Research Paper

Genetic Meta-Analysis of Expression and Signaling Pathways and Analysis of Interaction Networks of Some Genes with Different Expression from The Results of Several Microwave Studies in Patients with Autism Using R Software

Saeed Pirmoradi[*1]

1. Phd biochemistry, Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran Ahvaz University, Ahvaz, Iran

Received: 2022/06/23 **Accepted:** 2022/09/13

Abstract

Introduction: Autism is a set of environmental and genetic disorders in the nervous system that result in defects in social behaviors, social communication, stereotyped behaviors and difficulty in motor skills and inability to plan motor. These factors are the severity of the disease and how affect its response to treatment.

Materials and Methods: In this study, we sought to identify a common list of different genes expressed (DEG) using a meta-analysis method by bioinformatics tools. Three microwave studies were identified, including 109 samples, of which 90 were sick and 19 were healthy. These studies were analyzed by software and meta-analysis was performed on them.

Results: After isolation of genes with different expression with the help of statistical analysis by R software, genes (EIF1AY, EIF2S3, IL32, ARPC4-TTLL3, LILRA5, EIF5A, XIST, RARA, TXLNG,) were obtained and then by examining their gene ontology from the final results were obtained through the enrichr database and the association of their interaction pathways with pathways and interaction networks with other genes involved in autism.

Conclusion: By identifying genes with different expression in different studies that had a significant decrease or increase in expression and examining them in biological, molecular and cellular pathways in general, it was found that this set of genes can be used in autism and some pathways in the functional process. This disease has a role, so it is possible to provide desirable treatment strategies to control them by examining the targets of their effects and products.

***Corresponding Author:** Saeed Pirmoradi
Address: Ahvaz, Chamran University, Faculty of Animal Science, Department of Biochemistry
Tel: 09168881639
E-mail: pirmoradi150@gmail.com

Keywords: Autism, Gene expression, Network meta-analysis, Software

How to cite this article: Pirmoradi S.Genetic Meta-Analysis of Expression and Signaling Pathways and Analysis of Interaction Networks of Some Genes with Different Expression from The Results of Several Microwave Studies in Patients with Autism Using R Software, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2023; 30(1):35-50.

Copyright © 2023 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

Introduction

Autism disease includes a set of disorders in the nervous system, which results in defects in social behaviors, social communication style, stereotyped behaviors, and problems in movement abilities. Today's various studies have come to the conclusion that the formation and origin of autism is not only caused by a single factor, but it may be a combination of environmental factors and genetic factors. Due to the increase in the prevalence of autism, knowing the effective factors in the formation of this condition is very important in order to discover therapeutic solutions, and due to its neurobiological basis, complete and comprehensive studies have not yet been conducted on it. In general, inflammation caused by inflammatory factors and factors of the immune system, such as chemokines such as interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha, and various adipokines as metabolic mediators play an important role in the formation of this condition. Changes in gene expression are widely studied to describe various human diseases. Previous studies have shown that several candidate genes show differential expression in ASD patients in the brain and blood compared to the healthy control group. Despite this series of data obtained from the previous analysis. Here we applied a systems biology approach to further deepen the understanding of pathophysiological mechanisms in ASD. In this study, the results of an independent microarray study on ASD were used to perform a meta-analysis with the aim of identifying new candidate genes for ASD. In addition, functional enrichment, protein-protein interaction, DEGs transcription factors and disease analysis were performed to elucidate the potential mechanisms of ASD pathogenesis.

Methodology

In this study, using the meta-analysis method using bioinformatics tools, the data of three microarray studies that included 109 samples, 90 patients and 19 samples were collected. Then with the help of R software and through its special packages .With the help of different bioinformatics servers, we performed the necessary analyzes to prepare, normalize and integrate the data and we obtained a common list of differentially expressed genes (DEGs). Cellular, molecular and biological pathways were performed on gene data with differential expression isolated from these studies and their results were presented in the form of graphs and tables. And finally, the process of meta-analysis and investigation of gene interaction networks was carried out on the obtained gene list with differential expression, and through it, the interactions of the obtained genes both with themselves and with other genes will be investigated in different interaction pathways.

Results

After accurately identifying the appropriate microarray studies to provide the required data through the NCBI server by extracting raw data from them and normalizing the data, the process of analysis and isolation of genes with different expression was done with the help of statistical analysis by R. software packs . Then by sharing and examining them, a set of genes with differential expression compared to other genes including (EIF1AY, EIF2S3, IL32, ARPC4-TTLL3, LILRA5, EIF5A, XIST, RARA, TXLNG,) was obtained. Then by examining their gene ontology in three molecular, biological and cellular pathways through the Enrichr database and studying and analyzing the relationship of their interaction pathways through pathways and interaction networks with other genes effective in autism, the final result was obtained, which indicates This disease is closely related to many immunological processes and cytokines and factors of the immune system. Also, from the results obtained, it was found that different genes and gene relationships are involved in the formation of parts and complications of this disease, which indicates the involvement of genes in this disease. These results were presented in the form of a series of graphs in which the relationship between the relevant genes and various pathways and factors involved in autism patients was clear. Also, through special servers, interactive network and interactive communication, the obtained genes with expression differences with other genes were examined and their relationships were depicted in the form of a network and analysis, and it was observed that different genes through various interactions in different genetic and biochemical pathways.

Discussion

Autism has a very complex neurobiological basis, in which there is still no complete information about these complex processes, so there is still no specific and definitive factor or marker for its therapeutic purpose . In this study, among the thousands of genes obtained from several different microarray studies, we finally found some genes with high expression differences (LogFC>3>-3) and we separated them with the help of R software packages for functional and interaction analysis and investigate their relationship with the diagnostic factors and markers of autism that were discovered before, and maybe by finding new ways related to these genes, we can consider new ways to understand the disease process and its treatment(30). in the results of the molecular ontology of our study, there is a high relationship between Genes with different expression from PKB, which is an important kinase in signaling pathways in relation to membrane phospholipids, which confirms the results of our study. We obtained cytoplasmic activities and cytoplasmic factors with a percentage of 71.4% of molecular ontologies, which was in line with confirming our results. Also, in other studies, the relationship between autism and inflammatory factors such as TNF and ILs has been discussed and these results are also in line with the results of our study in Ontology Biology which is related to IL5,13 and the differentiation and regulation of Th2 and with The results from the KEGG pathway were consistent. In general, in this study, some new genes related to autism disease It was found that three of them were EIF1AY, EIF2S3, and EIF5A, which are important factors in different stages of the protein synthesis or translation process, and changes in the expression of these genes can be effective in the production of necessary proteins effective in the process of autism. Another gene was IL32, which, due to its role in the production of inflammatory factors such as TNFs, plays an essential role in the development of inflammation and can play a role in the formation of autism.The next gene is ARPC4-TTLL3, which acts as the actin-binding component of the Arp2/3 complex, which mediates the formation of branched actin networks that It is related to the cellular skeleton and the cytoplasmic and nuclear activities of the cell, which, based on the results of the ontology and signaling pathways, have a favorable relationship with autism. LILRA5 gene is another gene of this collection is a member of the leukocyte-like immunoglobulin receptor (LIR) family. It has been shown that the cross-linking of this receptor protein on the surface of monocytes causes calcium flux and the release of several pro-inflammatory cytokines, which indicates the role of this protein in stimulating innate immune responses. in the results of the molecular ontology of our study, there is a high relationship between Genes with different expressions from PKB, which is an important kinase in signaling pathways in relation to membrane phospholipids, which confirms the results of our study. On the other hand, in various studies, a very strong correlation between the activities of factors affecting the cytoskeleton, such as some factors of the RHO family, such as CDC42, and autism has been seen (31). We obtained cytoplasmic activities and cytoplasmic factors with a percentage of 71.4% of molecular ontologies, which was in line with confirming our results. Also, in other studies, the relationship between autism and inflammatory factors such as TNF and ILs has been discussed, and these results are also in line with the results of our study in Ontology Biology, which is related to IL5,13and Th2 cells and the regulation of various cytokines as well The results from the KEGG pathway were consistent. In general, in this study, some new genes related to autism disease It was found that three of them were EIF1AY, EIF2S3, and EIF5A, which are important factors in different stages of the protein synthesis or translation process, and changes in the expression of these genes can be effective in the production of necessary proteins effective in the process of autism. So, in general, all of these genes were somehow related to the processes of formation and pathogenesis through different functional and interaction paths and played a role in causing complications and problems caused by this disease. Our study is an in silico work and based on bioinformatics tools that confirm the accuracy of more ensuring its results requires appropriate laboratory and clinical processes.

Conclusion

In general, it can be said that the identification of different genes continuously and slowly in various studies of diseases such as autism can be a meta-analytical starting point for this series of research and analysis in the future, which

researchers use to investigate gene interactions. in such a way that among the genes that are expressed under the influence of autism disease and other genes related to them, new expression effects can be found and more effective and innovative treatment methods can be provided based on them.

Acknowledgment

The authors thank Shahid Chamran University of Ahvaz for their cooperation.

