

Evaluation of Protein Complexes in Muscular Atrophy Using Interaction Map Analysis

Mostafa Rezaei Tavirani¹,
Farshad Okhovatian²,
Mona Zamanian Azodi³

¹ Professor, Proteomics Research Center, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Professor, Physiotherapy Research Centre, School of Rehabilitation, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ PhD in Applied Proteomics, Proteomics Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received June 18, 2018 ; Accepted January 9, 2018)

Abstract

Background and purpose: Muscular atrophy is a condition derived from different diseases and aging. Molecular study of the disease condition can help in developing diagnostic methods and treatment approaches. In this study, protein interaction network was analyzed to understand molecular events at protein levels.

Materials and methods: In this experimental study, the network was constructed and analyzed using Cytoscape and its plug-in STRING. In addition, Network Analyzer and MCODE were applied to analyze the centrality and clustering, respectively. Bingo explored the gene ontology of the determined protein complexes.

Results: The findings showed five key genes in the network of atrophy including AKT1, ALB, DMD, SMN1, and SMN2. Furthermore, six clusters of proteins were obtained from which two significant ones were considered for gene ontology analysis.

Conclusion: All the central proteins, AKT1, ALB, DMD, SMN1, and SMN2 are present in the clusters of our interests. It can be concluded that the panel of biomarkers introduced could be of great help in understanding the pathology of muscular atrophy.

Keywords: atrophy, protein interaction maps, protein clusters, biomarkers

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (173): 1-10 (Persian).

* **Corresponding Author: Mona Zamanian Azodi** – Proteomics Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran (E-mail: mona.azodi@gmail.com)

بررسی خوشه‌های پروتئینی در بیماری آتروفی عضلانی با استفاده از آنالیز شبکه تعامل

مصطفی رضایی طاویرانی¹

فرشاد اخوتیان²

مونا زمانیان عضدی³

چکیده

سابقه و هدف: یکی از بیماری‌های شایع ناشی از ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها و کهولت سن، آتروفی عضلانی است. بررسی اتفاقات مولکولی موثر در ایجاد بیماری می‌تواند اطلاعات مفیدی در خصوص ارتقا روش‌های درمانی و حمایتی از بیماران فراهم نماید. این مطالعه با هدف بررسی تغییرات مولکولی در سطح ارتباطات پروتئینی با ترسیم و آنالیز شبکه تعامل پروتئینی بیماری آتروفی عضلانی، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape و منبع STRING شبکه برهم کنش پروتئین‌ها رسم و به کمک الگوریتم‌های وابسته به Cytoscape آنالیز شاخص‌های مرکزیت و خوشه‌های پروتئینی به کمک Network analyzer و MCODE انجام گردید. هستی‌شناسی کمپلکس‌های شبکه به کمک نرم‌افزار Bingo بررسی شد.

یافته‌ها: تعداد 5 پروتئین مرکزی شامل AKT1، ALB، DMD، SMN1 و SMN2 در شبکه شناسایی، و 6 خوشه پروتئینی که 2 خوشه اول آن‌ها برای آنالیز هستی‌شناسی در نظر گرفته شد معرفی گردید.

استنتاج: کلیه پروتئین‌های مهم در این خوشه‌ها به صورت پراکنده وجود داشتند. به نظر می‌رسد که پانل بیومارکری معرفی شده شامل AKT1، ALB، DMD، SMN1 و SMN2 می‌تواند در درک بهتر بیماری موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: آتروفی، شبکه برهم کنش پروتئینی، خوشه‌های پروتئینی، بیومارکرها

مقدمه

در سال دارد (2،1). در آتروفی عضلانی حجم عضلات فرد بیمار کاهش می‌یابد و این تحلیل عضلانی مربوط به کاهش اندازه سلول‌های آن ناشی از تخریب اندامک‌ها، سیتوپلاسم و پروتئین‌ها است (3). تغییرات مولکولی زیادی مرتبط با آتروفی عضلانی گزارش شده است (4). ارتباط بین بیماری و پروتئین‌ها و مسیرهایی که در این رابطه فعال می‌شوند، توجه بسیاری از محققین

عضله علاوه بر این که در انقباض و نگه‌داری بدن دخیل است، منبع سرشاری از اسیدهای آمینه می‌باشد که در مواقع ضروری در اختیار بدن قرار می‌گیرند. مانند سایر بخش‌های بدن، عضلات ممکن است دچار اختلالاتی شوند که بدن را دچار مشکلات عدیده‌ای نماید. یکی از حالت‌های غیرعادی آتروفی عضلانی است که شیوعی بین 19/8 تا 25/1 در میان 100000 نفر

E-mail: mona.azodi@gmail.com

مؤلف مسئول: مونا زمانیان عضدی - تهران: تجریش، میدان قدس، ابتدای خیابان دربند، دانشکده پیراپزشکی شهید بهشتی

