

Bioinformatic Analysis of the Hub Genes Involved in Amyotrophic Lateral Sclerosis Using Microarray Data Analysis

Gelareh Vahabzadeh, Fereshteh Golab*

Department of Pharmacology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article Info:

Received: 25 Mar 2025

Revised: 24 May 2025

Accepted: 2 Aug 2025

ABSTRACT

Introduction: Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a neurological disorder characterized by progressive motor neuron damage leading to muscle atrophy and various clinical manifestations. However, its underlying mechanisms are still unknown. The prognosis of the disease cannot be accurately determined because of the current lack of suitable biomarkers and targeted therapies. **Materials and Methods:** In this study, ALS-affected muscle tissue was analyzed using a bioinformatics approach based on the expression dataset GSE139384, which was obtained from the Gene Expression Omnibus (GEO) database. Differentially expressed genes (DEGs) were identified using the criteria of an adjusted p-value < 0.05 and an absolute log₂ fold change ($|\log_2FC|$) greater than 2. Then, enrichment analysis was performed, and a protein-protein interaction network was constructed. Hub genes were identified using the CytoHubba computational algorithm in Cytoscape software. **Results:** Using the GSE13938479, 184 DEGs were identified. Among these DEGs, all of them had increased expression. The most important identified pathways were related to vesicle-mediated transport at the synapse, synaptic vesicle exocytosis, and regulation of neurotransmitter release. Protein-protein interaction network analysis identified 20 hub genes. Several upregulated core genes, including SNAP25, MAPT, SYP, SYN1, DLG4, and HSP90AB1, were identified as being associated with ALS. **Conclusion:** Using bioinformatics analysis, we identified novel potential biomarkers and disease-related therapeutic targets for patients with ALS. This could enhance our understanding of the molecular processes of this neurodegenerative disease.

Keywords:

1. Molecular Biology
2. Computational Biology
3. Biomarkers
4. Gene Expression Profiling

*Corresponding Author: Fereshteh Golab

Email: Fgolab520@gmail.com

آنالیز بیوانفورماتیکی ژن‌های کلیدی دخیل در بیماری اسکروز جانبی آمیوتروفیک با استفاده از آنالیز داده‌های ریزآرایه

گلاره وهاب‌زاده، فرشته گلاب*

گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:

پذیرش: ۱۱ مرداد ۱۴۰۴

اصلاحیه: ۳ خرداد ۱۴۰۴

دریافت: ۵ فروردین ۱۴۰۴

چکیده

مقدمه: اسکروز جانبی آمیوتروفیک (ALS) یک اختلال عصبی است که با آسیب پیشرونده نورون‌های حرکتی منجر به آتروفی عضلانی و تظاهرات بالینی مختلف مشخص می‌شود. با این حال، مکانیسم‌های اساسی آن هنوز ناشناخته است. به دلیل فقدان فعلی نشانگرهای زیستی مناسب و درمان‌های هدفمند، پیش‌آگهی این بیماری را نمی‌توان به طور دقیق تعیین کرد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، بافت عضلانی مبتلا به ALS با استفاده از یک رویکرد بیوانفورماتیک بر اساس مجموعه داده‌های بیان GSE139384 که از پایگاه داده Gene Expression Omnibus (GEO) به دست آمده بود، تجزیه و تحلیل شد. ژن‌های با بیان افتراقی (DEGs) با استفاده از معیارهای مقدار P تنظیم‌شده کمتر از ۰/۰۵ و قدر مطلق $\log_2$ ($|\log_2FC|$) بزرگتر از ۲ شناسایی شدند. سپس، تجزیه و تحلیل غنی‌سازی انجام شد و یک شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین ساخته شد. ژن‌های Hub با استفاده از الگوریتم محاسباتی CytoHubba در نرم‌افزار Cytoscape شناسایی شدند. **یافته‌ها:** با استفاده از GSE13938479، ۱۸۴ DEG شناسایی شدند. در میان این DEGها، همه آن‌ها بیان افزایش یافته‌ای داشتند. مهم‌ترین مسیرهای شناسایی‌شده مربوط به انتقال با واسطه وزیکول در سیناپس، آگزوسیتوز وزیکول سیناپسی و تنظیم آزادسازی انتقال‌دهنده عصبی بودند. تجزیه و تحلیل شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین، ۲۰ ژن مرکزی را شناسایی کرد. چندین ژن اصلی با افزایش بیان، از جمله HSP90AB1، DLG4، SYN1، SYP، MAPT، SNAP25، به‌عنوان ژن‌های مرتبط با ALS شناسایی شدند. **نتیجه‌گیری:** با استفاده از تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک، نشانگرهای زیستی بالقوه جدید و اهداف درمانی مرتبط با بیماری را برای بیماران مبتلا به ALS شناسایی کردیم. این امر می‌تواند درک ما را از فرآیندهای مولکولی این بیماری عصبی-تخریبی افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی:

- ۱- زیست‌شناسی مولکولی
- ۲- زیست‌شناسی محاسباتی
- ۳- نشانگرهای زیستی
- ۴- پروفایل بیان ژن

*نویسنده مسئول: فرشته گلاب

پست الکترونیک: Fgolab520@gmail.com

مقدمه

اسکلروز جانبی آمیوتروفیک^۱ (ALS) یک اختلال نورودژنراتیو ویرانگر است که با تخریب پیش‌رونده نورون‌های حرکتی بالایی و پایینی مشخص می‌شود و منجر به آتروفی عضلانی و تظاهرات بالینی متنوع می‌گردد. این بیماری در اکثر جمعیت‌ها شیوع تخمینی ۴ تا ۸ مورد در هر ۱۰۰,۰۰۰ نفر را نشان می‌دهد (۱). علاوه بر تخریب نورون‌های حرکتی، بیماران مبتلا به ALS ممکن است دچار نقص‌های شناختی و رفتاری شوند که به پیچیدگی این بیماری می‌افزاید (۲). میانگین بقای پس از شروع علائم معمولاً بین ۳ تا ۵ سال است، هرچند عوامل پیش‌آگهی می‌توانند این بازه زمانی را تحت تأثیر قرار دهند (۳). این بیماری به دو شکل اسپورادیک^۲ (غیر ارثی) و خانوادگی (ارثی) طبقه‌بندی می‌شود. نوع اسپورادیک شایع‌ترین نوع ALS است که بدون هیچ سابقه خانوادگی رخ می‌دهد (۴). در حال حاضر، تنها دو داروی تأییدشده، ادراوون و ریلوزول، برای درمان ALS در دسترس هستند که این موضوع نیاز فوری به گزینه‌های درمانی بیشتر را برجسته می‌کند (۵). در حالی که علت دقیق ALS همچنان ناشناخته است، عوامل ژنتیکی مرتبط با متابولیسم RNA، هموستاز پروتئین، ترمیم آسیب DNA، انتقال هسته‌ای-سیتوپلاسمی، سمیت تحریکی، استرس اکسیداتیو و انتقال آکسونی در این بیماری دخیل دانسته شده‌اند (۶). همچنین مطالعاتی در مورد جهش در ژن‌هایی مانند SOD1 و C9ORF72 انجام شده است (۷). پیشرفت‌ها در توالی‌یابی کل ژنوم منجر به کشف ژن‌های جدید مرتبط با ALS شده است. با وجود این بینش‌ها، ALS همچنان یک بیماری چندعاملی باقی مانده است که این موضوع دشواری دستیابی به درمان‌های مؤثرتر را نشان می‌دهد. بیومارکرها می‌توانند نقش کلیدی در تحقیقات ALS ایفا کنند و امکان تشخیص زودهنگام، پیش‌بینی پیش‌آگهی، ارزیابی درمان و کشف درمانی را فراهم آورند. بیوانفورماتیک، رشته‌ای که پیشرفت قابل‌توجهی داشته است، در کاوش بیومارکرها برای بیماری‌های مختلف اهمیت پیدا کرده است. مطالعات قبلی انجام‌شده توسط لین، هوانگ، چن و یائو به تجزیه و تحلیل‌های بیوانفورماتیکی با استفاده از سری‌های بیان ژن^۳ (GSE) از داده‌های نورون‌های حرکتی نخاعی انسان پرداخته‌اند (۲). با این حال، نمونه‌های عضلانی انسان، که یکی از مکان‌های اصلی تحت تأثیر ALS است، تا حد زیادی مورد بررسی قرار نگرفته‌اند. جالب توجه است که شواهد رو به رشدی نشان‌دهنده تغییرات در محل اتصال عصبی-عضلانی است. این تغییرات می‌توانند نشان‌دهنده این باشند که تخریب‌های مشاهده‌شده در نورون‌های حرکتی ممکن است تحت تأثیر تغییرات بیماری‌زا در