Conflict of Interest :The authors declare that there is no conflict of interest in the present study

مقاله پژوهشی

تحلیل ژنتیکی بررسی بیان و مسیرهای سیگنالینگ و انالیز شبکه‌های برهمکنش برخی ژن‌های دارای بیان متفاوت حاصل از نتایج چند مطالعه مایکروارای در بیماران مبتلا به اوتیسم با کمک نرم‌افزار R

سعید پیرمرادی*[1]

۱. دکتری تخصصی بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۲

* نویسندهٔ مسئول: سعید پیرمرادی
نشانی: اهواز، دانشگاه چمران، دانشکده دامپزشکی گروه بیوشیمی
تلفن: ۰۹۱۶۸۸۸۱۶۳۹
رایانامه: pirmoradi150@gmail.com
شناسه ORCID: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۲۹۶۹-۶۲۰۰
شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0003-2969-6200

چکیده

زمینه و هدف: اوتیسم شامل مجموعه‌ای از اختلالات محیطی و ژنتیکی در سیستم عصبی است که حاصل آن نقص در رفتارها و نحوه ارتباطات اجتماعی، رفتارهای کلیشه‌ای و مشکل در توانایی‌های حرکتی و ناتوانی در برنامه‌ریزی‌های حرکتی می‌باشد. این عوامل شدت این بیماری و نحوه پاسخ آن به درمان را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

مواد و روش‌ها: این مطالعه در صدد شناسایی فهرست مشترکی از ژن‌های متفاوت بیان‌شده (DEG) با استفاده از یکی از روش‌های متاآنالیز توسط ابزارهای بیوانفورماتیک بود که سه مطالعه مایکروارای شناسایی شدند که ۱۰۹ نمونه را شامل می‌شدند که ۹۰ نفر آنها بیمار و ۱۹فرد دیگر سالم بودند. تجزیه‌وتحلیل‌های این مطالعات با نرم‌افزار انجام شد و متاآنالیز بر روی آنها انجام گرفت.

یافته‌ها: پس از جداسازی ژن‌های دارای بیان متفاوت، با کمک آنالیزهای آماری توسط نرم‌افزار R ژن‌های (EIF1AY, EIF2S3,IL32, ARPC4-TTLL3,LILRA5 ,EIF5A ,XIST, RARA, TXLNG,) به‌دست آمدند. سپس با بررسی آنتولوژی آنها از طریق دیتابیس enrichr و ارتباط مسیرهای برهمکنشی آنها از طریق pathways و شبکه‌های برهمکنشی با دیگر ژن‌های مؤثر در بیماری اوتیسم، نتاج نهایی به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: با شناسایی ژن‌های دارای بیان متفاوت در مطالعات مختلف که دچار کاهش یا افزایش بیان معنادار شده بودند و بررسی آنها در مسیرهای بیولوژیکی و مولکولی و سلولی مشخص شد این مجموعه از ژن‌ها می‌توانند در اوتیسم و برخی مسیرهای مؤثر در فرایند عملکردی این بیماری نقش داشته باشند پس می‌توان با بررسی اهداف تأثیرگذاری و محصولات آنها راهکارهای درمانی مطلوبی را در زمینه مهار آنها ارائه کرد.

کلیدواژه‌ها:
اوتیسم، بیان ژن، متاآنالیز شبکه، نرم‌افزار

۱. مقدمه

بیماری اوتیسم شامل مجموعه‌ای از اختلالات در سیستم عصبی است که حاصل آن نقص در رفتارهای اجتماعی، نحوه ارتباطات اجتماعی، رفتارهای کلیشه‌ای و مشکل در توانایی‌های حرکتی و ناتوانی در برنامه‌ریزی‌های حرکتی می‌باشد [۲,۱]. از جمله مهم‌ترین این نواقص، ضعف در ارتباطات چشمی و استفاده از ارتباطات غیرزبانی و متناسب با سن فرد می‌باشد [۳]. این بیماری، تظاهراتی ناهمگن دارد از این رو معمولاً همراه با طیفی از مشکلات می‌باشد [۴]. ضریب هوشی در این افراد، در افراد مختلف نمودهای متفاوتی را از خود بروز می‌دهد [۵]. مطالعات مختلف امروزی به این نتیجه رسیدند که شکل‌گیری و منشأ اوتیسم فقط ناشی از یک عامل منحصربه‌فرد نمی‌باشد بلکه ممکن است برایندی از عوامل محیطی و ژنتیکی باشد البته طی مطالعات جدید مشخص شده است که عمدتاً این اختلال، مبتنی بر تغییرات بیانی ژنی می‌باشد [۶]. به دلیل افزایش شیوع اوتیسم، دانستن عوامل مؤثر در شکل‌گیری این عارضه در راستای کشف راهکارهای درمانی، اهمیت بسیاری دارد و به دلیل اساس نوروبیولوژیکی آن، هنوز بررسی‌های کامل و جامعی در مورد آن صورت نگرفته است [۷].

Copyright © 2023 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

به‌طور کلی التهاب ناشی از عوامل و فاکتورهای التهابی سیستم ایمنی مانند کموکاین‌هایی مثل اینترلوکین۶ و فاکتور تومورنکروز آلفا و ادیپوکاین‌های مختلف به‌عنوان میانجی‌های متابولیتی نقش مهمی در شکل‌گیری این عارضه دارند [۸, ۹, ۱۰]. همچنین برهم‌خوردن فرایند تکاملی نورونی ناشی از افزایش واسطه‌های التهابی مختلف نیز در افراد اوتیسمی گزارش شده است [۱۱]. مشاهده شده است که افزایش ترکیبات التهابی نظیر IL6,IL8,IL1B,CCL8, ناشی از تغییرات بیانی ژن‌ها با رفتارهای ناهنجار افراد اوتیسمی، در ارتباط مستقیم است [۸]. تغییرات در بیان ژن به‌طور گسترده برای توصیف بیماری‌های مختلف انسان مورد مطالعه قرار می‌گیرد و برای پیش‌بینی فرایندهای سلولی و مولکولی در بیماری‌های پیچیده استفاده می‌شود [۱۳,۱۲]. اخیراً برخی از مطالعات با هدف رمزگشایی از امضاهای بیان ژن مخصوص ASD که تأثیرات بسیاری بر پاتوژنز ASD دارند متمرکز شده‌اند. مطالعات قبلی نشان دادند که چندین ژن کاندید در مقایسه با گروه کنترل سالم، بیان افتراقی را در بیماران ASD در ناحیه مغز و خون از خود نشان می‌دهند [۱۵,۱۴]. با وجود این تعداد از داده‌هایی که از تجزیه‌وتحلیل قبلی به‌دست آمده است [۱۶,۱۴] ما در اینجا یک روش زیست‌شناسی سیستم را برای تعمیق بیشتر درک مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک در ASD اعمال کردیم. در این مطالعه، از نتایج یک مطالعه مستقل مایکروارای در مورد ASD برای انجام یک فراتحلیل با هدف شناسایی ژن‌های جدید کاندیدای ASD استفاده شد. علاوه بر این، غنی‌سازی عملکردی، تعامل پروتئین و پروتئین، فاکتورهای رونویسی DEGs و تجزیه‌وتحلیل بیماری برای روشن کردن مکانیسم‌های بالقوه پاتوژنز ASD انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. روش کار فراتحلیل شامل

۱.۱.۲. جمع‌آوری داده برای فراتحلیل

از طریق درگاه پایگاه داده ncbi و از بخش GEO با کلیدواژه بیماری اوتیسم در انسان به تعداد بسیاری از داده‌های مایکروارای در مورد بررسی فرایند بیان داده‌های ژنی در این بیماری دسترسی پیدا شد. سپس در آخر، با بررسی تعدادی از آنها داده‌های خام سه مورد مناسب از آنها دانلود شد و دیتای موردنظر برای فرایند متاانالیز استفاده شد [17]. هدف از این مطالعه، بررسی پروفایل ژن‌ها در بیماری اوتیسم با تمرکز بر توسعه پلتفرمی تجربی و کشف ژن‌هایی در رابطه با اوتیسم و نتایج مطالعات مختلف به‌منظور درک چگونگی بهره‌برداری از آنها در بهبود تشخیص و مدیریت بالینی بیماری اوتیسم است.

۲.۱.۲. پیش‌پردازش داده‌های مایکروارای

داده‌های خام به‌دست‌آمده مربوط به نتایج مطالعات مایکروارای‌های با کد دسترسی GSE29691 و GSE77103 و GSE26415 ابتدا به نرمالیزه شدن [۲۶] آنها و بررسی صحت نرمال بودن آنها سپس به استخراج ماتریس بیانی ژن‌های آن با استفاده از نرم‌افزار R با کمک پکیج‌هایی مانند Limma و GEOquery و ggplot2 و Biobase, Umap پرداخته شد [۱۹,۱۸].

۳.۱.۲. استخراج ماتریس بیانی ژن‌ها

در این مرحله از کار با استفاده از نرم‌افزار R و پکیج‌های Limma و GEOquery وBiobase و umap ژن‌هایی با Adj.P.val<0.05 و LogFC < -3 +3 جداسازی شدند [۲۱,۲۰] سپس برای محاسبه و تحلیل بیان متفاوت هر ژن در مجموعه داده‌های ریزآرایه از مدل خطی پکیج (Limma) استفاده شد (22,23) تا در مراحل بعد برای فرایندهای انتولوژی ژنی[1] و pathways ناشی از تأثیرات بیانی از آنها استفاده گردد [۲۴]

۴.۱.۲. تحلیل ژن ontologies و pathways

در ادامه فرایند تحلیلی، لیست ژن‌های جداسازی‌شده فراتحلیل که با کمک نرم‌افزار R، بیان متفاوت قابل‌ملاحظه‌ای بین نمونه‌های بیمار و کنترل داشتند را جدا کردیم و همه آنها را وارد پایگاه داده Enrichr و دیگر پایگاه داده‌ها با هدف تحلیل‌های انتولوژی بررسی شدند و به بررسی انتولوژی آنها در سه مسیر اصلی انتولوژی بیولوژیکی، سلولی و مولکولی پرداخته شد. ژن‌هایی که پس از انجام فراتحلیل به‌صورت معنادار دارای تفاوت بیان متفاوت و معنادار بودند به‌صورت یک لیست ژنی وارد پایگاه داده Enrichr شد تا با مقایسه و بررسی انتولوژی سلولی، مولکولی و بیولوژیکی این پایگاه داده بتوانیم از فرایند عملکردی آنها دیدی کامل‌تر به‌دست آوریم [۲۷,۲۶].