1. استاد، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

2. استاد، مرکز تحقیقات فیزیوتراپی، دانشکده توانبخشی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

3. دکتری تخصصی پروتئومیکس کاربردی، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 1397/3/28 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1397/4/5 تاریخ تصویب: 1397/11/9

مولکولی را جلب کرده است. این طور به نظر می‌رسد که ژن‌های atrogen-1/MAFbx و MuRF1 نقش کلیدی در ایجاد بیماری دارد. به علاوه به نقش ژن‌های مربوط به لیزوزومال پروتئاز، فاکتورهای رونویسی، تنظیم‌کننده بیان پروتئین‌ها و آنزیم‌ها مرتبط با آتروفی در این بیماری اشاره شده است که تعیین اهمیت نقش هر کدام مستلزم بررسی‌های بیش‌تری می‌باشد (3). عوامل مختلفی در ایجاد آتروفی عضلانی دخیل می‌باشند که یکی از مهم‌ترین این عوامل، ابتلا به سرطان‌های مختلف است که در پی ابتلا به آن‌ها آتروفی عضلانی ایجاد شده و در نهایت منجر به مرگ فرد می‌گردد (5). این گونه پیچیدگی‌ها ایجاب می‌نماید به منظور یافتن شیوه‌های موثرتر درمانی، شناخت بهتری از مکانیسم بیماری حاصل شود (6). در حال حاضر روش‌های درمانی قابلیت درمان بیماری را ندارند و تنها در تخفیف علائم و مشکلات همراه آن موثرند که می‌توان به روش دارو درمانی (کورتیکواستروئیدها)، ورزش و فیزیوتراپی اشاره نمود (7،8).

مطالعات بیوانفورماتیکی دستیابی به اطلاعات مفیدی در ارتباط با تحلیل رفتارهای مولکولی در حالت بیماری را ممکن می‌سازد و یکی از روش‌های مهم آنالیز اطلاعات مولکولی (در سطح پروتئینی، ژنی و متابولیتی) بررسی شبکه تعامل پروتئینی است (9). پروتئین‌ها به صورت واحدهای منفرد نمی‌توانند عملکرد مناسبی را اجرا نمایند بلکه آنچه باعث بروز یک فنوتیپ خاص می‌گردد، مجموعه‌ای از برهم‌کنش‌های پروتئینی است (10). تغییر بیان پروتئین معینی می‌تواند موجب بروز تغییرات مهمی در مسیرهای زیستی گردد به شرط آن که آن پروتئین دارای شرایط خاص توپولوژیکی باشد (11). خصوصیات توپولوژیکی یک پروتئین نشان‌دهنده اهمیت آن پروتئین در تعامل با پروتئین‌های دیگر به منظور ایفای نقش در اجرا و کنترل یک فرایند زیستی می‌باشد. اگر یک پروتئین از نظر ارتباطی دارای اهمیت بالایی باشد، می‌تواند نقش حیاتی در استواری

شبکه تعاملی که آن پروتئین خود جزئی از آن شبکه است بازی نماید (12). در مواردی که پروتئین‌های کلیدی یک شبکه دچار تغییرات بیانی می‌گردند، یک فنوتیپ غیر سالم می‌تواند شکل بگیرد و در صورتی که این تغییرات عمده باشند، منجر به بروز بیماری می‌شوند (13،14). بنابراین بررسی برهم‌کنش پروتئینی می‌تواند اطلاعات مفیدی را در خصوص امکان شروع یک بیماری و یا تداوم آن فراهم نماید، در این مطالعه به بررسی تغییر در تعامل پروتئین-پروتئین در بیماری آتروفی عضلانی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، با بیماری در بخش import network مربوط به پایگاه داده STRING واقع در نرم‌افزار Cytoscape جستجو گردید. پایگاه داده STRING, version 10.5 یک منبع معتبر برای دریافت اطلاعات شبکه تعامل پروتئینی است که از طریق سایت <http://string-db.org/> قابل دسترس است (15). این پایگاه داده دارای چهار محل مطمئن برای استخراج اطلاعات در Cytoscape است که شامل، جستجوی پروتئین، جستجوی بیماری، جستجو در PubMed و جستجو در STITCH می‌باشد. در این مطالعه از دومین گزینه یعنی جستجوی بیماری استفاده شد. بعد از یافتن نام بیماری، تعداد 100 پروتئین مرتبط با بیماری (confidence 0/5 score cutoff=) از پایگاه داده استخراج گردید. با توجه به این که تنها 89 مورد از پروتئین‌های استخراج شده توانستند در ساختار شبکه مشارکت نمایند و 11 پروتئین دیگر به صورت واحدهای منفرد ظاهر شدند، انتخاب 100 پروتئین ورودی برای تشکیل شبکه منطقی است و نیازی به استخراج پروتئین‌های بیش‌تر نمی‌باشد. با استفاده از نرم‌افزار 3.4 Cytoscape شبکه تعامل پروتئینی تشکیل و اطلاعات مربوط به آنالیز آن به دست آمد (16). گره‌ها در شبکه نشان‌دهنده پروتئین‌ها و ارتباط میان آن‌ها ناشی از امکان اتصالات فیزیکی مابین است.