عضلات قرار گیرند (۸). در این مطالعه، ما مجموعه داده GEO با شناسه GSE139384 را بررسی کردیم تا ژن‌های با بیان متفاوت DEGs را در نمونه‌های عضلانی مبتلا به ALS در مقایسه با گروه سالم را شناسایی کنیم (۹). در ادامه، تحلیل‌های غنی‌سازی GO و مسیرهای DEGs را بر اساس عملکردها و مسیرهایی که تحت تأثیر این DEGs قرار می‌گیرند را نشان دادیم. علاوه بر این، شبکه‌های تعامل پروتئین-پروتئین را ساختیم تا زیرشبکه‌ها و ژن‌های مرکزی را مشخص کنیم.

مواد و روش‌ها

مجموعه داده میکروآرایه

جستجوی گسترده‌ای در پایگاه داده GEO^۴، یک مخزن عمومی در دسترس جهانی که در سال ۲۰۲۰ برای بررسی مجموعه داده‌های مرتبط با بیان ژن تأسیس شده است انجام شد. در میان مجموعه داده‌های شناسایی‌شده، GSE139384 انتخاب گردید. این مجموعه داده، که بر پلتفرم Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip^۵ قرار دارد، شامل مجموعه جامعی از نمونه‌های بافت مغزی انسان پس از مرگ است که شش نمونه آن کنترل و هفت نمونه آن از بیماران مبتلا به ALS می‌باشد.

شناسایی و تحلیل ژن‌های با بیان متفاوت (DEGs)

داده‌های بیان ژن با استفاده از محیط RStudio و بسته‌های GEOquery نسخه ۲,۶۸,۰۷ و بسته limma نسخه ۳,۵۶,۲۷ تحلیل شدند. ابتدا تصحیح و طبیعی‌سازی داده‌ها با استفاده از روش normalizeQuantiles انجام شد. سپس، با استفاده از آزمون t تعدیل‌شده بسته limma، ژن‌های با بیان متفاوت DEGs بین نمونه‌های بیماران ALS و نمونه‌های کنترل شناسایی شدند. معیارهای تعیین DEGs شامل $|\log_2FC|$ و مقدار $\text{adjusted } P\text{-value} < 0.05$ بود. نتایج با استفاده از نمودار آتشفشانی (volcano plot) که با بسته‌های ggplot2 ایجاد شده بود، به‌صورت بصری نمایش داده شدند.

تحلیل عملکردی و غنی‌سازی مسیرهای DEGs

تحلیل غنی‌سازی عملکردی ژن‌های با بیان افزایش‌یافته و کاهش‌یافته با استفاده از بسته R Bioconductor نام clusterProfiler نسخه (۴,۸,۲) با آستانه‌های آماری پیش‌فرض و تنظیم OrgDb روی "org.Hs.eg.db" انجام شد. clusterProfiler یک بسته شناخته‌شده برای انجام تحلیل‌های جامع عملکردی و غنی‌سازی مسیرها است که برای تحلیل و تجسم غنی‌سازی در میان موجودات متعدد مورد نیاز است. این تحلیل به‌طور خاص بر اصطلاحات ژن آنتولوژی (GO)^۶ متمرکز بود و آن‌ها را به سه دسته تقسیم کرد: (۱) فرآیندهای زیستی (BPs)^۷، (۲) عملکردهای مولکولی (MFs)^۸ و (۳) اجزای سلولی (CCs)^۸. P-value < 0.05 به‌عنوان معنی‌دار آماری در نظر گرفته شد.

^۱ Amyotrophic Lateral Sclerosis

^۲ Sporadic

^۳ GEO DataSet

^۴ (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)

^۵ Gene Ontology

^۶ Biological processes

^۷ Molecular functions

^۸ Cellular components

یافته‌ها

شناسایی و تحلیل ژن‌های با بیان متفاوت (DEGs)

مجموعه داده GSE139384 در مجموع شامل ۷۱۵۴ ژن بود که از این میان، ۱۸۴ ژن با بیان متفاوت DEGs شناسایی که همه آنها افزایش بیان داشتند. این ژن‌ها در یک نمودار آتشفشانی^{۱۱} (نمودار ۱) نمایش داده شدند.

تحلیل عملکردی و غنی‌سازی مسیرهای DEGs

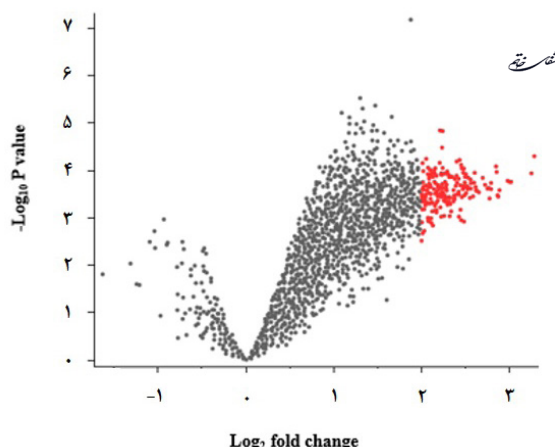
تحلیل نشان داد که DEGs با بیان افزایش‌یافته در فرآیندهای زیستی مانند انتقال با واسطه وزیکول در سیناپس، چرخه وزیکول سیناپسی، انتقال نوروترانسمیتر، تنظیم پلاستیسیته سیناپسی، ترشح نوروترانسمیتر عصبی و آزادسازی سیگنال از سیناپس در میان سایر موارد، نقش داشتند. محفظه سلولی که بیشترین غنی‌سازی را برای این DEGs داشتند، شامل کمپلکس ناقل غشایی، سیناپس نورون به نورون، سیناپس نامتقارن، تخصص پس سیناپسی، وزیکول اگزوسیتی و وزیکول سیناپسی بودند. عملکردهای مولکولی مرتبط با این DEGs شامل فعالیت ناقل غشایی فعال اولیه، اتصال به گیرنده گلوتامات، فعالیت ناقل غشایی یون جفت شده با ATPase، فعالیت ناقل غشایی کاتیون تک اتمی جفت شده با ATPase، اتصال به گیرنده گلوتامات یونوتروپیک و اتصال ناقل غشایی بودند (نمودار ۲).