۵.۱.۲. بررسی pathways مختلف

در برخی پایگاه‌های داده لیست ژنی تهیه‌شده از بیان معنادار حاصل از تحلیل‌های نرم‌افزار R را در pathwaysهای مختلف به نام‌های KEGG, REACTOME, WIKI Pathwayes, که

1 ontologies Gene

نسبت به بقیه، مسیرهای معتبرتری هستند را وارد و تجزیه‌وتحلیل کردیم [۲۵].

۶.۱.۲. بررسی همبستگی ژن‌های دارای بیان متفاوت در همه بافت‌ها

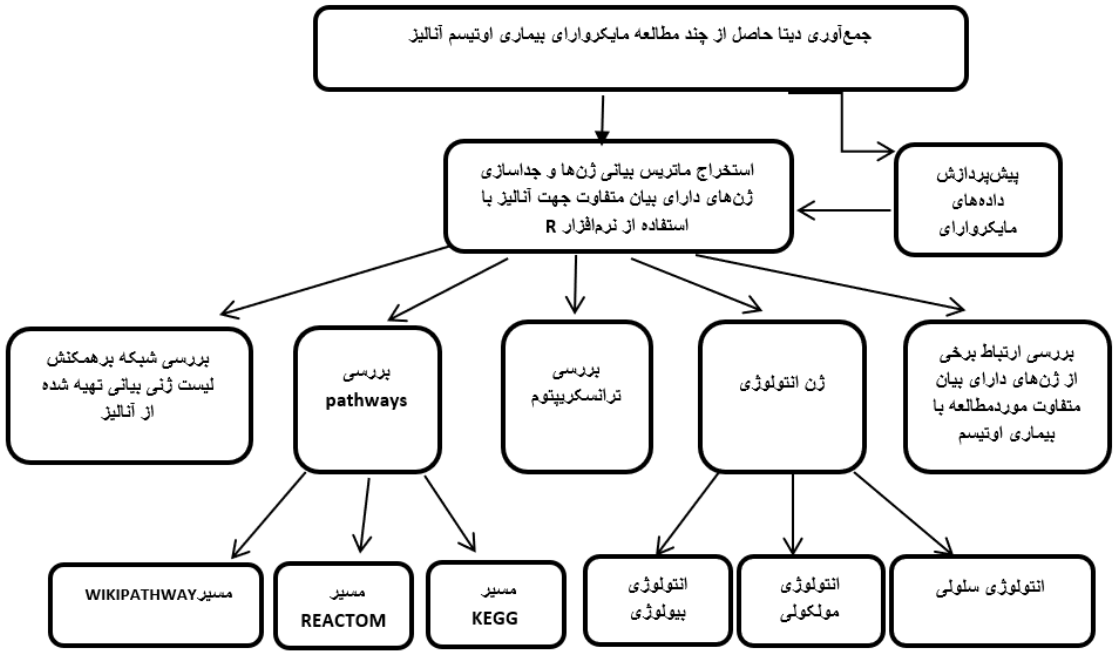
ژن‌های دارای بیان معنادار جداشده دارای افزایش و کاهش بیان در موارد موردمطالعه در دیگر بافت‌ها نیز بیان می‌شوند و بیان آنها در هر بافتی بر دیگر بافت‌ها تأثیر و ارتباط با هم می‌باشند که در این مرحله با کمک برخی نرم‌افزارها مانند FUNRICH و با تهیه نمودار حرارتی از آنها میزان همبستگی بیانی دسته ژن‌های به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر در دیگر بافت‌های مختلف از لحاظ میزان کوریلیشن با یکدیگر بررسی گردید.

۷.۱.۲. بررسی شبکه برهمکنش لیست ژنی بیانی تهیه‌شده از فراتحلیل

در بررسی فرایند شبکه برهمکنش ژن‌های مشترک در GSEهای موردمطالعه ژن‌هایی که دچار تغییر بیان معنادار شده‌اند جدا گردید و از آنها برای ترسیم شبکه و بررسی شبکه برهمکنشی آنها با دیگر ژن‌ها از پایگاه داده‌های مختلف استفاده شد و شبکه‌ای از برهمکنش ژن‌های دارای بیان متفاوت جدا شده با دیگر ژن‌ها ترسیم شد.

۳. یافته‌ها

نتایج فراتحلیل (نمودار ۱)



نمودار ۱. نمودار جریان کار روش

۱.۳. نتایج بررسی ارتباط برخی از ژن‌های دارای بیان متفاوت موردمطالعه با بیماری اوتیسم

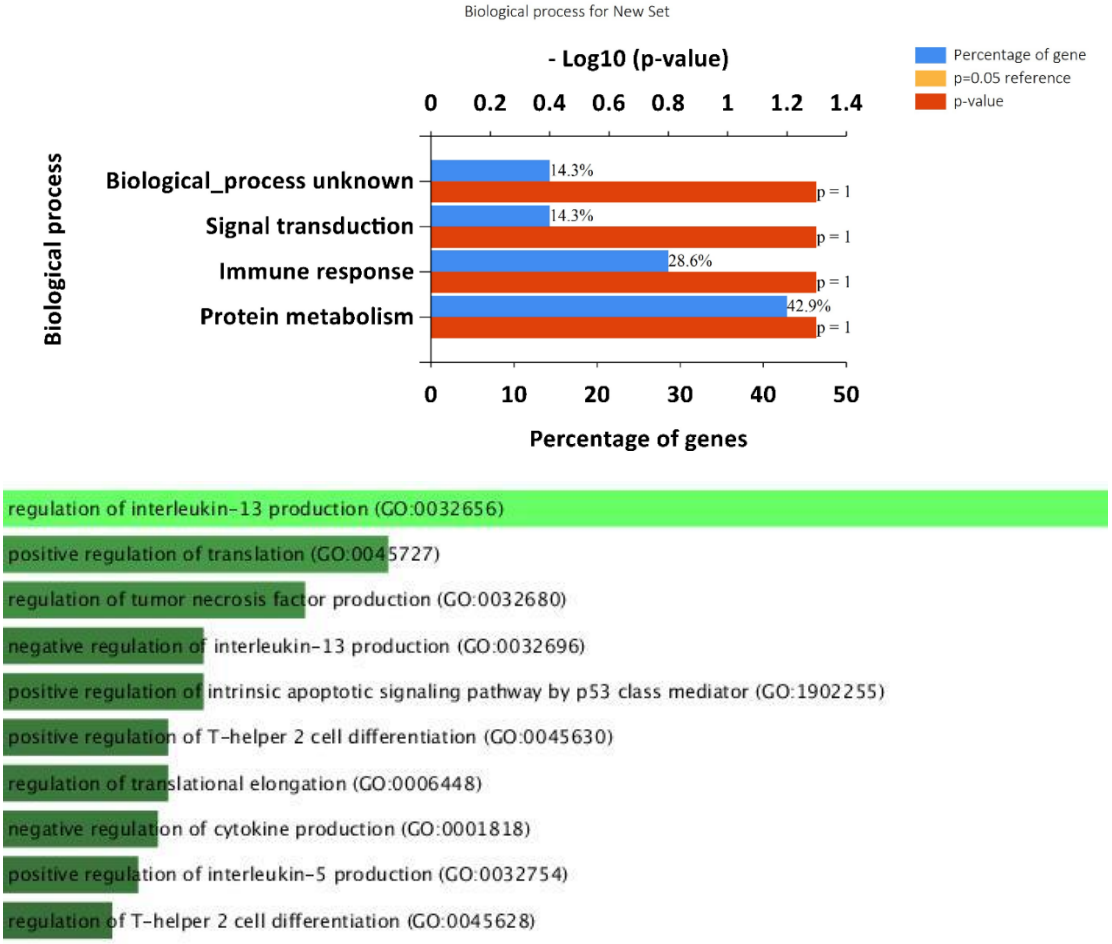
پس از جداسازی ژن‌های دارای بیان متفاوت از داده‌های مایکروارای توسط نرم‌افزار R و در ادامه بررسی‌ها از طریق دیتابیس enrichr به‌طور مشخص ارتباط برخی از ژن‌های دارای بیان بالا و پایین جداشده توسط نرم‌افزار R (EIF1AY, EIF2S3,IL32, ARPC4-TTLL3,LILRA5 ,EIF5A ,XIST, RARA, TXLNG,) از مطالعه مایکروارای بررسی شدند. به‌طور کلی در مطالعات مختلف ارتباط بین ژن‌ها و بیماری اوتیسم بررسی شد و ارتباط برخی از ژن‌ها مانند IL1RN,POSTN,CXCR2,CXCL14,SERPIN5B,FKBP5,I) (TLN1,MS4A2,GATA2,CALCA1 با بیماری اوتیسم به‌طور قابل‌توجهی مشخص گردید. در این مطالعه ما به بررسی دسته ژن‌های دارای افزایش یا کاهش متفاوت بیان به‌دست‌آمده از سه مطالعه مایکروارای پرداختیم چون به‌نظر می‌رسد نقش مهمی در پاتوژنزاوتیسم داشته باشند. از این رو در ادامه بیشتر به بررسی آنها می‌پردازیم که ببینیم در چه مسیرهای سیگنالینگی درگیر و نتایج انتولوژی آنها به چه صورت می‌باشد که شاید با شناخت بیشتر نحوه

عملکرد آنها بتوان فرایندهای درمانی مطلوب‌تری را برای درمان اوتیسم بر مبنای آنها طراحی کرد.

