salud Publica*, vol. 36, no. 4, pp. 266–9, Oct. 2014.
- [19] A. Vita, L. De Peri, C. Silenzi, and M. Dieci, "Brain morphology in first-episode schizophrenia: A meta-analysis of quantitative magnetic resonance imaging studies," *Schizophr. Res.*, vol. 82, no. 1, pp. 75–88, 2006.
- [20] I. C. Wright *et al.*, "Meta-Analysis of regional brain volumes in schizophrenia," *Am. J. Psychiatry*, vol. 157, no. 1, pp. 16–25, Jan. 2000.
- [21] B. Chattopadhyaya and G. Di Cristo, "GABAergic circuit dysfunctions in neurodevelopmental disorders," *Front. Psychiatry*, vol. 3, no. MAY, p. 51, 2012.
- [22] A. Hayashi-Takagi, "Synapse pathology and translational applications for schizophrenia," *Neurosci. Res.*, vol. 114, pp. 3–8, 2017.
- [23] C. E. Moyer, M. A. Shelton, and R. A. Sweet, "Dendritic spine alterations in schizophrenia," *Neurosci. Lett.*, vol. 601, pp. 46–53, 2015.

- [24] R. Gao and P. Penzes, "Common mechanisms of excitatory and inhibitory imbalance in schizophrenia and autism spectrum disorders," *Curr. Mol. Med.*, vol. 15, no. 2, pp. 146–67, 2015.
- [25] P. J. Harrison, "The neuropathology of schizophrenia: A critical review of the data and their interpretation," *Brain*, vol. 122, no. 4, pp. 593–624, 1999.
- [26] B. Stepniak *et al.*, "Accumulated environmental risk determining age at schizophrenia onset: A deep phenotyping-based study," *The Lancet Psychiatry*, vol. 1, no. 6, pp. 444–453, 2014.
- [27] A. Pacheco and H. Raventós, "Genética de la esquizofrenia: avances en el estudio de genes candidatos," *Revista de biología tropical internacional*, vol. 52, pp. 467–473, 2004.
- [28] A. G. Cardno and I. I. Gottesman, "Twin studies of schizophrenia: From bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics," *Am. J. Med. Genet. - Semin. Med. Genet.*, vol. 97, no. 1, pp. 12–17, 2000.
- [29] M. J. Owen, N. Craddock, and M. C. O'Donovan, "Schizophrenia: Genes at last?," *Trends Genet.*, vol. 21, pp. 518–525, 2005.
- [30] J. Lee *et al.*, "Deconstructing bipolar disorder and schizophrenia: A cross-diagnostic cluster analysis of cognitive phenotypes," *J. Affect. Disord.*, vol. 209, pp. 71–79, 2017.
- [31] Z. S. Agim *et al.*, "Discovery, validation and characterization of Erbb4 and Nrg1 haplotypes using data from three genome-wide association studies of schizophrenia," *PLoS One*, vol. 8, no. 1, p. e53042, 2013.
- [32] C. Walss-Bass *et al.*, "A novel missense mutation in the transmembrane domain of neuregulin 1 is associated with schizophrenia," *Biol. Psychiatry*, vol. 60, no. 6, pp. 548–553, 2006.
- [33] M. S. Mostaid *et al.*, "Meta-analysis reveals associations between genetic variation in the 5' and 3' regions of Neuregulin-1 and schizophrenia," *Nat. Publ. Gr.*, vol. 7, no. 1, pp. e1004-5, 2017.
- [34] P. F. Sullivan *et al.*, "Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1.," *Mol. Psychiatry*, vol. 13, no. 6, pp. 570–584, 2008.
- [35] C. M. Lewis *et al.*, "Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia.," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 73, no. 1, pp. 34–48, 2003.
- [36] L. Athanasiu *et al.*, "Gene variants associated with schizophrenia in a Norwegian genome-wide study are replicated in a large European cohort," *J. Psychiatr. Res.*, vol. 44, no. 12, pp. 748–753, 2010.
- [37] M. R. Munafò, D. L. Thiselton, T. G. Clark, and J. Flint, "Association of the NRG1 gene and schizophrenia: a meta-analysis.," *Mol. Psychiatry*, vol. 11, no. 6, pp. 539–546, 2006.
- [38] T. L. Petryshen *et al.*, "Support for involvement of neuregulin 1 in schizophrenia pathophysiology.," *Mol. Psychiatry*, vol. 10, no. 4, pp. 366–374, 2005.
- [39] H. Stefansson *et al.*, "Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia.," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 71, no. 4, pp. 877–892, 2002.
- [40] I. Bertram *et al.*, "Immunohistochemical evidence for impaired neuregulin-1 signaling in the prefrontal cortex in schizophrenia and in unipolar depression.," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1096, no. 1, pp. 147–156, 2007.