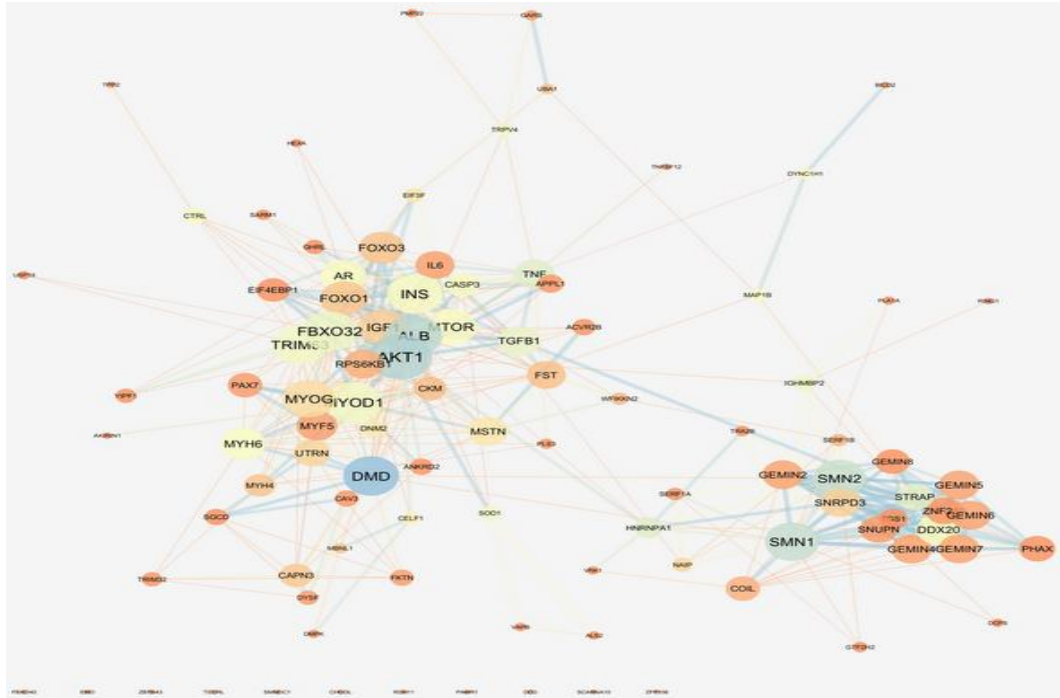
نرم افزار Bingo برای آنالیز هستی‌شناسی ژنی خوشه‌های پروتئینی با رتبه بالا از منبع GOSlim و تست آماری Hyper-geometric برای تعیین $p < 0/05$ استفاده شد. این نرم‌افزار در Cytoscape ادغام شده است و در این مطالعه ارگانسیم مورد استفاده برای استخراج داده‌ها Homo Sapiens انتخاب گردید. برای تست FDR، شاخص Benjamini-Hochberg به کار برده شد و اطلاعات بدست آمده هستی‌شناسی ژنی به صورت سلسه مراتبی ارائه گردیده است (21).

یافته ها

شبکه تعامل پروتئینی بیماری آتروفی با استفاده از منبع STRING ترسیم شد و پروتئین‌های مرتبط با این بیماری با درجه ارتباطاتی مختلف استخراج گردید. ارتباط بین این پروتئین‌ها با لحاظ $Cutoff > 0/5$ منظور گردید. این اطلاعات تعاملی را منبع STRING از منابع مختلف جمع‌آوری می‌کند که شامل منابع Experimental و text-mining است (تصویر شماره 1). اطلاعات به‌دست آمده از آنالیز شبکه تعاملی نشان داد که تعداد محدودی از گره‌ها دارای خواص مرکزیت برجسته می‌باشند. مشخصات این پروتئین‌های مرکزی در جدول شماره 1 آورده شده است. در این جدول 10 پروتئین که بالاترین مقدار مرکزیت را داشتند ارائه و از میان آن‌ها تعدادی به عنوان پروتئین کلیدی مشخص شدند. بررسی شبکه نشان می‌دهد که شبکه از 6 خوشه پروتئینی تشکیل شده است که در واقع مناطق پر تراکم از نظر ارتباطات پروتئینی می‌باشند. دو خوشه اول که بالاترین نمره را به خود اختصاص دادند در تصویر شماره 2 آورده شده است. عناصر این نقاط پر تراکم می‌توانند از نظر خواص زیستی مشابه باشند. بررسی هستی‌شناسی مشترک خوشه‌ها توسط Bingo برای دو خوشه اول که بالاترین درجات را داشته‌اند، انجام گرفت (تصاویر شماره 3 و 4).