۲.۳. نتایج ژن انتولوژی‌های مختلف

۱.۲.۳. نتایج انتولوژی بیولوژیکی

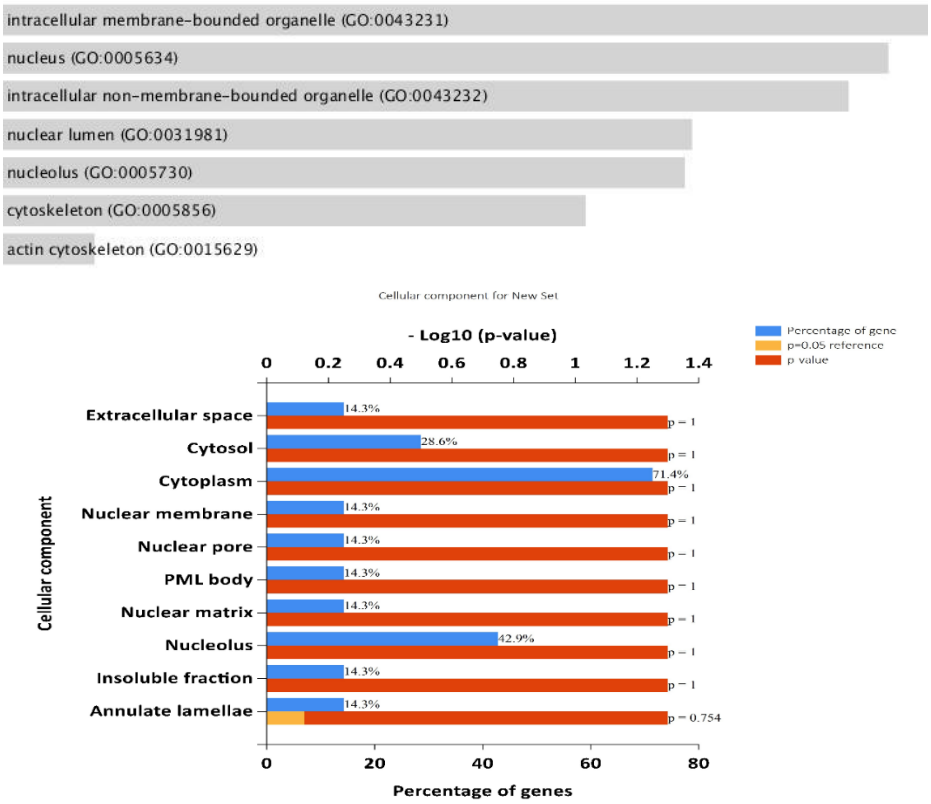
با انجام فرایند انتولوژی و مشاهده نتایج حاصل از آن در بعد بیولوژیکی نتایج به‌دست‌آمده از بررسی لیست ژن‌های دارای بیان بالا و پایین متفاوت در این فراتحلیل بیانگر نقش بیولوژیکی ژن‌های دارای بیان بالا و پایین مطالعه موردبررسی با فرایندهای مختلف در سه محور، مشاهده شد که اولین محور، پاسخ‌های ایمونولوژیکی با ۲۸.۶ درصد از ژن‌ها که شامل نقش در تنظیم عملکرد و فعالیت IL5,IL13و TNF و همچنین نقش در تنظیم منفی عملکرد برخی سایتوکاین‌ها و نقش در تنظیم تمایز سلول‌های TH2 می‌باشد. محور دوم، نقش این ژن‌ها در فرایند متابولیسمی پوتیین‌ها نظیر نقش تنظیمی در فرایند ترجمه و به‌خصوص مرحله طویل‌سازی ترجمه در پروتئین‌سازی می‌باشد که بیشترین ارتباط با ۴۲.۹ درصد از ژن‌های جداشده با این مسیر نسبت به دو مسیر دیگر مشاهده شد. در آخرین محور با ۱۴.۳ درصد از ژن‌ها که نقش در فرایند سیگنالینگ درون‌سلولی داشتند بود که بر مسیرهای مربوط به اپوپتوز و P53 تأثیر داشتند که همگی اینها به نوعی در ارتباط با مسیرهای درگیر در بیماری اوتیسم می‌باشند (تصویر ۱).



تصویر ۱. بررسی انتولوژی بیولوژیکی ژن‌های دارای بیان متفاوت جداشده از مطالعات مایکرو ارای GSE29691 و GSE77103 و GSE26415 در بیماری اوتیسم

۲.۲.۳. نتایج انتولوژی سلولی

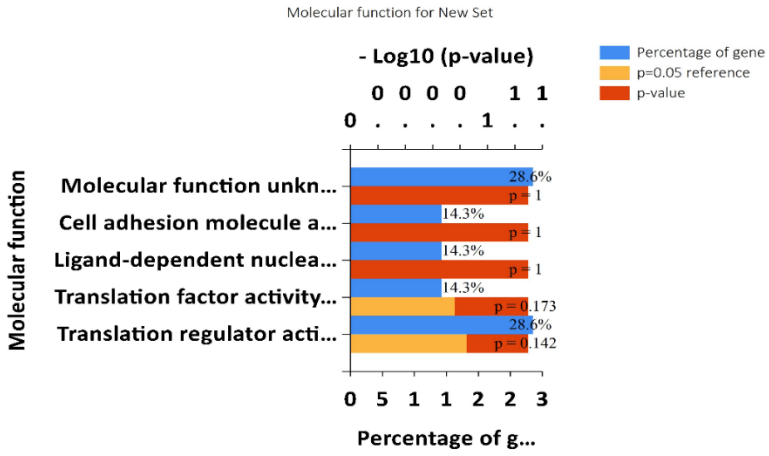
با انجام فرایند انتولوژی و مشاهده نتایج حاصل از آن در بعد سلولی نتایج به‌دست‌آمده، بررسی لیست ژن‌های دارای بیان بالا و پایین متفاوت در فراتحلیل، بیانگر بیشترین نقش سلولی این ژن‌ها در ارتباط با فرایندهای مربوط به سیتوپلاسم و اسکلت سلولی با حدود ۷۱.۴ درصد و در مرحله بعد با فرایندهای هسته و غشا و منافذ هسته و هستک‌ها به‌ترتیب با ۴۳.۲ و ۴۲.۹ می‌باشد که بیانگر ارتباط بالای مکان‌های مرتبط با ژن‌ها و بیماری اوتیسم می‌باشد (تصویر ۲).

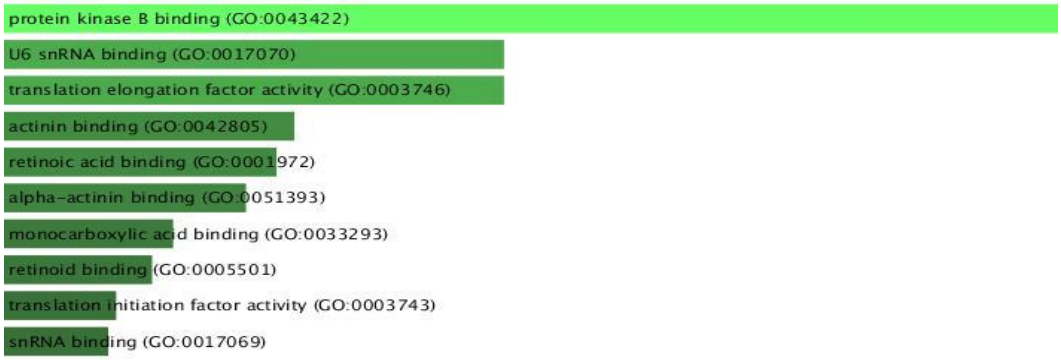


تصویر ۲. بررسی انتولوژی سلولی ژن‌های دارای بیان متفاوت جداشده از مطالعات مایکرو ارای GSE29691 و GSE77103 و GSE26415 در بیماری اوتیسم

۳.۲.۳. نتایج انتولوژی مولکولی

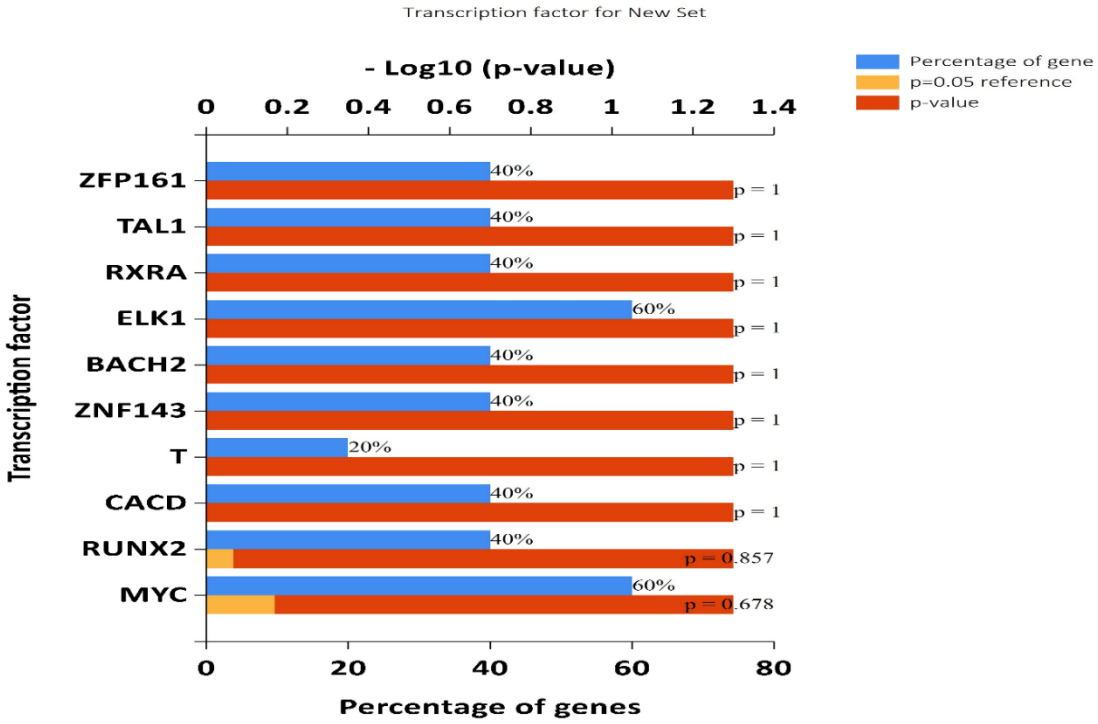
با انجام فرایند انتولوژی و مشاهده نتایج حاصل از آن در بعد مولکولی نتایج به‌دست‌آمده، بررسی لیست ژن‌های دارای بیان متفاوت بالا و پایین در فراتحلیل بیانگر نقش مولکولی ژن‌های دارای بیان متفاوت در ارتباط با فرایندهای مربوط به فعالیت چسبندگی‌های سلولی حدود ۱۴.۳ درصد و فرایندهای هسته‌ای مرتبط با لیگاند با حدود ۱۴.۳ درصد و در نهایت با فرایندهای مربوط به تنظیم فرایند ترجمه و فاکتورهای مؤثر در آن مانند فاکتورهای آغازین ترجمه و مرحله طویل‌سازی ترجمه مثل u6 و نیز عوامل تنظیمی مانند snRNA , و pkB که در مسیرهای سیگنالینگ نقش دارند با حدود ۴۲.۹ درصد دارای درصد معناداری بالاتری نسبت به بقیه فرایندها بودند که این در راستای تأیید نتایج مؤثر در فرایند ترجمه حاصل از انتولوژی بیولوژیکی و سلولی نیز می‌باشد. همچنین ارتباط معناداری با فعالیت‌های مربوط به رتینوییک اسید دیده می‌شود (تصویر ۳).