ساخت شبکه تعامل پروتئین-پروتئین (PPI) و شناسایی زیرشبکه‌ها

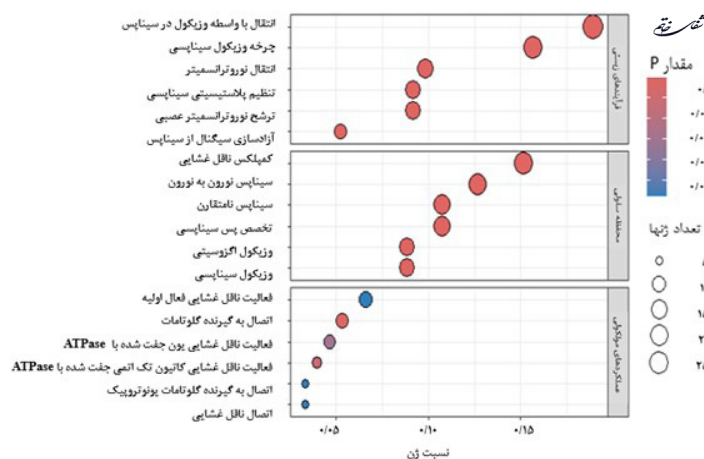
پایگاه داده آنلاین STRING (<https://string-db.org/>)، برای پیش‌بینی و تحلیل تعاملات پروتئین-پروتئین استفاده شد. این تعاملات با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape نسخه ۳.۹.۱ به صورت بصری نمایش داده شدند که امکان اصلاح و تجسم شبکه‌های زیستی را فراهم می‌کند. علاوه بر این، افزونه MCODE^{۱۰} در Cytoscape تحلیل خوشه‌های متراکم متصل در شبکه‌ها را بر اساس معیارهای خاص تسهیل کرد. در ادامه، زیرشبکه‌های با بالاترین امتیاز برای ژن‌های با تنظیم مثبت و منفی انتخاب شدند.

تحلیل ژن‌های مرکزی (Hub Genes) و شبکه‌های PPI

برای شناسایی ژن‌های مرکزی با تنظیم مثبت و منفی، از افزونه Cytoscape به نام cytoHubba استفاده شد. cytoHubba قادر به انجام تحلیل توپولوژیکی با استفاده از ۱۱ روش است که از میان آن‌ها روش‌های پرکاربرد شامل درجه حداکثر مرکزیت و بینابینی هستند. ده ژن مرکزی با بالاترین درجات در شبکه‌های PPI که به صورت مثبت و منفی تنظیم شده بودند، شناسایی شدند.



نمودار ۱- نمودار آتشفشانی ژن‌ها با بیان متفاوت، بیان بالا با نقاط قرمز و بیان پایین با نقاط آبی تنظیم شده است. نقاط خاکستری تغییر بیان معنی‌دار نداشته‌اند ($P\text{-Values} < 0.05$ و $|\log FC| > 2$)



نمودار ۲- عملکرد هستی‌شناسی ژن (GO) و تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مسیر DEGs هایی که افزایش بیان داشتند.