شبکه بر اساس دو شاخص مرکزیت شامل درجه (Degree) و گلوگاه (Betweenness) توسط نرم‌افزار NetworkAnalyzer موجود در Cytoscape تجزیه و تحلیل شد. پروتئین‌هایی با مقادیر بالای این شاخص‌ها نقش مهمی در استحکام شبکه دارند. گره‌های واجد درجه بالا در شبکه به عنوان hub و پروتئین‌های دارای مقدار بالای گلوگاهی به عنوان bottleneck شناخته می‌شوند. پروتئین‌هایی که دارای مقادیر بالایی از هر دو شاخص مورد نظر بودند به عنوان عناصر کلیدی Hub-bottlenecks در نظر گرفته شدند (17). برای ایجاد اطمینان بیش‌تر از مرکزیت گره‌ها (پروتئین‌ها)، شاخص مرکزیت Closeness نیز مورد توجه قرار گرفت، بدین ترتیب که 10 درصد بالاترین امتیازهای مربوط به این شاخص‌ها برای انتخاب پروتئین‌ها در نظر گرفته شد. این پروتئین‌ها می‌توانند نقش کلیدی در تشکیل و انسجام شبکه بیماری مورد مطالعه ایفا نمایند (18). بعد از مشخص شدن این عناصر کلیدی، محل‌هایی متراکم شبکه که به خوشه موسوم‌اند، بررسی شدند. این مناطق در واقع، بخش‌هایی می‌باشند که در آن‌جا ارتباط پروتئین‌ها با هم دیگر زیاد است و شامل پروتئین‌هایی می‌باشند که از نظر خصوصیات زیستی می‌توانند بسیار مشابه باشند. این کمپلکس‌ها می‌توانند بخشی از یک مسیر زیستی را تشکیل دهند (19).

خوشه‌های پروتئینی توسط الگوریتم MCODE v1.4.2 (<ftp://ftp.mshri.on.ca/pub/BIND/Tools/MCODE>) تعیین و بررسی گردید (20). این نرم‌افزار قابلیت مشخص کردن محل‌های پر تراکم را دارد. در این کمپلکس‌ها، پروتئین‌هایی که بالاترین امتیاز ارتباطی را داشتند به عنوان پروتئین seed معرفی شدند. آنالیز توسط این نرم‌افزار بر پایه شاخص‌های آماری Degree cutoff: 2, Node Score cutoff: 0.2, K-core: 2 Max Depth: 100 انجام شد. تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژنی شامل جایگاه سلولی، عملکرد مولکولی و فرایندهای زیستی مرتبط با خوشه‌های معنی‌دار انجام پذیرفت و از

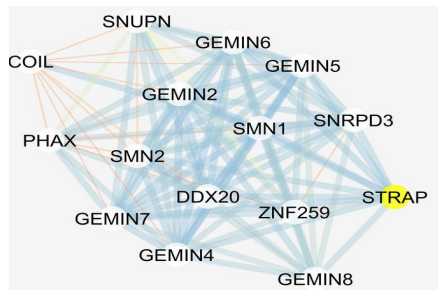


تصویر شماره 1: شبکه تعامل پروتئینی بیماری آتروفی عضلانی بعد از آنالیز با Network Analyzer؛ تغییر رنگ از نارنجی به آبی نشان دهنده تغییر میزان (BC) betweenness centrality از زیاد به کم است. تغییر اندازه گره ها از کم به زیاد نشان دهنده افزایش مقدار Degree است. در این شبکه 100 گره ورودی پروتئین های مرتبط با بیماری آتروفی بوده اند که 89 مورد از آن ها وارد شبکه شدند و بقیه به صورت منفرد هستند. تعداد 452 مورد پال در شبکه تعیین شده است

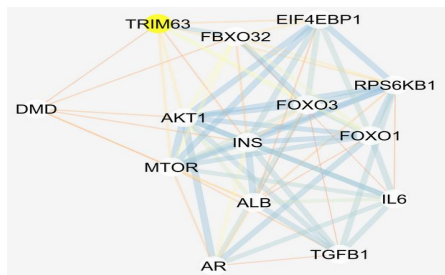
جدول شماره 1: مشخصات پروتئین های رتبه بالا در شبکه تعاملات بیماری آتروفی عضلانی