تصویر ۳. بررسی انتولوژی مولکولی ژن‌های دارای بیان متفاوت جداشده از مطالعات مایکرو ارایGSE29691 و GSE77103 و GSE26415 در بیماری اوتیسم
نتایج بررسی ارتباط بین ژن‌های دارای تفاوت بیان به‌دست‌آمده و فاکتورهای رونویسی

با مشاهده نتایج حاصل از بررسی لیست ژن‌های دارای بیان متفاوت بالا و پایین در فراتحلیل در ارتباط با فاکتورهای رونویسی مختلف مشخص شد که این ژن‌ها دارای ارتباط خوبی با فاکتورهای MYC,ELK1 با درصد ارتباطی ۶۰ درصد و نیز با فاکتورهای TAL1,ZFP161,RXRA,BACH2,ZNF143,CACD,RUNX2 با درصد ارتباط ۴۰ درصدی می‌باشند (تصویر ۴).



تصویر ۴. بررسی انتولوژی ژن‌های دارای بیان متفاوت جداشده از مطالعات مایکرو ارای GSE29691 و GSE77103 و GSE26415 با فاکتورهای رونویسی در بیماری اوتیسم

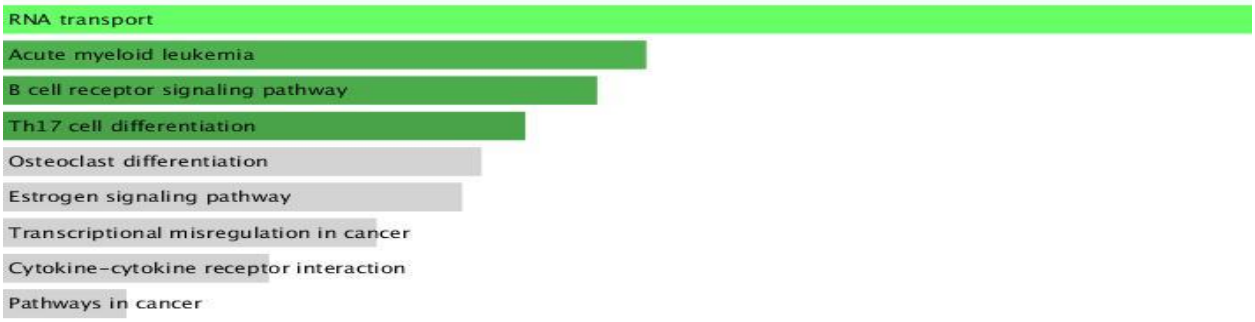
۴.۲.۳. نتایج pathwaysهای مختلف

در آنالیز pathwayes ، مسیرهای سیگنالیگ مربوط به لیست ژنی موردمطالعه ما با لیست‌های موجود در این پایگاه داده pathwayes مختلف به نام‌های KEGG, REACTOME, WIKI Pathwayes, بررسی شد و مسیرهایی که ارتباط معنادار بالاتری دارند برای ما مشخص گردید.

۵.۲.۳. نتایج مسیر pathwayes KEGG Human2019

با انجام بررسی فرایند در مسیر KEGG و مشاهده نتایج به‌دست‌آمده، بررسی لیست ژن‌های دارای بیان متفاوت در

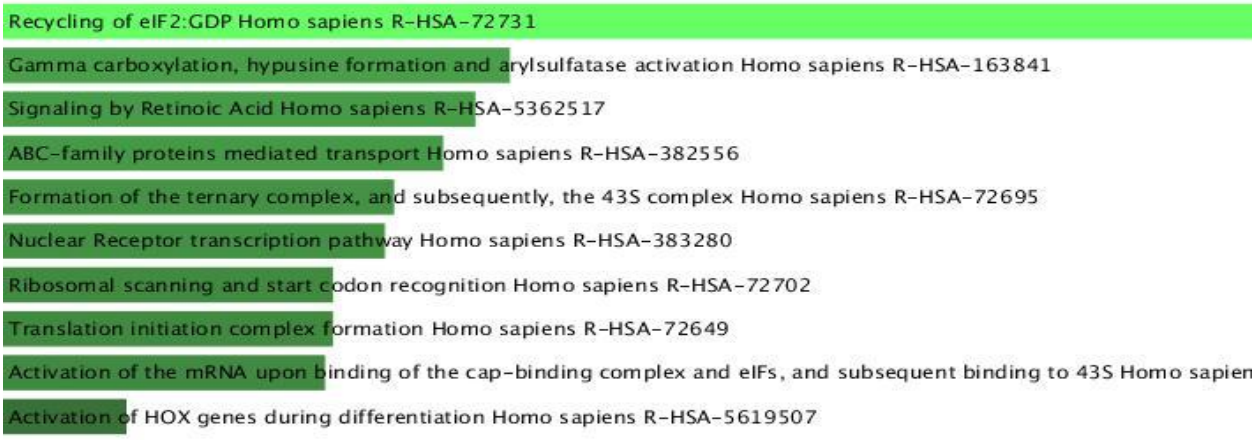
فراتحلیل بیانگر نقش برخی از آنها در ارتباط با در pathways KEGG است. با انجام بررسی در این مسیر و مشاهده نتایج به‌دست‌آمده بررسی لیست ژن‌های دارای بیان متفاوت در این فراتحلیل، آنچه مشاهده شد بیانگر نقش مهم آنها در ارتباط با فرایندهای مربوط به فرایندهای مربوط به مسیر سیگنالینگ مربوط به گیرنده‌های سلول‌های B و مسیرهای انتقالی RNA ها و همچنین تمایز سلول‌های TH17 و ACM می‌باشد که همگی اینها در راستای تأیید نتایج انتولوژی می‌باشند (تصویر ۵).



تصویر ۵. بررسی تأثیر ژن‌های دارای بیان متفاوت مؤثر در بیماری اوتیسم در مسیر (KEGG 2019 Human)

۶.۲.۳. نتایج مسیر pathwayes Human2016 REACTOME

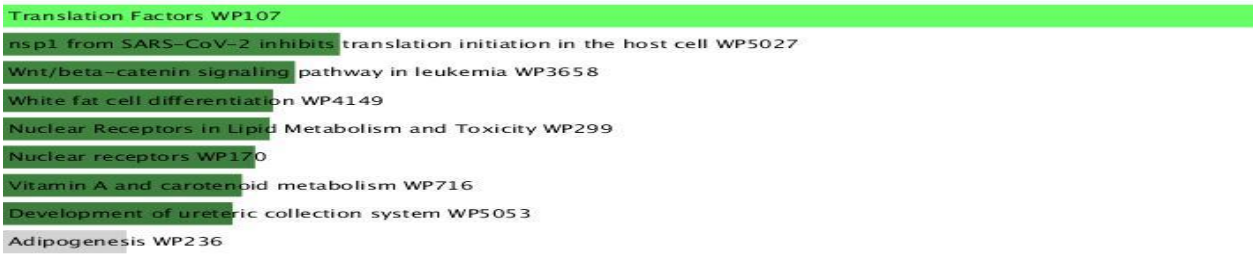
با انجام بررسی فرایند نتایج به‌دست‌آمده بررسی لیست ژن‌های دارای بیان متفاوت در فراتحلیل مسیر REACTOME بیانگر نقش برخی از آنها در ارتباط با در pathways REACTOME است. با انجام بررسی در این مسیر و مشاهده نتایج به‌دست‌آمده بررسی لیست ژن‌های دارای بیان متفاوت در این فراتحلیل، آنچه مشاهده شد بیانگر نقش آنها در فرایندهای تنظیمی عوامل و فاکتورهای مؤثر در فرایند شروع و طویل‌سازی پروتئین‌سازی (EIF2) و مسیرهای سیگنالینگی مرتبط با فعالیت رتینوییک اسید و نیز گیرنده های و مسیرهای انتقال از طریق هسته میباشد که همگی در راستای نتایج حاصل از انتولوژی میباشند(تصویر۶).