- [41] C.-G. Hahn *et al.*, "Altered neuregulin 1-erbB4 signaling contributes to NMDA receptor hypofunction in schizophrenia.," *Nat. Med.*, vol. 12, no. 7, pp. 824–828, 2006.
- [42] A. J. Law *et al.*, "Neuregulin 1 transcripts are differentially expressed in schizophrenia and regulated by 5' SNPs associated with the disease.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 103, no. 17, pp. 6747–6752, 2006.
- [43] C. S. Weickert, Y. Tiwari, P. R. Schofield, B. J. Mowry, and J. M. Fullerton, "Schizophrenia-associated HapICE haplotype is associated with increased NRG1 type III expression and high nucleotide diversity," *Transl Psychiatry*, vol. 2, no. 4, p. e104, 2012.
- [44] K.-X. Li *et al.*, "Neuregulin 1 regulates excitability of fast-spiking neurons through Kv1.1 and acts in epilepsy.," *Nat. Neurosci.*, vol. 15, no. 2, pp. 267–273, 2012.
- [45] J. Neddens, D. Vullhorst, D. Paredes, and A. Buonanno, "Neuregulin links dopaminergic and glutamatergic neurotransmission to control hippocampal synaptic plasticity," *Commun. Integr. Biol.*, vol. 2, no. 3, pp. 261–264, 2009.
- [46] I. del Pino *et al.*, "Erbb4 Deletion from Fast-Spiking Interneurons Causes Schizophrenia-like Phenotypes," *Neuron*, vol. 79, no. 6, pp. 1152–1168, 2013.
- [47] P. Fazzari *et al.*, "Control of cortical GABA circuitry development by Nrg1 and ErbB4 signalling.," *Nature*, vol. 464, no. 7293, pp. 1376–1380, 2010.
- [48] D. Krivosheya *et al.*, "ErbB4-neuregulin signaling modulates synapse development and dendritic arborization through distinct mechanisms," *J. Biol. Chem.*, vol. 283, no. 47, pp. 32944–32956, 2008.

- [49] C. S. Barros *et al.*, "Impaired maturation of dendritic spines without disorganization of cortical cell layers in mice lacking NRG1/ErbB signaling in the central nervous system.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 106, no. 11, pp. 4507–4512, 2009.
- [50] B. Li, R. S. Woo, L. Mei, and R. Malinow, "The neuregulin-1 receptor ErbB4 controls glutamatergic synapse maturation and plasticity," *Neuron*, vol. 54, no. 4, pp. 583–597, 2007.
- [51] D.-M. Yin *et al.*, "Regulation of spine formation by ErbB4 in PV-positive interneurons.," *J. Neurosci.*, vol. 33, no. 49, pp. 19295–19303, 2013.
- [52] Z. Gu, Q. Jiang, A. Fu, N. Ip, and Z. Yan, "Regulation of NMDA receptors by neuregulin signaling in prefrontal cortex," *J. Neurosci.*, vol. 25, no. 20, pp. 4974–4984, 2005.
- [53] O.-B. Kwon, M. Longart, D. Vullhorst, D. A. Hoffman, and A. Buonanno, "Neuregulin-1 reverses long-term potentiation at CA1 hippocampal synapses.," *J. Neurosci.*, vol. 25, no. 41, pp. 9378–9383, 2005.
- [54] A. K. Ting *et al.*, "Neuregulin 1 promotes excitatory synapse development and function in GABAergic interneurons.," *J. Neurosci.*, vol. 31, no. 1, pp. 15–25, 2011.
- [55] R. S. Woo *et al.*, "Neuregulin-1 enhances depolarization-induced GABA release," *Neuron*, vol. 54, no. 4, pp. 599–610, 2007.
- [56] A. Agarwal *et al.*, "Dysregulated expression of neuregulin-1 by cortical pyramidal neurons disrupts synaptic plasticity," *Cell Rep.*, vol. 8, no. 4, pp. 1130–1145, 2014.
- [57] Y.-J. Chen *et al.*, "ErbB4 in parvalbumin-positive interneurons is critical for neuregulin 1 regulation of long-term potentiation.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 107, no. 50, pp. 21818–21823, 2010.
- [58] Y. Z. Huang *et al.*, "Regulation of neuregulin signaling by PSD-95 interacting with ErbB4 at CNS synapses.," *Neuron*, vol. 26, no. 2, pp. 443–455, 2000.
- [59] G. M. Pitcher, S. Beggs, R.-S. Woo, L. Mei, and M. W. Salter, "ErbB4 is a suppressor of long-term potentiation in the adult hippocampus.," *Neuroreport*, vol. 19, no. 2, pp. 139–143, 2008.
- [60] A. Shamir *et al.*, "The importance of the NRG-1/ErbB4 pathway for synaptic plasticity and behaviors associated with psychiatric disorders," *J. Neurosci.*, vol. 32, no. 9, pp. 2988–2997, 2012.
