

基于金属代谢的阿尔茨海默症生物标志物筛选

黄丹丹, 黄沙沙, 高韵涵, 尹琳茜, 潘李俊, 徐 微*

嘉兴南湖学院新材料工程学院, 浙江 嘉兴

收稿日期: 2025年9月12日; 录用日期: 2025年11月13日; 发布日期: 2025年11月24日

摘 要

阿尔茨海默症是一种复杂的神经退行性疾病, 铜、铁和锌的代谢异常与该疾病的发生和发展密切相关。本研究基于GEO和GeneCards公共数据库, 筛选得到针对该疾病的24个与金属代谢相关的差异表达基因, 并通过GO和KEGG富集分析发现这些基因大多与细胞的能量物质代谢密切相关。通过构建蛋白-蛋白互作网络筛选出其中7个枢纽基因, 进而根据诊断ROC曲线确定其中5个基因(*GOT1*、*GPI*、*LDHA*、*SDHB*及*UQCRCF1*)具有潜在的诊断价值, 并利用其构建了多基因联合诊断模型。

关键词

阿尔茨海默症, 金属代谢, 生物标志物, GEO

Screening for Alzheimer's Disease Biomarkers Based on Metal Metabolism

Dandan Huang, Shasha Huang, Yunhan Gao, Linxi Yin, Lijun Pan, Wei Xu*

School of Advanced Materials Engineering, Jiaxing Nanhu University, Jiaxing Zhejiang

Received: September 12, 2025; accepted: November 13, 2025; published: November 24, 2025

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a complex neurodegenerative disorder where abnormal copper, iron, and zinc metabolism plays a key role in its development. Our study screened 24 AD-related metal metabolism genes using GEO and GeneCards databases, revealing through GO and KEGG enrichment analyses that most of these genes are closely associated with cellular energy metabolism. By constructing a protein-protein interaction network, we identified seven hub genes. Using diagnostic ROC curves, we determined five genes (*GOT1*, *GPI*, *LDHA*, *SDHB*, and *UQCRCF1*) with potential diagnostic value, which were then integrated into a multi-gene diagnostic model.

*通讯作者。

文章引用: 黄丹丹, 黄沙沙, 高韵涵, 尹琳茜, 潘李俊, 徐微. 基于金属代谢的阿尔茨海默症生物标志物筛选[J]. 生物医学, 2025, 15(6): 1132-1142. DOI: 10.12677/hjbm.2025.156122

Keywords

Alzheimer's Disease, Metal Metabolism, Biomarkers, GEO

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)是一种复杂的神经退行性疾病,其病理机制尚未完全阐明。近年来的研究发现,铜、铁和锌的代谢异常与阿尔茨海默症的发生和发展密切相关。这些金属元素对神经递质合成、氧化应激调节和细胞信号传导等多种生物过程至关重要,当这些金属元素失调时,可能导致神经毒性效应,进而引发神经元死亡和认知能力衰退[1]。

铜是多种酶的必需辅因子,这些酶参与能量代谢、神经递质合成、抗氧化防御等关键过程。铜在神经元的发育和功能维持中,尤其是在突触传递和神经元的信号传导中发挥着重要作用。研究表明,阿尔茨海默症患者的脑组织中铜的浓度异常升高,这种铜的累积与 β -淀粉样蛋白(A β)的沉积密切相关。铜能够与 A β 结合,促进其聚集并形成毒性复合物,从而加剧神经元的氧化损伤和细胞死亡[2]。此外,铜的过量还可能通过诱导特定形式的细胞死亡(如 cuproptosis)来加速神经退行性变[3] [4]。铁在神经元中不仅作为酶的辅因子,还在维持细胞的抗氧化能力和促进神经保护方面发挥着重要作用。铁代谢的异常被认为是阿尔茨海默症发病机制中的关键因素之一。研究表明,铁的过量积累可导致神经元的凋亡和功能障碍,进而影响认知能力[5]。在阿尔茨海默症患者中,铁的异常代谢与神经炎症、氧化应激及细胞死亡密切相关,这些因素共同促进了该疾病的进展[6]。此外,铁的代谢失调还可能影响神经元的再生能力,进一步加重认知障碍的发生[7]。锌在人体的中枢神经系统中发挥着重要的生物学功能。其在神经元中的浓度相对较高,主要储存在突触囊泡中,参与突触传递和神经可塑性[8]。锌的动态变化能够调节神经元的兴奋性和突触强度,影响学习和记忆等认知功能[9]。研究表明,锌的不足可能促进 β -淀粉样蛋白的聚集[10],低锌水平的患者表现出更高的脑内 β -淀粉样蛋白沉积[11]。此外,锌缺乏还可能通过激活 NLRP3 炎症小体,增强神经炎症反应,加速阿尔茨海默症的进展[12]。