ردیف	نام ژن	نام پروتئین	D	BC	DS	CC
1	AKT1*	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1	30	0/16	1/87	0/53
2	ALB*	albumin	26	0/14	1/43	0/51
3	MYO1	myogenic differentiation 1	26	0/04	2/55	0/47
4	DMD*	dystrophin	25	0/23	2/77	0/53
5	FBXO32	F-box protein 32	25	0/05	3/38	0/47
6	INS	insulin	25	0/03	1/64	0/48
7	TRIM63	tripartite motif containing 63, E3 ubiquitin protein ligase	24	0/04	3/18	0/46
8	SMN1*	survival of motor neuron 1, telomeric	24	0/13	3/95	0/45
9	SMN2*	survival of motor neuron 2, centromeric	23	0/11	3/93	0/44
10	MYOG	myogenin (myogenic factor 4)	23	0/01	2/46	0/46

- پروتئین ها براساس شاخص درجه مرتب شده اند.
* : پروتئین های Hub-bottleneck می باشند

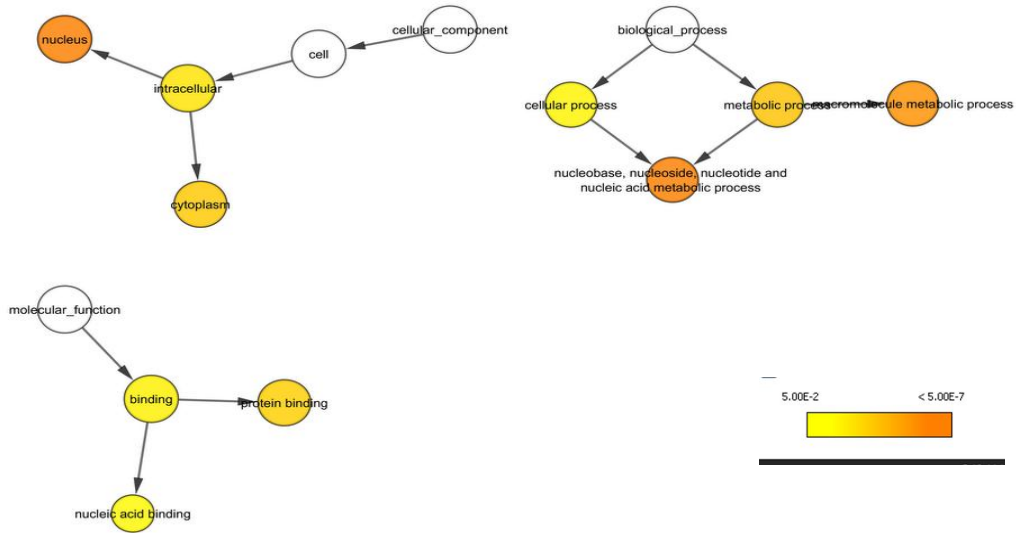


الف

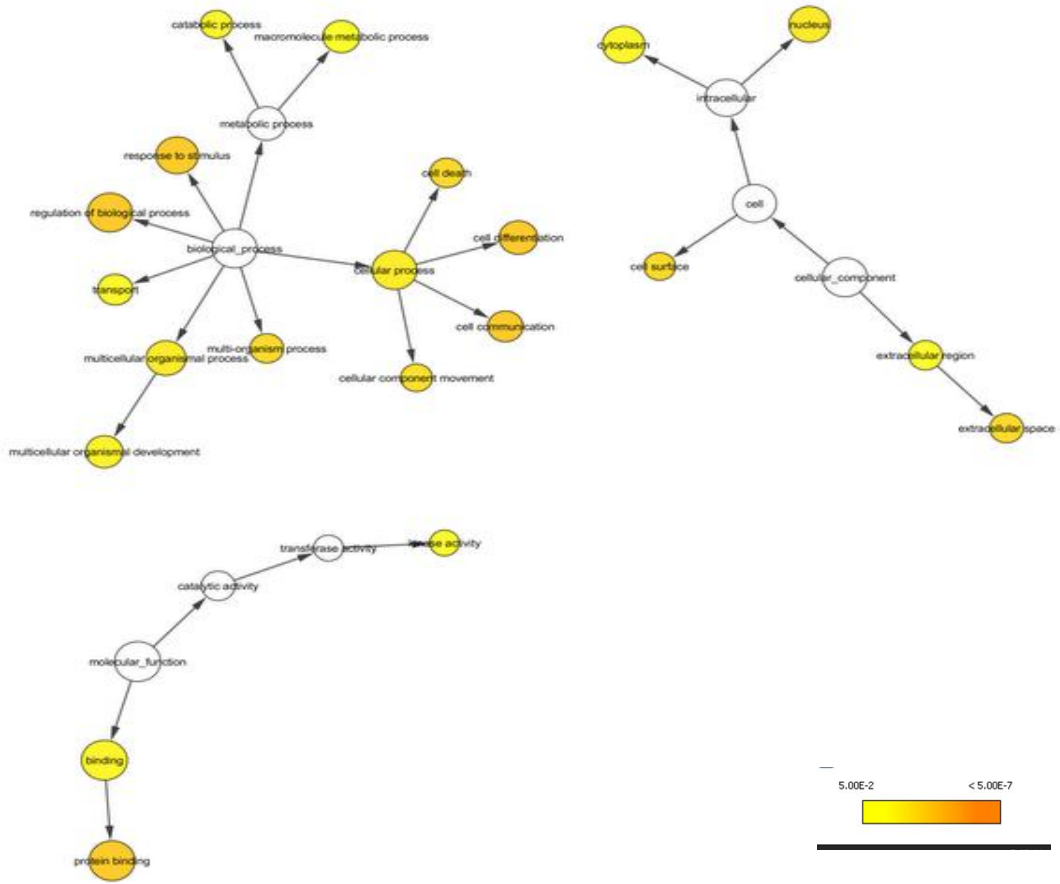


ب

تصویر شماره 2: خوشه های بالایی رتبه 10 در اینجا مشخص شده اند. اتصالاتی که درجه بالایی داشته اند با رنگ آبی و پروتئین seed با رنگ زرد مشخص شده اند، الف: خوشه پروتئینی 1 که رتبه آن 13/85 است، ب: خوشه پروتئینی 2 که رتبه آن 10/92 است



تصویر شماره 3: آنالیز هستی شناساس ژنی (محل سلولی، عملکرد مولکولی و مسیر زیستی) برای خوشه پروتئینی 1. تغییر رنگ نشان دهنده تغییر مقدار P-value است



تصویر شماره 4: آنالیز هستی شناساس ژنی (محل سلولی، عملکرد مولکولی و مسیر زیستی) برای خوشه پروتئینی 2. تغییر رنگ نشان دهنده تغییر مقدار P-value است

بحث