- [61] S. A. Chance, M. Walker, and T. J. Crow, "Reduced density of calbindin-immunoreactive interneurons in the planum temporale in schizophrenia," *Brain Res.*, vol. 1046, no. 1–2, pp. 32–37, 2005.
- [62] D. J. Holt *et al.*, "Reduced density of cholinergic interneurons in the ventral striatum in schizophrenia: an in situ hybridization study," *Biol. Psychiatry*, vol. 58, no. 5, pp. 408–416, 2005.
- [63] P. Levitt, "Disruption of interneuron development," *Epilepsia*, vol. 46, no. SUPPL. 7, pp. 22–28, 2005.
- [64] S. Akbarian *et al.*, "Gene expression for glutamic acid decarboxylase is reduced without loss of neurons in prefrontal cortex of schizophrenics," *Arch Gen Psychiatry*, vol. 52, no. 4, pp. 258–266, Apr. 1995.
- [65] F. Farzan *et al.*, "Evidence for gamma inhibition deficits in the dorsolateral prefrontal cortex of patients with schizophrenia," *Brain*, vol. 133, no. 5, pp. 1505–1514, 2010.
- [66] T. Hashimoto *et al.*, "Gene expression deficits in a subclass of GABA neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia.," *J. Neurosci.*, vol. 23, no. 15, pp. 6315–6326, 2003.
- [67] D. a Lewis, T. Hashimoto, and D. W. Volk, "Cortical inhibitory neurons and schizophrenia.," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 6, no. 4, pp. 312–324, 2005.
- [68] D. Ongür, A. P. Prescott, J. McCarthy, B. M. Cohen, and P. F. Renshaw, "Elevated gamma-aminobutyric acid levels in chronic schizophrenia.," *Biol. Psychiatry*, vol. 68, no. 7, pp. 667–670, 2010.
- [69] J. H. Yoon *et al.*, "GABA concentration is reduced in visual cortex in schizophrenia and correlates with orientation-specific surround suppression.," *J. Neurosci.*, vol. 30, no. 10, pp. 3777–3781, 2010.
- [70] P. Penzes, M. E. Cahill, K. A. Jones, J.-E. VanLeeuwen, and K. M. Woolfrey, "Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders.," *Nat. Neurosci.*, vol. 14, no. 3, pp. 285–293, 2011.
- [71] J. S. Kwon *et al.*, "Gamma frequency-range abnormalities to auditory stimulation in schizophrenia," *Arch. Genet. Psychiatry*, vol. 56, no. 11, pp. 1001–1005, 1999.
- [72] P. J. Uhlhaas and W. Singer, "Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia.," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 11, no. 2, pp. 100–113, 2010.
- [73] J. K. Wynn, G. A. Light, B. Breitmeyer, K. H. Nuechterlein, and M. F. Green, "Event-related gamma activity in schizophrenia patients during a visual backward-masking task," *Am. J. Psychiatry*, vol. 162, pp. 2330–2336, 2005.

- [74] I. H. Deakin *et al.*, "Transgenic overexpression of the type I isoform of neuregulin 1 affects working memory and hippocampal oscillations but not long-term potentiation," *Cereb. Cortex*, vol. 22, no. 7, pp. 1520–1529, 2012.
- [75] D. M. Yin *et al.*, "Reversal of behavioral deficits and synaptic dysfunction in mice overexpressing neuregulin 1," *Neuron*, vol. 78, no. 4, pp. 644–657, 2013.
- [76] I. Mata *et al.*, "A neuregulin 1 variant is associated with increased lateral ventricle volume in patients with first-episode schizophrenia," *Biol. Psychiatry*, vol. 65, no. 6, pp. 535–540, 2009.
- [77] V. Velanac *et al.*, "Bace1 processing of NRG1 type III produces a myelin-inducing signal but is not essential for the stimulation of myelination," *Glia*, vol. 60, no. 2, pp. 203–217, 2012.
- [78] G. V. Michailov *et al.*, "Axonal Neuregulin-1 regulates myelin sheath thickness," *Science*, vol. 304, pp. 700–703, 2004.
- [79] M. Longart, Y. Liu, I. Karavanova, and A. Buonanno, "Neuregulin-2 is developmentally regulated and targeted to dendrites of central neurons," *J. Comp. Neurol.*, vol. 472, no. 2, pp. 156–172, 2004.
- [80] K. L. Carraway *et al.*, "Neuregulin-2, a new ligand of ErbB3/ErbB4-receptor tyrosine kinases.," *Nature*, vol. 387, pp. 512–516, 1997.
- [81] B. Konte *et al.*, "A genome-wide association study of early gamma-band response in a schizophrenia case-control sample," *World J. Biol. Psychiatry*, vol. 19, no. 8, pp. 602–609, Nov. 2018.
- [82] I. Benzel *et al.*, "Interactions among genes in the ErbB-neuregulin signalling network are associated with increased susceptibility to schizophrenia," *Behav. Brain Funct.*, vol. 3, no. 1, p. 31, 2007.