تصویر۶: بررسی اثر ژنهای دارای بیان متفاوت موثر در بیماری اوتیسم در مسیر(REACTOME 2016 Human)

۷.۲.۳. نتایج مسیر WIKI Pathwayes Human2020

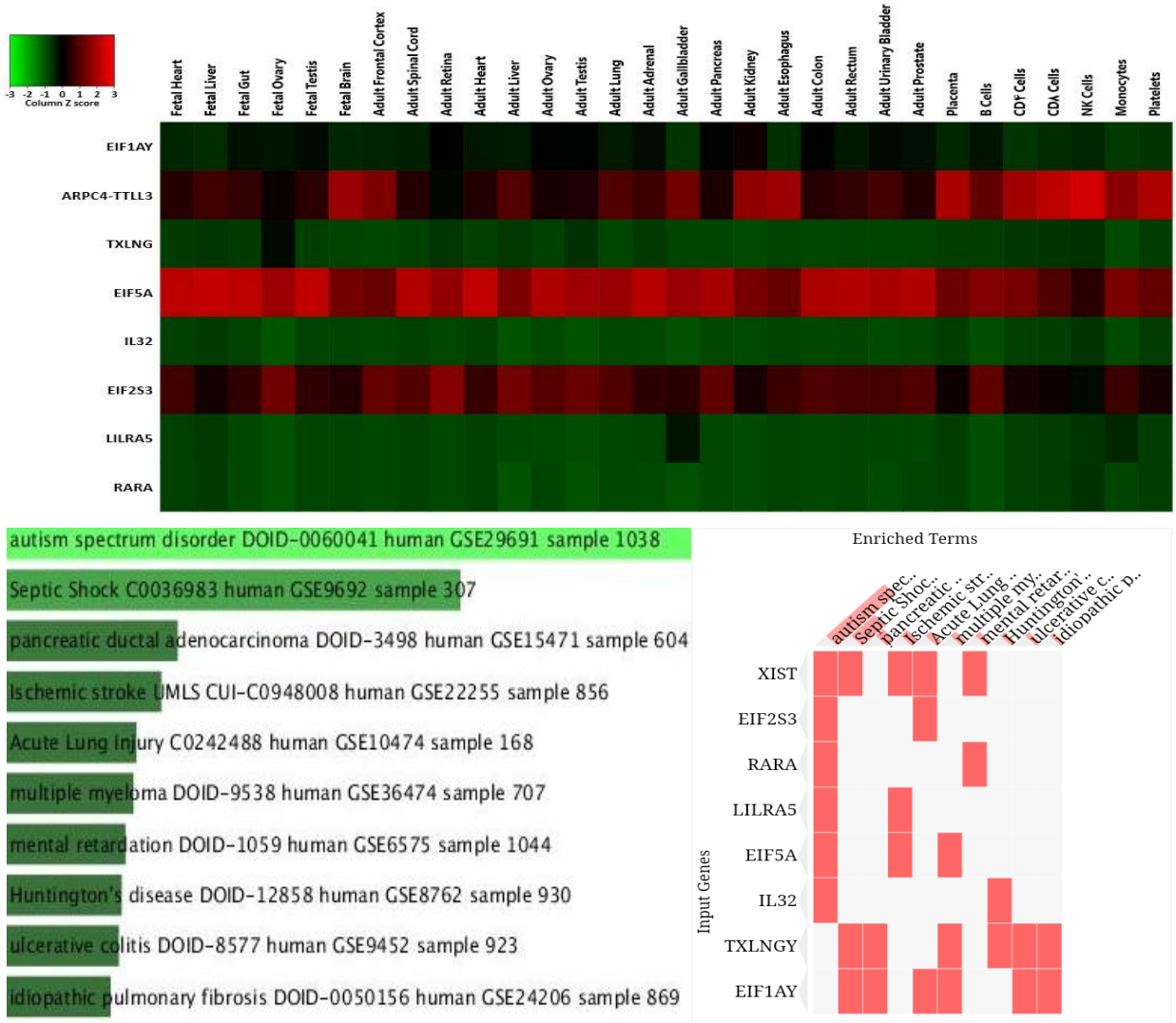
با انجام بررسی فرایند در مسیر WIKI Pathwayes و مشاهده نتایج حاصله بررسی لیست ژنهای دارای بیان متفاوت در فراتحلیل بیانگر نقش برخی از انها در ارتباط با WIKIPathwayes است . با انجام بررسی در این مسیر و مشاهده نتایج حاصله بررسی لیست ژنهای دارای بیان متفاوت در این فراتحلیل، انچه مشاهده شد بیانگر نقش این ژنها در ارتباط با فاکتورهای موثر در ترجمه و مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با بتاکاتنین/wnt و همچنین گیرنده هخای هسته ای و فعالیتهای هسته سلولها میباشد که ضمن تأیید نتایج انتولوژی بیانگر ارتباط نزدیک فرایندهای ژنتیکی با بیماری اوتیسم می‌باشد (تصویر ۷).



تصویر ۷. بررسی تأثیر ژن‌های دارای بیان متفاوت مؤثر در بیماری اوتیسم در مسیر (Human WIKI Pathwayes, 2020)

۳.۳. نتایج بررسی ارتباط و همبستگی بین ژن‌های دارای تفاوت بیان به‌دست‌آمده و بیماری‌های مختلف

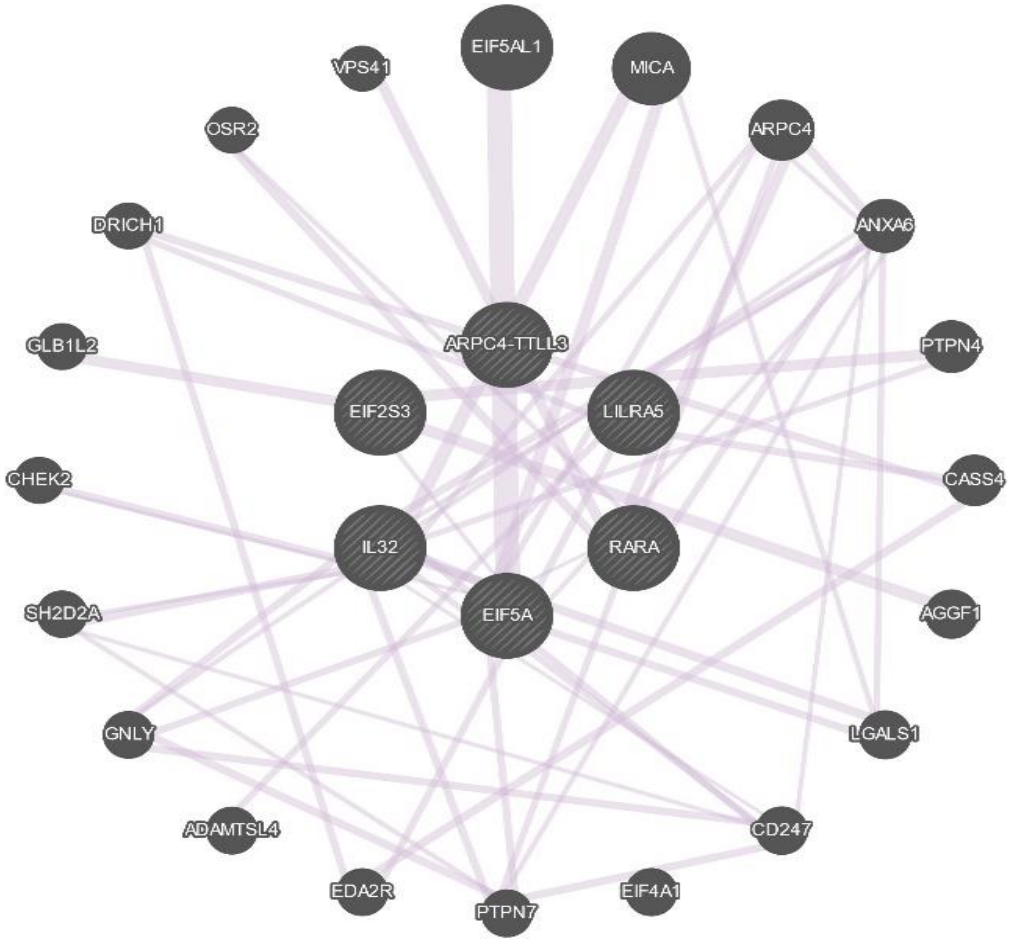
با انجام بررسی و مشاهده نتایج به‌دست‌آمده بررسی لیست ژن‌های دارای بیان متفاوت در این فراتحلیل با بیماری‌های مختلف در پایگاه داده enrichr، آنچه مشاهده شد بیانگر ارتباط بالا ۶ ژن از ۸ ژن جداشده دارای بیان متفاوت مطالعات مایکروارای با بیماری اوتیسم می‌باشد که این امر بیانگر نقش مهم و ارتباط و فرایندهای سیگنالینگ این ژن‌های تازه به‌دست‌آمده با بیماری اوتیسم است که ما را بر آن می‌دارد که به بررسی بیشتر آنها بپردازیم (تصویر ۸).