تغییرات مولکولی نقش مهمی در ایجاد اختلال آتروفی عضلانی بازی می کنند که می توان از تغییر در بیان پروتئین های مرتبط با بیماری آتروفی نام برد (22، 23). از بین این پروتئین ها، تعدادی می توانند نقش مهم تری در ایجاد بیماری داشته باشند. این پروتئین ها ارتباطات بسیاری در سطح تعاملات مولکولی دارند و می توانند موجبات بروز اختلال در بسیاری از عملکردهای سلولی شوند. با ایجاد این اختلالات، تغییرات عمده ای در سطح فنوتیپی اعمال می شود و بیماری به وجود می آید (24). با توجه به این نکته، بررسی پروتئین ها از نظر نحوه ارتباطات در شناخت بهتر مکانیسم بیماری های مختلف دارای ارزش فراوان است. به علاوه با مشخص شدن پروتئین های کلیدی و مسیرهایی که در آن شرکت می کنند می توان اهداف دارویی احتمالی را شناسایی نمود (25). در این مطالعه شبکه تعامل پروتئینی بیماری آتروفی عضلانی ترسیم و آنالیز شده و نقش کلیدی تعدادی از پروتئین ها دخیل در ایجاد بیماری مشخص شده است. همچنین مسیرهای زیستی مهمی که می توانند در ارتباط با این بیماری باشند مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به تصویر شماره 1، نمایی از شبکه تعاملی پروتئین های دخیل در آتروفی عضلانی ترسیم و شاخص های مرکزیت مورد توجه قرار گرفته اند. براساس تغییر اندازه و رنگ منطبق با درجه و *Betweenness centrality*، می توان پروتئین های کلیدی را مشاهده نمود. در در جدول شماره 1، مقادیر این شاخص ها برای 10 پروتئین که بیش ترین مقدار درجه را داشته اند آورده شده است. از میان این پروتئین ها آنهایی که بیش ترین مقدار درجه و *Betweenness centrality* را دارند، *hub-bottleneck*ها هستند. لحاظ شدن شاخص *closeness* نشان می دهد که *hub-bottleneck*ها با در نظر گرفتن این شاخص نیز در صدر سایر گره های شبکه قرار دارند. این پروتئین ها شامل *SMN2*، *SMN1*، *DMD*، *ALB*، *AKT1* بوده که می توانند همان پروتئین های کلیدی و مهم در بیماری