⁹ Protein-Protein Interaction

¹⁰ Molecular Complex Detection

¹¹ Volcano plot

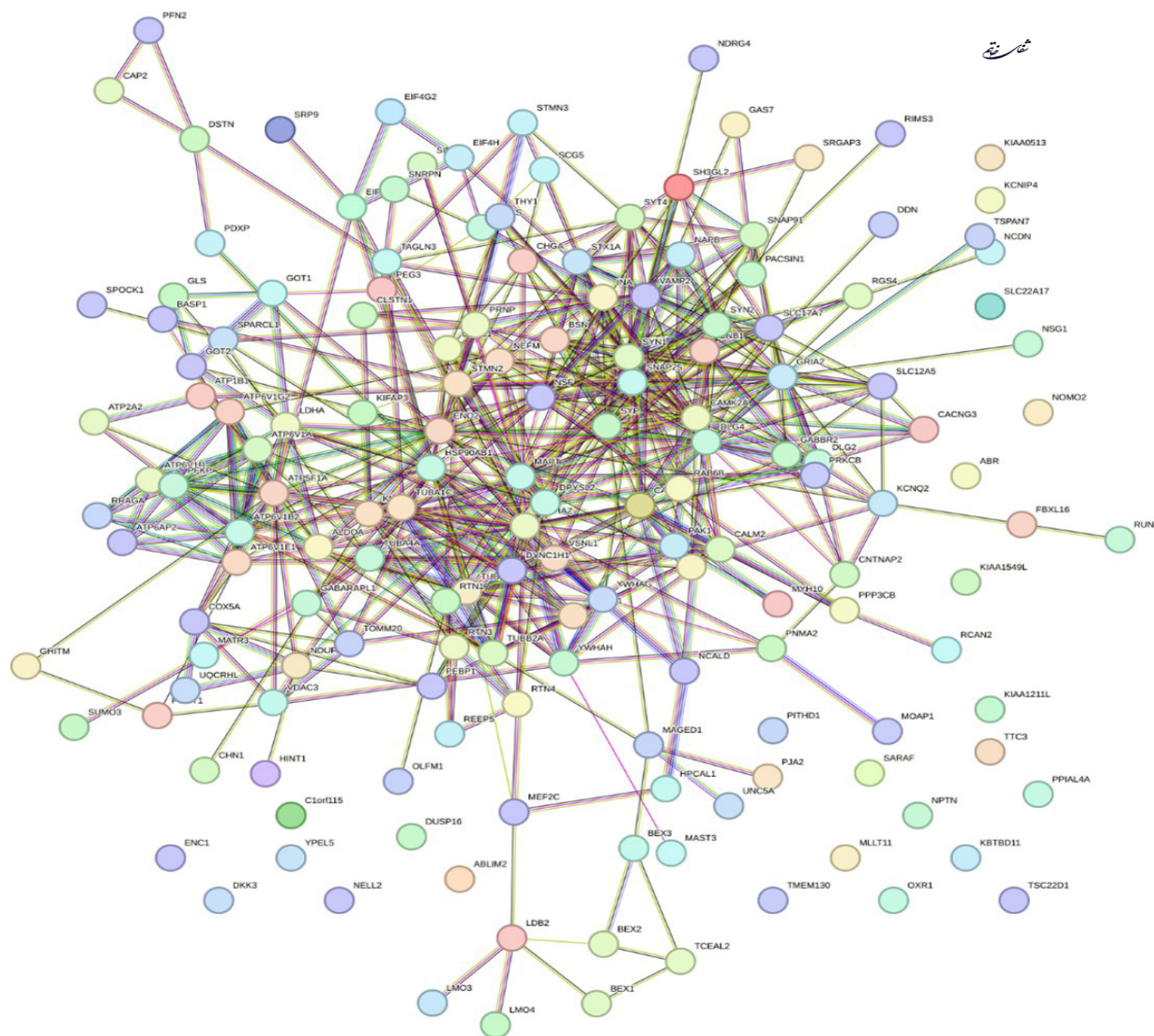
شناسایی ژن‌های هاب

آنالیز تعیین ژن‌های هاب بر روی کل ژن‌های شناسایی شده دارای بیان افتراقی انجام شد. فهرست برهمکنش‌های پروتئینی به دست آمده این ژن‌ها توسط نرم‌افزار ۱۰ver STRING وارد نرم‌افزار ۳.۵ver Cyto-scape شد و با استفاده از الگوریتم Cytohubba، ژن‌های هاب برای فهرست برهم کنشهای پروتئینی به دست آمد. مهم‌ترین ژن‌های مرکزی با افزایش بیان شامل HSP90AB1 و SNAP25, MAPT, SYP, SYN1, DLG4 بودند. نمودار ۴ برهمکنش‌های پروتئینی ژن‌های هاب

۶ عبارت برتر برای هر یک از دسته های بیولوژیکی تجزیه و تحلیل GO شامل فرآیندهای زیستی (BPs)، جزء سلولی (CC) و عملکرد مولکولی (MF) ارائه شده‌اند.

ساخت شبکه تعامل پروتئین- پروتئین (PPI) و شناسایی زیر شبکه‌ها

شبکه تعامل پروتئین-پروتئین برای ۱۸۴ ژن با بیان متفاوت (DEGs) با اطمینان متوسط با استفاده از STRING ساخته شد. یک شبکه PPI برای DEGs با ۱۶۰ گره و ۵۲۶ لبه ایجاد شده از STRING ایجاد شد و به افزونه Cytoscape 3.9 Cytohubba وارد شد (نمودار ۳).



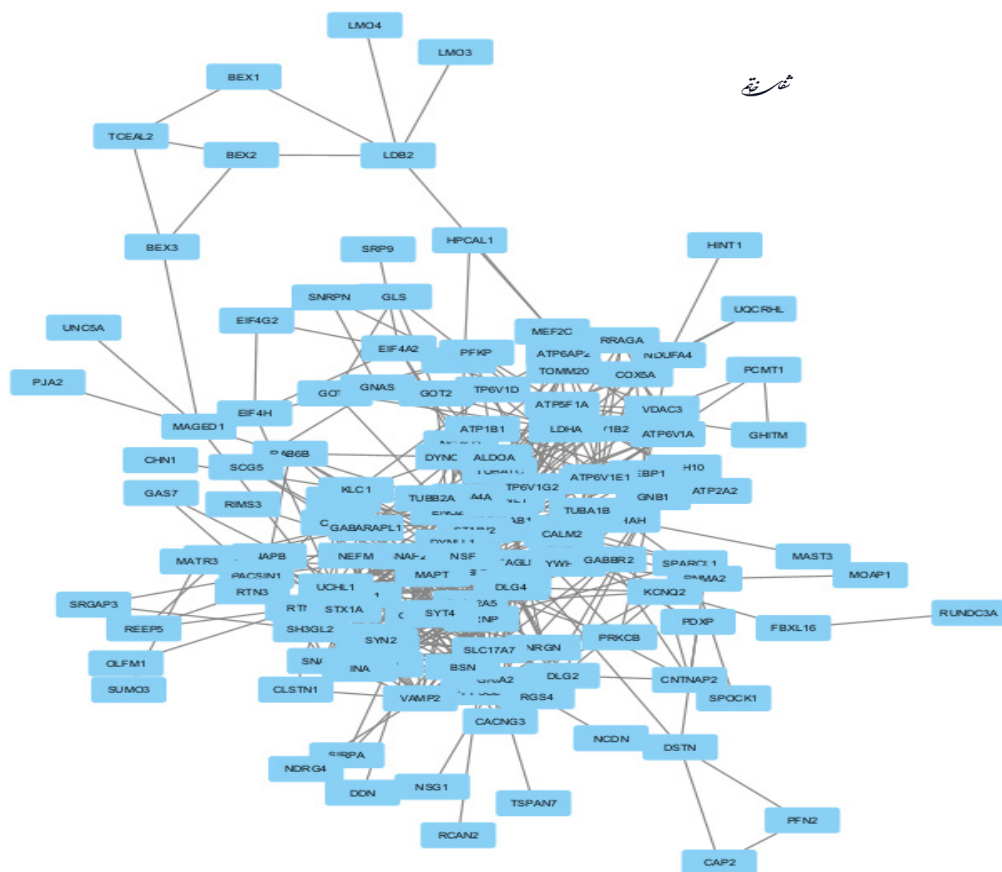
نمودار ۳- شبکه تعامل، پروتئین- پروتئین بیماری ALS، تجزیه و تحلیل شده توسط نرم افزار STRING.

درمان اسکروز جانبی آمیوتروفیک (ALS) منجر شوند.

بحث و نتیجه‌گیری

ALS، یک اختلال نورولوژیک ویرانگر، ابتدا در قرن نوزدهم شناخته شد؛ با این حال، علت اصلی و مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک این بیماری تا به امروز ناشناخته باقی

قابل را نشان می‌دهد که مشخصات آنها به تفکیک در جدول ۱ آمده است. با تلفیق اطلاعات به‌دست‌آمده از ۲۰ ژن مرکزی شناسایی‌شده از طریق تحلیل شبکه PPI برای DEGs با بیان افزایش‌یافته مشاهده شد که این ۲۰ ژن مرکزی ممکن است به‌عنوان نشانگرهای زیستی بالقوه عمل کنند و می‌توانند به شناسایی اهداف جدیدی برای



نمودار ۴- شبکه برهمکنش پروتئین- پروتئین برای ژن‌های هاب ترسیم شده با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape.

جدول ۱- ژن هاب شناسایی شده با نرم‌افزار Cytoscape

نام ژن	رتبه	مرکزیت نزدیکی	مرکزیت میانی	
SNAP25	۳۸	۰/۴۷۰۳۸۳۲۷۵	۰/۱۱۲۴۵۳۷۱۳	۱
MAPT	۳۶	۰/۴۹۰۹۰۹۰۹۱	۰/۱۳۸۵۲۳۶۷۸	۲
SYN	۲۸	۰/۴۴۸۵۰۴۹۸۳	۰/۰۷۲۱۵۸۹۸۲	۳
SYN1	۲۸	۰/۴۴۵۵۴۴۵۵۴	۰/۰۳۳۲۷۹۳۶۲	۴
DLG4	۲۶	۰/۴۴۵۵۴۴۵۵۴	۰/۰۴۸۳۶۸۴۲۱	۵
HSP90AB1	۲۴	۰/۴۵۱۵۰۵۰۱۷	۰/۰۸۷۵۶۷۸۶۱	۶
GRIA2	۲۳	۰/۴۱۹۲۵۴۶۵۸	۰/۰۴۹۲۰۴۹۶	۷
YWHAZ	۲۲	۰/۴۵۹۱۸۳۶۷۳	۰/۱۱۷۶۷۳۴۰۸	۸
ATP5F1A	۲۱	۰/۴۰۰۵۹۳۴۷۲	۰/۰۶۱۸۰۲۶۰۱	۹
ENO2	۲۱	۰/۴۴۷۰۱۹۸۶۸	۰/۰۶۴۹۵۴۲۲۷	۱۰