تصویر ۸. بررسی تأثیر ژن‌های دارای بیان متفاوت و همبستگی آنها در بیماری‌های مختلف

۴.۳. نتایج بررسی شبکه برهمکنش لیست ژنی بیانی تهیه‌شده از فراتحلیل

در بررسی فرایند شبکه برهمکنش ژن‌های جداشده در GSEهای موردمطالعه ژن‌هایی که دارای تفاوت معنادار بودند برهمکنش مختلفی با دیگر ژنها داشتند که این احتمال، مهم و مؤثر بودن این ژن را در فرایندهای سیگنالینگ و مسیرهای بیانی در ارتباط با دیگر ژن‌ها می‌دهد که نیاز به بررسی عملکرد بیشتر این ژن را می‌رساند. پس از آنکه ژن‌های دارای بیان متفاوت معنادار را از بین دسته‌های ژنی در مطالعات مختلف مایکروارای مورد مطالعه جدا کردیم از آنها برای ترسیم شبکه و بررسی شبکه برهمکنش آنها با ژن‌های دیگر از پایگاه داده‌های مختلف استفاده کردیم و شبکه‌ای از این برهمکنش‌ها را ترسیم کردیم که در این شبکه هرکدام از ژن‌های موردمطالعه ما علاوه بر برهمکنش با یکدیگر با برخی ژن‌های دیگر ارتباط برقرار کردند. بدین‌گونه که در بین ژن‌های دارای تفاوت بیان EIF2S3 و IL32 و,RARA EIF5Aو ARPC4-TTLL3وLILRA5 از همه مهم‌تر و نسبت به بقیه ارتباطات بیشتری برقرار کرده بود که ازجمله آنها با ژن‌هایی که در فرایند تنظیم و عملکرد عوامل مؤثر در فرایند ترجمه و تنظیم عملکرد مسیرهای درگیر در سیستم ایمنی بدن برهمکنش داشتند که همگی آنها در راستای تأیید عوارض مربوط به بیماری اوتیسم می‌باشند. همچنین این ژن با مسیرهای سیگنالینگ p53 و بتاکاتنین/wnt فرایندهای مهار تکثیر سلولی و اپوپتوز در ارتباط می‌باشد که این نتایج در راستای تأیید برخی نتایج انتولوژی است (تصویر ۹).



تصویر ۹. بررسی شبکه برهمکنشی ژن‌های دارای بیان متفاوت با دیگر ژن‌ها

٤. بحث و نتیجه‌گیری

بیماری اوتیسم یک اساس نوروبیولوژیکی بسیار پیچیده دارد که هنوز اطلاعات کاملی از این فرایندهای پیچیده در آن وجود ندارد از این رو هنوز یک عامل یا مارکر مشخص و قطعی برای هدف درمانی برای آن وجود ندارد (۲۸،۲۹). در این پژوهش، از بین

هزاران ژن حاصل از چند مطالعه مختلف مایکروارای در نهایت به چند ژن دارای تفاوت بیانی بالا (LogFC >3 <-3) رسیدیم و آنها را با کمک پکیج‌های نرم‌افزار R جدا کردیم تا به آنالیز عملکردی و برهمکنشی آنها در مسیرهای مختلف و بررسی ارتباط آنها با عوامل و مارکرهای تشخیصی اوتیسم که قبلاً کشف شده بودند بپردازیم که شاید بتوان از این طریق و پیدا کردن مسیرهای جدید وابسته به این ژن‌ها راهکارهای جدیدی برای شناخت فرایند بیماری و درمان آن در نظر گرفت. به‌طور کلی ارتباط عوامل مختلف با اوتیسم مورد مطالعات مختلف قرار گرفت و نتایج گوناگونی از آنها به‌دست آمد بدین گونه که در برخی از این مطالعات، ارتباط عوامل کینازی مانند فسفواینوزیتایدها با اوتیسم مشخص شده است (۳۰) که در نتایج حاصل از انتولوژی مولکولی مطالعه ما ارتباط بالایی بین ژن‌های دارای بیان تفاوت با PKB (یک کیناز مهم) در مسیرهای سینگالینگ در ارتباط با فسفولیپیدهای غشایی می‌باشد که این در راستای تأیید نتایج مطالعه ما است. از سوی دیگر در مطالعات مختلف، ارتباط بسیار قوی بین فعالیت‌های عوامل مؤثر در اسکلت سلولی مثل برخی فاکتورهای خانواده RHO مانند CDC42 و بیماری اوتیسم دیده شده است (۳۱) که ما نیز در نتایج حاصل از بررسی خود در این مطالعه، ارتباط معنادار و بالایی از ارتباط فعالیت‌های سیتوپلاسمی و عوامل سیتوپلاسمی با درصد ۷۱.۴ درصد از انتولوژی‌های مولکولی به‌دست آوردیم که در راستای تأیید نتایج ما بود. همچنین در مطالعات دیگر از ارتباط اوتیسم با فاکتورهای التهابی مانند TNF و ILs بحث شده است (۳۲) که این نتایج نیز با نتایج به‌دست‌آمده مطالعه ما در انتولوژی بیولوژی که به ارتباط IL5,13, و تمایز و تنظیم سلول‌های Th2 و تنظیم سایتوکاین‌های مختلف و همچنین نتایج حاصل از مسیر KEGG هم‌راستا بود. از آن‌جا که عوامل و فاکتورهای مؤثر در فرایندهای التهابی در سرم و مایع مغزی نخاعی و امنیون افراد اوتیسم فراوان وجود دارد؛ این عوامل احتمالاً نقش مؤثرتری در بیماری اوتیسم نسبت به دیگر عوامل ایفا می‌کنند. به‌طور کلی در این مطالعه چند ژن جدید مرتبط با بیماری اوتیسم به‌دست آمد که سه مورد آنها EIF1AY و EIF2S3 ,EIF5A بودند که از عوامل مهم در مراحل مختلف فرایند پروتئین‌سازی یا ترجمه هستند که تغییرات در بیان این ژن‌ها می‌تواند در تولید پروتئین‌های لازم مؤثر در فرایند بیماری اوتیسم مؤثر باشد (33). ژن دیگر IL32 بود که به دلیل نقش در تولید فاکتورهای التهابی مانند TNFs می‌تواند در ایجاد التهاب در شکل‌گیری اوتیسم که با التهاب ارتباط قوی داشت نقشی اساسی ایفا کند و همچنین در فرایندهای فسفوریلاسیون به‌واسطه داشتن نواحی فسفریله نیز نقش ایفا می‌کند که آن را با عملکرد کینازها که در اوتیسم مؤثرند مرتبط می‌کند (34). ژن بعدی ARPC4-TTLL3 است که به‌عنوان جزو اتصال‌دهنده اکتین از کمپلکس Arp2/3 عمل می‌کند که در تنظیم پلیمریزاسیون اکتین نقش دارد و همراه با یک عامل تحریک‌کننده هسته فعال‌کننده (NPF) واسطه تشکیل شبکه‌های اکتین شاخه‌ای است که در ارتباط با اسکلت سلولی و فعالیت‌های سیتوپلاسمی و هسته‌ای سلول می‌باشد که براساس نتایج حاصل از انتولوژی و مسیرهای سیگنالینگ ارتباط مطلوبی با اوتیسم از خود نشان دارند. ژن LILRA5 دیگر ژن این مجموعه است که پروتئین کدگذاری‌شده توسط این ژن عضوی از خانواده گیرنده ایمونوگلوبولین مانند لکوسیت (LIR) است. اعضای خانواده LIR دارای عملکردهای فعال‌کننده و مهارکننده در لکوسیت‌ها هستند. نشان داده شده است که پیوند متقابل این پروتئین گیرنده روی سطح مونوسیت‌ها باعث ایجاد شار کلسیم و ترشح چندین سیتوکین پیش‌التهابی می‌شود که نشان‌دهنده نقش این پروتئین در تحریک پاسخ‌های ایمنی ذاتی است پس به دلیل نقش در ایجاد فرایندهای التهابی می‌تواند عامل مهمی در شکل‌گیری اوتیسم باشد(35). ژن دیگر XIST است که در غیرفعال‌سازی X اضافی در جنس ماده پستانداران نقش دارد بنابراین تعادل دوز ژنی بین نر و ماده را فراهم می‌کند. این ژن منحصراً از XIC کروموزوم X غیرفعال بیان می‌شود و برای شروع و گسترش غیرفعال‌سازی کروموزوم X ضروری است از این رو اختلال در عملکرد آن می‌تواند در فرایند رشد و تمایز بخش‌های مختلف جنینی اندام‌ها تأثیرات خطرناکی به‌جا بگذارد که در مطالعات بسیاری ارتباط این ژن و رفتارها و عملکردهای ناشی از اختلال مغزی افراد اوتیسمی با این ژن اثبات شده است. ژن RARA دیگر فاکتور به‌دست‌آمده است که این ژن نشان‌دهنده یک گیرنده هسته‌ای رتینوئیک اسید است. پروتئین کدگذاری‌شده، گیرنده آلفا رتینوئیک اسید، رونویسی را به روشی وابسته به لیگاند تنظیم می‌کند. این ژن در تنظیم رشد، تمایز، آپوپتوز و رونویسی ژن‌های مختلف نقش دارد. هترودایمرهای RXR-RAR با یک کمپلکس چند پروتئینی حاوی مهارکننده‌های رونویسی مرتبط می‌شوند که استیل‌زدایی هیستون، تراکم کروماتین و سرکوب رونویسی را القا می‌کنند. RARA نقش اساسی در تنظیم رشد سلول‌های زاینده ناشی از اسید رتینوئیک در طول اسپرم‌زایی دارد و ممکن است در سلول‌های سرتولی باعث بقا و توسعه اسپرماتوسیت‌های پروفاز میوز اولیه شود. در ارتباط با کورپرسورهای HDAC3، HDAC5 و HDAC7، در سرکوب microRNA-10a نقش دارد و در نتیجه پاسخ التهابی را تقویت می‌کند که این گونه در فرایند اوتیسم مؤثر است (36). آخرین ژن

موردبررسی TXLNG است که پروتئین کدگذاری‌شده به ناحیه ترمینال C اعضای خانواده سینتاکسین A1، A۳ و A۴ متصل می‌شود و ممکن است در انتقال وزیکول درون‌سلولی نقش داشته باشد. این ژن توسط لیپوپلی ساکارید تنظیم می‌شود و ممکن است محصول ژن در تنظیم چرخه سلولی نقش داشته باشد و با فاکتورهای رونویسی نیز در ارتباط می‌باشد که می‌تواند از طریق فرایندهای تنظیمی در رشد و نمو در فرایند اوتیسم تأثیرگذار باشد. پس به‌طور کلی همگی این ژن‌ها هرکدام از طریق مسیرهای عملکردی و برهمکنشی مختلفی به نوعی با فرایندهای شکل‌گیری و بیماری‌زایی در ارتباط بودند و در ایجاد عوارض و مشکلات ناشی از این بیماری نقش ایفا می‌کنند. مطالعه حاضر، کار اینسیلیکو و برمبنای ابزارهای بیوانفورماتیکی است که تأیید صحت بیشتر و اطمینان از نتایج آن نیازمند تحقیقات و فرایندهای آزمایشگاهی و بالینی مناسب می‌باشد.