آتروفی باشند. دخالت این پروتئین ها به عنوان پروتئین های مهم در آتروفی عضلانی در مطالعات قبلی گزارش شده است. در بررسی انجام شده اهمیت ژن های خانواده (ژن بقای نرون حرکتی) شامل *SMN1* و *SMN2* در بیماران مبتلا به بیماری (آتروفی عضلانی ناشی از بخش نزدیک نخاع) تایید شده است (16، 29-26). آنالیز انجام شده نشانگر ارتباط تنگاتنگ این پروتئین ها با بیماری آتروفی است و بالاترین درجه ارتباط بدست آمده مربوط به پروتئین *SMN1* است. به نظر می رسد این پروتئین ها نسبت به سایر پروتئین های گزارش شده مرتبط با آتروفی از جایگاه مهم تری برخوردار هستند. آنالیزهای بیش تر در سطح خوشه بندی پروتئین ها نشان می دهد که این 5 پروتئین در دو خوشه اول حضور دارند. آنالیز خوشه بندی در تصویر شماره 2 نشان داده شده است. پروتئین های *seed* در خوشه اول و دوم به ترتیب، *STRAP* و *TRIM63* می باشند. این پروتئین ها دارای بیش ترین ارتباطات در خوشه ها هستند و دارای اهمیت بالایی می باشند. براساس بررسی هستی شناسی ژنی در تصاویر شماره 3 و 4 که به ترتیب مربوط به خوشه های 1 و 2 می باشند، نشان داده شده است که هر دو کمپلکس به طور معنی داری در ایجاد اتصالات پروتئینی نقش دارند. کمپلکس 1، نقش مهمی در مسیرهای متابولیسم نوکلوزید، نوکلئوبیس، نوکلوتید و اسیدهای نوکلئیک بازی می کند و محل پروتئین های آن عمدتاً در هسته سلول است. در کمپلکس 2، پروتئین ها در مسیرهای زیستی متنوعی به طور معنی دار شرکت دارند که این مسیرها شامل پاسخ به محرک، تنظیم مسیرهای زیستی، تمایز سلولی و ارتباطات سلولی است که محل آن ها در فضای خارج سلولی است. در گزارش *Parolo* و همکاران که از طریق پروتئومیکس و آنالیز شبکه به دست آمده است، تغییراتی در فرایندهای زیستی مانند مرگ برنامه ریزی شده سلولی، سیگنال دهی در سیستم ایمنی، و سیگنال دهی در پشتیبانی از سلول های عصبی در بیماران آتروفی عضلانی دوشن گزارش

سپاسگزاری

این مطالعه با کد اخلاق IR.SBMU.RETECH.REC.13950575 بر گرفته از پایان نامه مقطع دکتری مونا زمانیان عضدی می باشد و از تمامی کسانی که در این مطالعه ما را یاری نمودند نهایت تقدیر و تشکر را داریم.

گردیده است (30). این تغییرات می توانند در راستای تاثیر عوامل تشکیل دهنده کمپلکس 2 در نظر گرفته شوند. به نظر می رسد پانل بیومارکری معرفی شده می تواند در درک بیش تر بیماری و نیز احتمالاً در معرفی اهداف دارویی مفید باشد، اگر چه انجام تحقیقات گسترده تر در عرصه بالینی می تواند در جهت اعتبار بخشی به این پانل بسیار موثر باشد.

References

- Theadom A, Rodrigues M, Roxburgh R, Balalla S, Higgins C, Bhattacharjee R, et al. Prevalence of muscular dystrophies: a systematic literature review. *Neuroepidemiology* 2014; 43(3-4): 259-268.
- Bonaldo P, Sandri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Dis Model Mech* 2013; 6(1): 25-39.
- Sandri M. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology (Bethesda)* 2008; 23(3): 160-170.
- Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK, Nunez L, Clarke BA, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 2001; 294(5547): 1704-1708.
- Zhou X, Wang JL, Lu J, Song Y, Kwak KS, Jiao Q, et al. Reversal of cancer cachexia and muscle wasting by ActRIIB antagonism leads to prolonged survival. *Cell* 2010; 142(4): 531-543.
- Khal J, Hine AV, Fearon KCH, Dejong CHC, Tisdale MJ. Increased expression of proteasome subunits in skeletal muscle of cancer patients with weight loss. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37(10): 2196-2206.
- Talan J. Muscular Dystrophy Treatments. *Neurology Now*. 2011; 7(4): 39.
- Vignos PJ, Watkins MP. The effect of exercise in muscular dystrophy. *JAMA* 1966; 197(11): 843-848.
- Rezaei-Tavirani M, Okhovatian F, Azodi MZ, Tavirani MR. Duchenne muscular dystrophy (DMD) protein-protein interaction mapping. *Iran J Child Neurol* 2017; 11(4): 7-14.
- Rezaei Tavirani M, Vafaii R, Mansouri V, Zamanian Azodi M. Protein-protein interaction network analysis of major depression disorder via proteomic approach from cerebrospinal fluid sample. *Koomesh* 2017; 19(3): 577-583 (Persian).
- Azodi MZ, Peyvandi H, Nejad MR, Safaei A, Rostami K, Vafae R, et al. Protein-Protein Interaction Network of Celiac Disease. *Gastroenterol Hepatol Bed to Bench* 2016; 9(4): 268-277 (Persian).
- Zamanian Azodi M, Rezaei Tavirani M, Arefi Oskouie A, Hamdieh M, Derakhshan MK, Ahmadzadeh A, et al. Fluoxetine Regulates Ig Kappa Chain C Region Expression Levels in the Serum of Obsessive-Compulsive Disorder Patients: A proteomic Approach. *Iran J Pharm Res* 2017; 16(3): 1264-1271.
- Safaei A, Rezaei Tavirani M, Arefi Oskouie A, Zamanian Azodi M, Mohebbi SR, Nikzamir AR. Protein-protein interaction network analysis of cirrhosis liver disease. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2016; 9(2): 114-123 (Persian).
- Zamanian-Azodi M, Mortazavi-Tabatabaei SA, Mansouri V, Vafae R. Metabolite-protein interaction (MPI) network analysis of