۱۱	۰/۰۵۴۳۷۸۴۸	۰/۴۳۶۸۹۳۲۰۴	۲۰	CALM1
۱۲	۰/۰۲۵۷۱۶۱۷۸	۰/۴۲۴۵۲۸۳۰۲	۱۹	CAMK2A
۱۳	۰/۰۲۴۹۶۵۷۲۵	۰/۴۰۲۹۸۵۰۷۵	۱۸	VAMP2
۱۴	۰/۰۴۴۱۷۲۹	۰/۴۲۰۵۶۰۷۴۸	۱۷	NSF
۱۵	۰/۰۰۵۴۶۵۲۹۵	۰/۳۹۹۴۰۸۲۸۴	۱۷	SLC17A7
۱۶	۰/۰۰۸۰۸۴۹۹۶	۰/۴۰۶۶۲۶۵۰۶	۱۷	SYN2
۱۷	۰/۰۵۲۴۰۵۶	۰/۴۲۳۱۹۷۴۹۲	۱۶	TUBA1B
۱۸	۰/۰۱۲۲۱۱۱۶۵	۰/۳۷۵	۱۵	SYT4
۱۹	۰/۰۲۲۴۳۰۵۱۷	۰/۴۰۲۹۸۵۰۷۵	۱۵	DPYSL2
۲۰	۰/۰۱۵۹۷۵۶۸۴	۰/۳۸۷۹۳۱۰۳۴	۱۴	STX1A

انتقال عصبی برای ادغام غشای پلاسما و آگزوسیتوز وزیکول سیناپسی و تنظیم کانال‌های یونی نقش مهمی دارد (۱۴). مطالعات اخیر به بررسی تغییرات در بیان این ژن و نقش آن در بیماری‌های عصبی پرداخته‌اند. افزایش بیان SNAP25 ممکن است به طور غیرمستقیم در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های نورودژنراتیو، از جمله ALS دخیل باشد (۱۵، ۱۳). SNAP25 یک پروتئین غشای پلاسمایی را کد می‌کند که همراه با سینتاکسین و پروتئین وزیکول سیناپسی بسیاری از فرآیندهای سیگنالینگ بین سلولی تشکیل می‌دهد (۱۶). SNAP25 مجموعه‌ای از کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ را نیز تنظیم می‌کند، در نتیجه، مانند یک پروتئین چند منظوره عمل می‌کند که در مراحل مشخصی در آزادسازی انتقال‌دهنده عصبی شرکت می‌کند (۱۷). SNAP25 بخشی از کمپلکس SNARE است که برای آزادسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی ضروری است (۱۸). افزایش بیان این ژن می‌تواند منجر به تغییرات در فعالیت سیناپسی شود، که در برخی بیماری‌های عصبی مانند صرع یا اوتیسم گزارش شده است (۱۹). Noor و همکاران گزارش کردند که افزایش بیان SNAP25 در مدل‌های حیوانی صرع باعث افزایش آزادسازی گلوتامات می‌شود، که می‌تواند به تحریک بیش از حد نورون‌ها^{۱۳} منجر شود. این مکانیزم در ALS نیز اهمیت دارد، زیرا تحریک بیش از حد گلوتامات یکی از فرضیه‌های اصلی در پاتوژنز ALS است (۱۳). برخی مطالعات نشان داده‌اند که در بیماری آلزایمر، تغییرات در بیان SNAP25 می‌تواند با اختلالات شناختی مرتبط باشد (۲۰). به عنوان مثال، Shu و همکاران نشان دادند

مانده است (۱۰). بنابراین، باید به مطالعه پیشرفت ALS و توسعه استراتژی‌های درمانی جدید اهمیت داده شود. یک پاتوفیزیولوژی پیچیده و چند عاملی است که در آن فرآیندهای مولکولی و سلولی متعددی به نظر می‌رسد باعث نورودژنراسیون ALS می‌شوند (۱۱). در حال حاضر، رویکردهای محاسباتی متعدد و فناوری‌های چندامیک با توان بالا برای شناسایی ژن‌ها و مسیرهای مرتبط با ALS استفاده شده‌اند (۱۲). به طور قابل توجه، مطالعه داده‌های چندامیک (ترانسکریپتومیکس، پروتئومیکس و متابولومیکس) که هدف آن بررسی نشانگرهای زیستی بالقوه جدید و اهداف درمانی است، در مطالعه بیماری ALS کلیدی شده است. هدف ما معرفی یک رویکرد جدید برای است تحلیل DEGs بود تا تحلیل‌های عملکردی و غنی‌سازی مسیرهای DEGs را انجام دهیم. ما همچنین مطالعات تعامل PPI اضافی را برای شناسایی زیرشبکه‌ها و ژن‌های مرکزی معرفی کردیم. این ژن‌های مرکزی می‌توانند برای پیش‌بینی miRNAهای مرتبط نیز استفاده شوند. در این مطالعه، مهمترین مسیرهای شناسایی شده مرتبط با انتقال با واسطه وزیکول در سیناپس، چرخه وزیکول سیناپسی، انتقال نوروترانسمیتر تنظیم پلاستیسیته سیناپسی، ترشح نوروترانسمیتر عصبی و آزادسازی سیگنال از سیناپس در میان سایر موارد نقش داشت. همچنین ژن‌های با افزایش بیان با بیشترین پتانسیل به عنوان نشانگر زیستی شناسایی شدند. ژن‌های مرکزی با افزایش بیان شامل SNAP25، MAPT، SYP، SYN1، DLG4 و HSP90AB1 بودند. SNAP25^{۱۲} در آزادسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی و عملکرد سیناپسی نقش کلیدی دارد (۱۳). این ژن در

¹² Synaptosomal-Associated Protein 25

¹³ Excitotoxicity

متابولیسم سموم مورد توجه قرار گرفته‌اند (۳۱). در ALS، استرس اکسیداتیو ناشی از نقص در ژن‌هایی مانند SOD1 شناخته‌شده است (۳۳). مطالعات نشان می‌دهند متابولیسم اکسیداتیو غیرطبیعی در نورون‌های حرکتی بیماران ALS دیده می‌شود (۳۴). قرار گرفتن در معرض سموم محیطی (مانند آفت‌کش‌ها، فلزات سنگین یا مواد شیمیایی صنعتی) به‌عنوان عامل خطر احتمالی برای ALS مطرح است. ژن‌های CYP در متابولیسم این سموم نقش دارند. پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی در این ژن‌ها می‌توانند توانایی بدن برای دفع سموم را تغییر دهند و خطر ابتلا به ALS را در برخی افراد افزایش دهند (۳۵). ریلوزول، داروی اصلی برای درمان ALS، توسط آنزیم‌های CYP1A1 و CYP1A2 متابولیزه می‌شود. Dash و همکاران نشان دادند که پلی‌مورفیسم‌های CYP1A2 می‌توانند بر متابولیسم ریلوزول تأثیر بگذارند و اثربخشی آن را در بیماران ALS تغییر دهند (۳۶). این موضوع اهمیت ژن‌های CYP را در درمان ALS برجسته می‌کند.