به‌طور کلی می‌توان گفت شناسایی ژن‌های مختلف به‌طور مداوم و طی مطالعات مختلف در بیماری‌هایی نظیر اوتیسم ممکن است نشان‌دهنده نقطه شروع فراتحلیلی برای این نوع از بررسی‌ها و تجزیه‌وتحلیل‌ها در آینده باشد که محققان می‌توانند با استفاده از آنها به بررسی برهمکنش‌های ژنی بین ژن‌هایی که تحت تأثیر بیماری اوتیسم دچار تغییر بیان شده‌اند و دیگر ژن‌های مرتبط با آنها همانند آنهایی که در این کار متاناليز و فراتحلیل ما هم در بررسی ترانسکریپت‌ها و هم بررسی شبکه برهمکنش پروتئین/پروتئینی مسیرهای مؤثر جدیدی از بیماری‌هایی چون اوتیسم را پیدا کنند تا با تنظیم و مهار آنها بتوانند شیوه‌های درمانی مؤثرتر و نوینی از درمان را ارائه دهند.

تشکر و قدردانی

مقاله کمک و راهنمایی کردند، سپاسگزاریم. هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

از استادان گروه بیوشیمی دانشگاه چمران اهواز که در تهیه این

References

[1]. Liu J, Yao L, Zhang W, Xiao Y, Liu L, Gao X, Shah C, Li S, Tao B, Gong Q, Lui S. Gray matter abnormalities in pediatric autism spectrum disorder: a meta-analysis with signed differential mapping. European child & adolescent psychiatry. 2017;26(8):933-45.

[2]. MacDonald M, Hatfield B, Twardzik E. Child behaviors of young children with autism spectrum disorder across play settings. Adapted Physical Activity Quarterly. 2017;34(1):19-32.

[3]. Guo X, Duan X, Long Z, Chen H, Wang Y, Zheng J, Zhang Y, Li R, Chen H. Decreased amygdala functional connectivity in adolescents with autism: a resting-state fMRI study. Psychiatry Research: Neuroimaging. 2016;257:47-56.

[4]. Jiujias M, Kelley E, Hall L. Restricted, repetitive behaviors in autism spectrum disorder and obsessive–compulsive disorder: A comparative review. Child Psychiatry & Human Development. 2017 ;48(6):944-59.

[5]. Gross C. Defective phosphoinositide metabolism in autism. Journal of neuroscience research. 2017;95(5):1161-73.

[6]. Ghaffari MA, Mousavinejad E, Riahi F, Mousavinejad M, Afsharmanesh MR. Increased serum levels of tumor necrosis factor-alpha, resistin, and visfatin in the children with autism spectrum disorders: a case-control study. Neurology research international. 2016;2016.

[7]. Ronemus M, Iossifov I, Levy D, Wigler M. The role of de novo mutations in the genetics of autism spectrum disorders. Nature Reviews Genetics. 2014;15(2):133-41.

[8]. Theoharides TC, Tsilioni I, Patel AB, Doyle R. Atopic diseases and inflammation of the brain in the pathogenesis of autism spectrum disorders. Translational psychiatry. 2016;6(6):e844.

[9]. Croonenberghs J, Bosmans E, Deboutte D, Kenis G, Maes M. Activation of the inflammatory response system in autism. Neuropsychobiology. 2002;45(1):1-6.

[10]. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. Journal of Allergy and clinical immunology. 2005;115(5):911-9.

[11]. Xu N, Li X, Zhong Y. Inflammatory cytokines: potential biomarkers of immunologic dysfunction in autism spectrum disorders. Mediators of inflammation. 2015;2015.

[12]. Rahman MR, Islam T, Zaman T, Shahjaman M, Karim MR, Huq F, Quinn JM, Holsinger RD, Gov E, Moni MA. Identification of molecular signatures and pathways to identify novel therapeutic targets in Alzheimer's disease: Insights from a systems biomedicine perspective. Genomics. 2020;112(2):1290-9.

[13]. Rahman MR, Islam T, Turanli B, Zaman T, Faruquee HM, Rahman MM, Mollah MN, Nanda RK, Arga KY, Gov E, Moni MA. Network-based approach to identify molecular signatures and therapeutic agents in Alzheimer's disease. Computational biology and chemistry. 2019;78:431-9.

[14]. Ch'ng C, Kwok W, Rogic S, Pavlidis P. Meta-analysis of gene expression in autism spectrum disorder. Autism Research. 2015;8(5):593-608.

[15]. Oh DH, Kim IB, Kim SH, Ahn DH. Predicting autism spectrum disorder using blood-based gene expression signatures and machine learning. Clinical Psychopharmacology and Neuroscience. 2017;15(1):47.

[16]. Forés-Martos J, Catalá-López F, Sánchez-Valle J, Ibáñez K, Tejero H, Palma-Gudiel H, Climent J, Pancaldi V, Fañanás L, Arango C, Parellada M. Transcriptomic metaanalyses of autistic brains reveals shared gene expression and biological pathway abnormalities with cancer. Molecular autism. 2019;10(1):1-6.

[17]. Sun C, Yuan Q, Wu D, Meng X, Wang B. Identification of core genes and outcome in gastric cancer using bioinformatics analysis. Oncotarget. 2017;8(41):70271.

[18]. Moradifard S, Hoseinbeyki M, Ganji SM, Minuchehr Z. Analysis of microRNA and gene expression profiles in Alzheimer's disease: a meta-analysis approach. Scientific reports. 2018;8(1):1-7.

[19]. Ritchie ME, Phipson B, Wu DI, Hu Y, Law CW, Shi W, Smyth GK. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. Nucleic acids research. 2015;43(7):e47.

[20]. Yu X, Liu H, Hamel KA, Morvan MG, Yu S, Leff J, Guan Z, Braz JM, Basbaum AI. Dorsal root ganglion macrophages contribute to both the initiation and persistence of neuropathic pain. Nature communications. 2020;11(1):1-2.

[21]. Kolde R, Laur S. RobustRankAggreg: Methods for robust rank aggregation. R package version. 2013;1:254.
[22]. Yang J, Han S, Huang W, Chen T, Liu Y, Pan S, Li S. A meta-analysis of microRNA expression in liver cancer. PloS one. 2014;9(12):e114533.
[23]. Smyth GK. Linear models and empirical bayes methods for assessing differential expression in microarray experiments. Statistical applications in genetics and molecular biology. 2004;3(1).
[24]. Ritchie ME, Phipson B, Wu DI, Hu Y, Law CW, Shi W, Smyth GK. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. Nucleic acids research. 2015;43(7):e47.
[25]. Jeanmougin M, De Reynies A, Marisa L, Paccard C, Nuel G, Guedj M. Should we abandon the t-test in the analysis of gene expression microarray data: a comparison of variance modeling strategies. PloS one. 2010;5(9):e12336.
[26]. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome biology. 2014;15(12):1-21.
[27]. Huang TT, Gonzales CB, Gu F, Hsu YT, Jadhav RR, Wang CM, Redding SW, Tseng CE, Lee CC, Thompson IM, Chen HR. Epigenetic deregulation of the anaplastic lymphoma kinase gene modulates mesenchymal characteristics of oral squamous cell carcinomas. Carcinogenesis. 2013;34(8):1717-27.
[28]. Rossignol DA, Frye RE. A review of research trends in physiological abnormalities in autism spectrum disorders: immune dysregulation, inflammation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction and environmental toxicant exposures. Molecular psychiatry. 2012;17(4):389-401.
[29]. Abrahams BS, Geschwind DH. Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. Nature reviews genetics. 2008;9(5):341-55.
[30]. Gross C. Defective phosphoinositide metabolism in autism. Journal of neuroscience research. 2017;95(5):1161-73.
[31]. Bakos J, Bacova Z, Grant SG, Castejon AM, Ostatnikova D. Are molecules involved in neuritogenesis and axon guidance related to autism pathogenesis?. Neuromolecular medicine. 2015;17(3):297-304.
[32]. Mokhtari B, Karimzadeh F. A review on the Authism with the most approach on the critical biomarkers. Razi Journal of Medical Sciences. 2018;24(165):35-46.
[33]. Marintchev A, Kolupaeva VG, Pestova TV, Wagner G. Mapping the binding interface between human eukaryotic initiation factors 1A and 5B: a new interaction between old partners. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2003;100(4):1535-40.
[34]. Mabilleau G, Sabokbar A. Interleukin-32 promotes osteoclast differentiation but not osteoclast activation. PloS one. 2009;4(1):e4173.
[35]. Lewis Marffy AL, McCarthy AJ. Leukocyte immunoglobulin-like receptors (LILRs) on human neutrophils: modulators of infection and immunity. Frontiers in immunology. 2020:857.
[36]. Kin Ting Kam R, Deng Y, Chen Y, Zhao H. Retinoic acid synthesis and functions in early embryonic development. Cell & bioscience. 2012;2(1):1-4.