- obsessive-compulsive disorder (OCD) from reported metabolites. *Arvand Journal of Health and Medical Sciences* 2016; 1(2): 43223 (Persian).
15. Szklarczyk D, Morris JH, Cook H, Kuhn M, Wyder S, Simonovic M, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible. *Nucleic Acids Res* 2017; 45(1): D362-D368.
 16. Monani UR, Sendtner M, Coover DD, Parsons DW, Andreassi C, Le TT, et al. The human centromeric survival motor neuron gene (SMN2) rescues embryonic lethality in *Smn*^{-/-} mice and results in a mouse with spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 2000; 9(3): 333-339.
 17. Yu H, Kim PM, Sprecher E, Trifonov V, Gerstein M. The importance of bottlenecks in protein networks: correlation with gene essentiality and expression dynamics. *PLoS Comput Biol* 2007; 3(4): e59.
 18. Rezaei-Tavirani M, Rezaei-Tavirani M, Mansouri V, Mahdavi SM, Valizadeh R, Rostami-Nejad M, et al. Introducing crucial protein panel of gastric adenocarcinoma disease. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2017; 10(1): 21- 28 (Persian).
 19. Rual JF, Venkatesan K, Hao T, Hirozane-Kishikawa T, Dricot A, Li N, et al. Towards a proteome-scale map of the human protein-protein interaction network. *Nature* 2005; 437(7062): 1173-1178.
 20. Bader GD, Hogue CW. An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks. *BMC Bioinformatics* 2003; 4(1): 2.
 21. Maere S, Heymans K, Kuiper M. BiNGO: a Cytoscape plugin to assess overrepresentation of gene ontology categories in biological networks. *Bioinformatics* 2005; 21(16): 3448-3449.
 22. Lee K, Park JY, Yoo W, Gwag T, Lee JW, Byun MW, et al. Overcoming muscle atrophy in a hibernating mammal despite prolonged disuse in dormancy: proteomic and molecular assessment. *J Cell Biochem* 2008; 104(2): 642-656.
 23. Jackman RW, Kandarian SC. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287(4): C834-C843.
 24. Zamanian Azodi M, Rezaei Tavirani M, Rahmati Rad S, Hasanzadeh H, Tavirani MR, Seyyedi SS. Protein-Protein Interaction Network could reveal the relationship between the breast and colon cancer. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2015; 8(3): 215-224 (Persian).
 25. Yıldırım MA, Goh KI, Cusick ME, Barabási AL, Vidal M. Drug—target network. *Nat Biotechnol* 2007; 25(10): 1119-1126.
 26. Peng XD, Xu PZ, Chen ML, Hahn-Windgassen A, Skeen J, Jacobs J, et al. Dwarfism, impaired skin development, skeletal muscle atrophy, delayed bone development, and impeded adipogenesis in mice lacking Akt1 and Akt2. *Genes Dev* 2003; 17(11): 1352-1365.
 27. Billard C, Gillet P, Signoret J, Uicaut E, Bertrand P, Fardeau M, et al. Cognitive functions in Duchenne muscular dystrophy: a reappraisal and comparison with spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord* 1992; 2(5): 371-378.
 28. Sanaka M, Takano K, Shimakura K, Koike Y, Mineshita S. Serum albumin for estimating creatinine clearance in the elderly with muscle atrophy. *Nephron* 1996; 73(2): 137-144.
 29. Le TT, Pham LT, Butchbach ME, Zhang HL, Monani UR, Coover DD, et al. SMN Δ 7, the

major product of the centromeric survival motor neuron (SMN2) gene, extends survival in mice with spinal muscular atrophy and associates with full-length SMN. *Hum Mol Genet* 2005; 14(6): 845-857.

30. Parolo S, Marchetti L, Lauria M, Misselbeck K, Scott-Boyer M-P, Caberlotto L, et al. Combined use of protein biomarkers and network analysis unveils deregulated regulatory circuits in Duchenne muscular dystrophy. *PLoS One* 2018; 13(3): e0194225.