SYN1 عضوی از خانواده ژن سیناپسین است، سیناپسین‌ها فسفوپروتئین‌های عصبی را کد می‌کنند که با سطح سیتوپلاسمی وزیکول‌های سیناپسی مرتبط هستند. اعضای این خانواده با دامنه‌های پروتئینی مشترک مشخص می‌شوند و در سیناپتوز و تعدیل آزادسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی نقش دارند (۳۷). پروتئین کد شده به‌عنوان سوبسترای برای چندین پروتئین کیناز مختلف عمل می‌کند و فسفوریلاسیون ممکن است در تنظیم این پروتئین در ترمینال عصبی نقش داشته باشد (۳۸). جهش در این ژن ممکن است با اختلالات وابسته به X با دژنراسیون اولیه عصبی مانند سندرم موش صحرایی مرتبط باشد (۳۹، ۴۰). Bauer و همکاران نشان دادند بر همکنش بین سیناپسین و ژن C9ORF72 سیناپس‌های تحریکی را تنظیم می‌کند که در ALS مختل می‌شود (۴۱). Xiong و همکاران اختلالات عصبی-رشدی مرتبط با واریانت‌های خانوادگی SYN1 را در بیماران کودکان آسیایی گزارش کردند (۴۲).

DLG4 که با نام PSD-95 نیز شناخته می‌شود، ژنی است که در عملکرد سیناپسی نقش دارد و با ALS مرتبط است. سیناپتوپاتی مرتبط با DLG4، که توسط جهش‌هایی در ژن DLG4 ایجاد می‌شود، یک اختلال عصبی است که بر رشد تأثیر می‌گذارد و باعث ناتوانی‌های ذهنی، تأخیر در رشد، اختلالات حرکتی و تشنج می‌شود (۴۳). DLG4 یک پروتئین کلیدی در سیناپس‌ها است، جایی که به تنظیم انعطاف‌پذیری سیناپسی، توانایی سیناپس‌ها برای تغییر و سازگاری در طول زمان، کمک می‌کند. همچنین در سیگنالینگ سیناپسی، توسعه، بقا و عملکرد آن نقش دارد (۴۴). PSD-95 در سیناپس‌ها، محل‌های اتصال سلول‌های عصبی یافت می‌شود (۴۳). این پروتئین به تنظیم خوشه‌بندی گیرنده‌ها و کانال‌ها

که افزایش بیان SNAP25 در مناطق خاصی از مغز (مانند هیپوکامپ) ممکن است به‌عنوان یک پاسخ جبرانی به استرس نورونی رخ دهد (۲۱). در این زمینه، بیان غیرطبیعی SNAP25 بر انتقال عصبی و تعدیل عصبی در AD تأثیر می‌گذارد و ممکن است یک نشانگر زیستی مایع مغزی نخاعی برای تخریب سیناپس در مراحل بسیار اولیه باشد (۱۳). همچنین در اگزوسیتوز انتقال‌دهنده‌های عصبی از سیناپس‌ها نقش دارد، فرآیندی که در AD تغییر می‌کند. کاهش سطح پروتئین پیش‌سیناپسی SNAP25 در AD در قشر جلوی مغز ممکن است نشانگر اختلال عملکرد سیناپسی باشد (۲۲).

ژن MAPT^{۱۴} روی کروموزوم ۱۷ قرار دارد و پروتئین تاو را تولید می‌کند، که با بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر و دمانس مرتبط است (۲۳). تغییرات در بیان این ژن علت چندین بیماری نورودژنراتیو است (۲۴، ۲۵). تجمع غیرطبیعی پروتئین تاو در مغز که منجر به تشکیل گره‌های نوروفیبریلاری می‌شود، از ویژگی‌های بارز این بیماران است که به‌عنوان گروه اصلی تاووپاتی‌ها در بیماران ALS مانند ALS نقش مهمی دارد (۲۶). MAPT در تثبیت میکروتوبول‌ها در نورون‌ها نقش دارد. میکروتوبول‌ها برای حفظ ساختار سلولی و انتقال انتقال آکسونی ضروری هستند. بنابراین در نورون‌های حرکتی اختلال ایجاد می‌کند که در پاتوژنز ALS اهمیت دارد (۲۷). افزایش بیان MAPT ممکن است به‌عنوان پاسخی به استرس نورونی یا تخریب میکروتوبول‌ها در ALS رخ دهد. مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۹ منتشر شد که نشان داد در بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر، افزایش بیان MAPT در برخی مناطق مغز مانند هیپوکامپ ممکن است به‌عنوان مکانیزم جبرانی عمل کند. این مکانیزم ممکن است در ALS نیز نقش داشته باشد (۲۴). برخی مطالعات نشان داده‌اند که تجمع پروتئین تاو در ALS ممکن است با افزایش بیان یا فسفوریلاسیون غیرطبیعی MAPT مرتبط باشد. این موضوع در مدل‌های حیوانی ALS بررسی شده، اما شواهد انسانی محدود است (۲۸). Sghaier و همکاران همبستگی بین ژنوتیپ‌های APOE و MAPT و ویژگی‌های شناختی در بیماران ALS را نشان دادند (۲۹).

ژن‌های CYP سیتوکروم P450 مجموعه‌ای از ژن‌ها هستند که آنزیم‌های مسئول متابولیسم داروها، سموم محیطی، اسیدهای چرب و هورمون‌ها را کد می‌کنند (۳۰). این آنزیم‌ها عمدتاً در کبد و سایر بافت‌ها، از جمله مغز، بیان می‌شوند و در فرآیندهای سم‌زدایی و متابولیسم اکسیداتیو نقش دارند (۳۱). تنوع ژنتیکی (پلی‌مورفیسم) در ژن‌های CYP، مانند CYP2D6، CYP2C19 و CYP3A4، می‌تواند بر متابولیسم داروها و پاسخ به عوامل محیطی تأثیر بگذارد (۳۲). در بیماری‌های نورودژنراتیو، این ژن‌ها به دلیل نقششان در استرس اکسیداتیو و

¹⁴ Microtubule-Associated Protein Tau

کردند که HSP70 و HSP90 ممکن است مولکول‌های تنظیمی باشند که با حفظ تاخوردگی نادرست پروتئین در ALS، آسیب‌شناسی بیماری را تغییر می‌دهند (۵۱). Toscano و همکاران نشان دادند که مهار HSP90 قادر به کاهش TDP-43 اصلاح‌شده توسط بیماری و جلوگیری از برخی از فنوتیپ‌های بیماری است. این نتایج نقشی را برای HSP90 شناسایی می‌کند که ممکن است در پاتوژنز ALS نقش داشته باشد و مسیرهای سلولی را که این اتفاق از طریق آنها رخ می‌دهد را بررسی کند (۵۲). O'Neill و همکاران نشان دادند که در بیماران als بیان HSP90AB1 و snap25 افزایش یافت (۵۳).

نتایج این مطالعه ثابت می‌کند که ژن‌های مرتبط با انتقال نوروترانسمیتر بواسطه وژیکول در سیناپس و ترشح نوروترانسمیتر عصبی از سیناپس ارتباط نزدیکی با ALS دارند. همچنین ژنهای SNAP25, MAPT, SYP, SYN1, DLG4 و HSP90AB1 که در Als افزایش بیان داشتند می‌توانند نشانگرهای زیستی بالقوه برای پیش‌آگهی و تشخیص بیماری باشند.

این مطالعه این فرصت را داد تا با استفاده از تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک، در شناسایی ژن‌ها بالقوه و بررسی و تحلیل نقش آنها در ALS استفاده کنیم. این تحقیق بینش جدیدی در مورد این بافت آسیب دیده ارائه می‌دهد تا درک بهتری از ژنتیک ALS داشته باشیم. در نتیجه، ما برخی از ژن‌های کاندید را برای بررسی بیشتر در تحقیقات آینده پیشنهاد کردیم. شناسایی تغییرات ژنتیکی در میان بیماران ALS و تعیین نشانگرهای زیستی بالقوه امکان نظارت بر بیماران برای اهداف درمانی را فراهم می‌کند.

در محل پس‌سیناپسی کمک می‌کند و تشکیل و عملکرد صحیح سیناپس را تضمین می‌کند (۴۵). جهش در ژن DLG4 می‌تواند باعث ایجاد یک بیماری عصبی به نام سیناپتوپاتی مرتبط با DLG4 شود که می‌تواند منجر به ناتوانی‌های ذهنی، تأخیر در رشد و سایر مشکلات عصبی شود (۴۴). تحقیقات نشان می‌دهد که DLG4 ممکن است در پاتوژنز ALS، به ویژه در رابطه با جهش‌های TDP-43، نقش داشته باشد (۴۶). جهش‌های TDP-43 که با ALS مرتبط هستند، می‌توانند منجر به کاهش بیان ژن‌های سیناپسی مانند سیناپسین I شوند (۴۷). این موضوع، ارتباط بالقوه بین اختلال عملکرد سیناپسی، DLG4 و مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با ALS را برجسته می‌کند. یک مطالعه نشان داد که ویرایش ژن DLG4/PSD-95 شناخت را در مدلی از بیماری آلزایمر بهبود می‌بخشد، که نشان‌دهنده یک مسیر درمانی بالقوه برای اختلالات عصبی، از جمله ALS است (۴۸). Marcuz و همکاران نشان دادند تعداد خارهای دندریتیک با افزایش سطح رونویسی ژن DLG4 افزایش یافت (۴۳).

HSP90AB1 پروتئین شوک حرارتی ۹۰ آلفا خانواده کلاس B عضو ۱ یک ژن کدکننده پروتئین است (۴۹). اخیراً، چاپرون‌های پروتئین شوک حرارتی (HSP) با پاتوژنز بیماری‌های نورون حرکتی، از جمله ALS خانوادگی، مرتبط بوده‌اند (۲۵، ۵۰). HSP‌ها به‌عنوان چاپرون‌های مولکولی برای تاخوردگی پروتئین، انتقال و تشکیل ساختارهای ضروری برای بقای سلول عمل می‌کنند (۵۱). Miyazaki و همکاران نشان دادند سطح سرمی HSP70 و HSP90 در بیماران ALS به طور قابل توجهی بالاتر از گروه کنترل بود. آنها نتیجه‌گیری

منابع

- Longinetti E, Fang F. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: an update of recent literature. *Current opinion in neurology*. 2019; 32(5): 6-771.
- Lin J, Huang P, Chen W, Ye C, Su H, Yao X. Key molecules and pathways underlying sporadic amyotrophic lateral sclerosis: integrated analysis on gene expression profiles of motor neurons. *Frontiers in Genetics*. 2020; 11:578143.
- Chia R, Chiò A, Traynor BJ. Novel genes associated with amyotrophic lateral sclerosis: diagnostic and clinical implications. *The Lancet Neurology*. 2018; 17(1): 94-102.
- Kumar R, Haider S. Protein network analysis to prioritize key genes in amyotrophic lateral sclerosis. *IBRO Neuroscience Reports*. 2022; 44: 12-25.
- Sever B, Ciftci H, DeMirici H, Sever H, Ocak F, Yulug B, et al. Comprehensive research on past and future therapeutic strategies devoted to treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *International journal of molecular sciences*. 2022; 23(5): 240.
- Muthmainah M. Unravelling the Genetic Factors in the Pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). *Cermin Dunia Kedokteran*. 2017; 44(2): 401029.
- Yang F, Mahaman YAR, Zhang B, Wang JZ, Liu R, Liu F, et al. C9orf72 poly-PR helps p53 escape from the ubiquitin-proteasome system and promotes its stability. *Journal of Neurochemistry*. 2023; 166(2): 389-402.
- Verma S, Vats A, Ahuja V, Vats K, Khurana S, Vats Y, et al. Functional consequences of familial ALS-associated SOD1L84F in neuronal and muscle cells. *The FASEB Journal*. 2024; 38(3): e23461.
- Shtilbans A, Choi S-G, Fowkes ME, Khitrov G, Shahbazi M, Ting J, et al. Differential gene expression in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*. 2011; 12(4): 6-25.
- Keon M, Musrie B, Dinger M, Brennan SE, Santos

J, Saksena NK. Destination amyotrophic lateral sclerosis. *Frontiers in Neurology*. 2021; 12: 596006.

11. Abel O, Powell JF, Andersen PM, Al-Chalabi A. ALSod: A user-friendly online bioinformatics tool for amyotrophic lateral sclerosis genetics. *Human mutation*. 2012; 33(9): 1345-51.

12. Ganekal P, Vastrad B, Kavatagimath S, Vastrad C, Kotrashetti S. Bioinformatics and next-generation data analysis for identification of genes and molecular pathways involved in subjects with diabetes and obesity. *Medicina*. 2023; 59(2): 309.

13. Noor A, Zahid S. A review of the role of synaptosomal-associated protein 25 (SNAP-25) in neurological disorders. *International journal of neuroscience*. 2017; 127(9): 805-11.

14. Sheoran S. Ultrastructural Analysis Of Proteins Implicated in Synaptic Vesicle Docking and Priming in *C. elegans*: University of Illinois at Chicago. 2020; 12(01): 03-30.

15. Sabet HS, Sabet FS, Shojaei K, Yaghoubi F, Jafarian M. Biomarkers in Brain Traumatic Injury. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2023; 11(1): 1401-10.

16. Corradini I, Verderio C, Sala M, Wilson MC, Matteoli M. SNAP-25 in neuropsychiatric disorders. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2009; 1152(1): 93-9.

17. Pozzi D, Corradini I, Matteoli M. The control of neuronal calcium homeostasis by SNAP-25 and its impact on neurotransmitter release. *Neuroscience*. 2019; 420: 72-8.

18. Cupertino RB, Kappel DB, Bandeira CE, Schuch JB, da Silva BS, Müller D, et al. SNARE complex in developmental psychiatry: neurotransmitter exocytosis and beyond. *Journal of Neural Transmission*. 2016; 124(1): 83-123.

19. Lepeta K, Lourenco MV, Schweitzer BC, Martino Adami PV, Banerjee P, Catuara-Solarz S, et al. Synaptopathies: synaptic dysfunction in neurological disorders—A review from students to students. *Journal of neurochemistry*. 2016; 138(6): 785-805.

20. Wang Q, Tao S, Xing L, Liu J, Xu C, Xu X, et al. SNAP25 is a potential target for early stage Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *European journal of medical research*. 2023; 28(1): 570.

21. Shu J, Peng F, Li J, Liu Y, Li X, Yuan C. The Relationship between SNAP25 and Some Common Human Neurological Syndromes. *Current*

Pharmaceutical Design. 2024; 30(30): 2378-86.

22. Zhang C, Xie S, Malek M. SNAP-25: A biomarker of synaptic loss in neurodegeneration. *Clinica Chimica Acta*. 2025; 571: 120236.

23. Akbarabadi P, Pourhosseini PS. Alzheimer's Disease: Narrative Review of Clinical Symptoms, Molecular Alterations, and Effective Physical and Biophysical Methods in its Improvement. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2022; 11(1): 108-18.

24. Zhang C-C, Xing A, Tan M-S, Tan L, Yu J-T. The role of MAPT in neurodegenerative diseases: genetics, mechanisms and therapy. *Molecular neurobiology*. 2016; 48(3): 904-53.

25. Mohammadpour N. P 97: Neurodegeneration Induced by Tau protein. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2017; 5(2): 128.

26. Tourtourikov I, Dabchev K, Todorov T, Angelov T, Chamova T, Tournev I, et al. Navigating the ALS Genetic Labyrinth: The Role of MAPT Haplotypes. *Genes*. 2023; 14(11): 1-12.

27. Sferra A, Nicita F, Bertini E. Microtubule dysfunction: a common feature of neurodegenerative diseases. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21(19): 7354.

28. Schaffert L-N, Carter WG. Do post-translational modifications influence protein aggregation in neurodegenerative diseases: a systematic review. *Brain sciences*. 2020; 10(4): 232.

29. Sghaier I, Kacem I, Ratti A, Takout K, Abida Y, Peverelli S, et al. Impact of APOE and MAPT genetic profile on the cognitive functions among Amyotrophic Lateral Sclerosis Tunisian patients. *Journal of Neural Transmission*. 2025; 132(4): 609-618.

30. Manikandan P, Nagini S. Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: a review. *Current drug targets*. 2018; 19(1): 38-54.

31. Kuban W, Daniel WA. Cytochrome P450 expression and regulation in the brain. *Drug Metabolism Reviews*. 2021; 53(1): 1-29.

32. Ingelman-Sundberg M. Genetic susceptibility to adverse effects of drugs and environmental toxicants: the role of the CYP family of enzymes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2001; 482(1-2): 9-11.

33. Carri MT, Valle C, Bozzo F, Cozzolino M. Oxidative stress and mitochondrial damage: importance in non-SOD1ALS. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2015; 9:41.
34. Barber SC, Shaw PJ. Oxidative stress in ALS: key role in motor neuron injury and therapeutic target. *Free Radical Biology and Medicine*. 2010; 48(5): 629-41.
35. Kamel F, Umbach DM, Bedlack RS, Richards M, Watson M, Alavanja MC, et al. Pesticide exposure and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotoxicology*. 2012; 33(3): 457-62.
36. Dash RP, Babu RJ, Srinivas NR. Two decades-long journey from riluzole to edaravone: revisiting the clinical pharmacokinetics of the only two amyotrophic lateral sclerosis therapeutics. *Clinical pharmacokinetics*. 2018; 1385: 57-98.
37. Mirza FJ, Zahid S. The role of synapsins in neurological disorders. *Neuroscience bulletin*. 2018; 34(2): 349-58.
38. Cesca F, Baldelli P, Valtorta F, Benfenati F. The synapsins: key actors of synapse function and plasticity. *Progress in neurobiology*. 2010; 91(4): 313-48.
39. Parenti I, Leitão E, Kuechler A, Villard L, Goizet C, Courdier C, et al. The different clinical facets of SYN1-related neurodevelopmental disorders. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022; 10: 101715.
40. Matijevic T, Knezevic J, Slavica M, Pavelic J. Rett syndrome: from the gene to the disease. *European Neurology*. 2008; 61(1): 3-10.
41. Bauer CS, Cohen RN, Sironi F, Livesey MR, Gillingwater TH, Highley JR, et al. An interaction between synapsin and C9orf72 regulates excitatory synapses and is impaired in ALS/FTD. *Acta Neuropathologica*. 2022; 144(3): 437-64.
42. Xiong J, Duan H, Chen S, Kessi M, He F, Deng X, et al. Familial SYN1 variants related neurodevelopmental disorders in Asian pediatric patients. *BMC Medical Genomics*. 2021; 1: 9-14.
43. Marcuzzo S, Terragni B, Bonanno S, Isaia D, Cavalcante P, Cappelletti C, et al. Hyperexcitability in cultured cortical neuron networks from the G93A-SOD1 amyotrophic lateral sclerosis model mouse and its molecular correlates. *Neuroscience*. 2019; 88: 416-99.
44. Tümer Z, Dye TJ, Prada C, White-Brown AM, MacKenzie A, Levy AM. DLG4-related synaptopathy. 2023.
45. Rasmussen AH, Rasmussen HB, Silahatoglu A. The DLGAP family: neuronal expression, function and role in brain disorders. *Molecular brain*. 2017; 1: 1013.
46. Ishiguro A, Ishihama A. ALS-linked TDP-43 mutations interfere with the recruitment of RNA recognition motifs to G-quadruplex RNA. *Scientific Reports*. 2023; 13(1): 5982.
47. Ni J, Ren Y, Su T, Zhou J, Fu C, Lu Y, et al. Loss of TDP-43 function underlies hippocampal and cortical synaptic deficits in TDP-43 proteinopathies. *Molecular psychiatry*. 2023; 28(2): 931-45.
48. Bustos FJ, Ampuero E, Jury N, Aguilar R, Falahi F, Toledo J, et al. Epigenetic editing of the Dlg4/PSD95 gene improves cognition in aged and Alzheimer's disease mice. *Brain*. 2017; 12(14): 3252-68.
49. Alavian F. Hypothermia and stroke: pros and cons. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2019; 7(2): 83-98.
50. Bakhtiari Moghadam B, Shirian S, Safar Mashaie K. The Effect of Astaxanthin on the Treatment of Epilepsy and Brain-Spinal Cord Injury. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2024, 13(1): 87-103.
51. Miyazaki D, Nakamura A, Kobayashi C, Kinoshita T, Hineno A, Yoshida K, et al. Elevated serum levels of heat-shock protein (HSP)70 and 90 in patients with ALS. *Journal of the Neurological Sciences*. 2015; 357: e340.
52. Garcia-Toscano L, Currey HN, Hincks JC, Stair JG, Lehrbach NJ, Liachko NF. Decreased Hsp90 activity protects against TDP-43 neurotoxicity in a *C. elegans* model of amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS genetics*. 2024; 20(12): e. 1011518.
53. O'Neill K, Shaw R, Bolger I, Consortium NA, Tam O, Phatnani H, et al. ALS molecular subtypes are a combination of cellular, genetic, and pathological features learned by deep multiomics classifiers. *bioRxiv*. 2024; 7: 19.603731.