生物信息学的发展为阿尔茨海默病的研究带来了革命性影响,其创新性的分析方法和工具显著推动了该领域的发展。通过整合多组学数据,研究人员能够系统挖掘 AD 相关的生物标志物,并深入解析其潜在的病理机制。前沿研究显示,对疾病特异性表型进行系统分析,并识别差异表达基因,已成为发现新型诊断标志物的重要途径[13]-[16]。本研究基于 GEO 数据库和 GeneCards 数据库,筛选出与阿尔茨海默病相关的金属代谢差异表达基因。之后进行蛋白质相互作用网络分析以确定枢纽基因,进而通过诊断受试者工作特征曲线评估其作为 AD 生物标志物的应用潜力,最终筛选出 AUC 值较高的基因构建多基因诊断模型,并通过独立外部数据集进一步确认结果。本研究采用多表型分析策略,旨在识别出与 AD 患者铜、铁、锌代谢同步失调相关的核心基因。这些发现不仅拓展了 AD 潜在生物标志物的范围,更为未来诊断技术进步和疾病机制探索奠定了重要理论基础。

2. 方法

2.1. 数据集获取

通过 GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)获得 AD 相关微阵列数据集 GSE5281 和

GSE132903。GSE5281 数据集包含 87 个 AD 患者样本和 74 个健康人群样本。GSE132903 数据集包括 97 个 AD 患者样本和 98 个健康人群样本。两个数据集中所有的样本部位均为脑组织。利用 R 软件对数据进行标准化预处理。从 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)下载铜、铁及锌代谢相关基因,并设定其相关度评分的筛选阈值(铜 > 8, 铁和锌 > 16),以获得一定数量的相关度较高的基因,便于后续分析。

2.2. 差异基因筛选

本文采用 R 软件的 limma 软件包对 GSE5281 数据集中的 AD 患者样本和健康对照样本进行差异分析[17],筛选条件确定为“log2FC 的绝对值 > 1 且调整后的 p 值 < 0.05”。使用 R 软件中的 ggplot2(3.4.4)包绘制火山图对结果进行可视化。将 GSE5281 数据集中获得的差异基因与铜、铁、锌代谢相关基因取交集,得到 AD 金属代谢差异基因,绘制韦恩图和热图。

2.3. 差异基因功能富集分析

为了阐明所得到的铜铁代谢差异基因的生物学过程和分子功能,使用 R 软件中的 clusterProfiler(4.4.4)包进行 GO 和 KEGG 通路富集分析[18],分析结果使用 R 软件中的 ggplot2(3.4.4)包进行可视化,绘制柱状图。

2.4. 蛋白 - 蛋白互作网络构建及枢纽基因确定

使用 STRING 数据库(<https://string-db.org/>)对金属代谢差异基因进行蛋白 - 蛋白互作网络构建[19]。使用 Cytoscape(3.10.2) 软件检测 PPI 对(置信度值 > 0.4),使用 MCODE 分析模块筛选枢纽基因,并可视化结果。通过 Spearman 相关统计分析确定枢纽基因之间的相互作用关系,使用 R 软件中的 ggplot2(3.4.4)包绘制相关性饼图。

2.5. 诊断 ROC 曲线构建

采用逻辑回归评估枢纽基因的诊断价值。AD 样本的反应变量被赋值为 1,健康对照样本的反应变量被赋值为 0。使用 R 软件中的 pROC(1.18.0)包绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC),结果通过 ggplot2(3.4.4)可视化。通过曲线下面积(area under curve, AUC)评估诊断效能,选择 AUC > 0.7 的枢纽基因作为潜在诊断标志物。

2.6. 外部数据集验证

使用 GSE132903 作为验证集,进一步确认筛选出的诊断标志物的在病理组和正常组中的差异表达情况,使用 Mann-Whitney U 检验评估统计学显著性,显著性水平表示为: *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$ 。分析结果通过 R 语言(4.2.1)中的 ggplot2(3.4.4)生成豆荚图进行可视化。

3. 结果

3.1. 差异基因筛选

除对 GSE5281 数据集进行差异基因分析,结果显示出 1191 个差异表达基因,通过火山图(图 1(a))可视化结果。设定铜代谢相关基因的筛选阈值为>8,铁和锌代谢相关基因的筛选阈值为>13,分别得到 1008、1007 和 1026 个与铜、铁、锌代谢相关度高的基因。将这些基因与上述 1191 个差异表达基因取交集(图 1(b)),共得到 24 个与金属代谢相关的差异表达基因。热图显示了所获得的这些基因在 AD 患者和健康人

群之间的显著差异表达水平(图 1(c))。

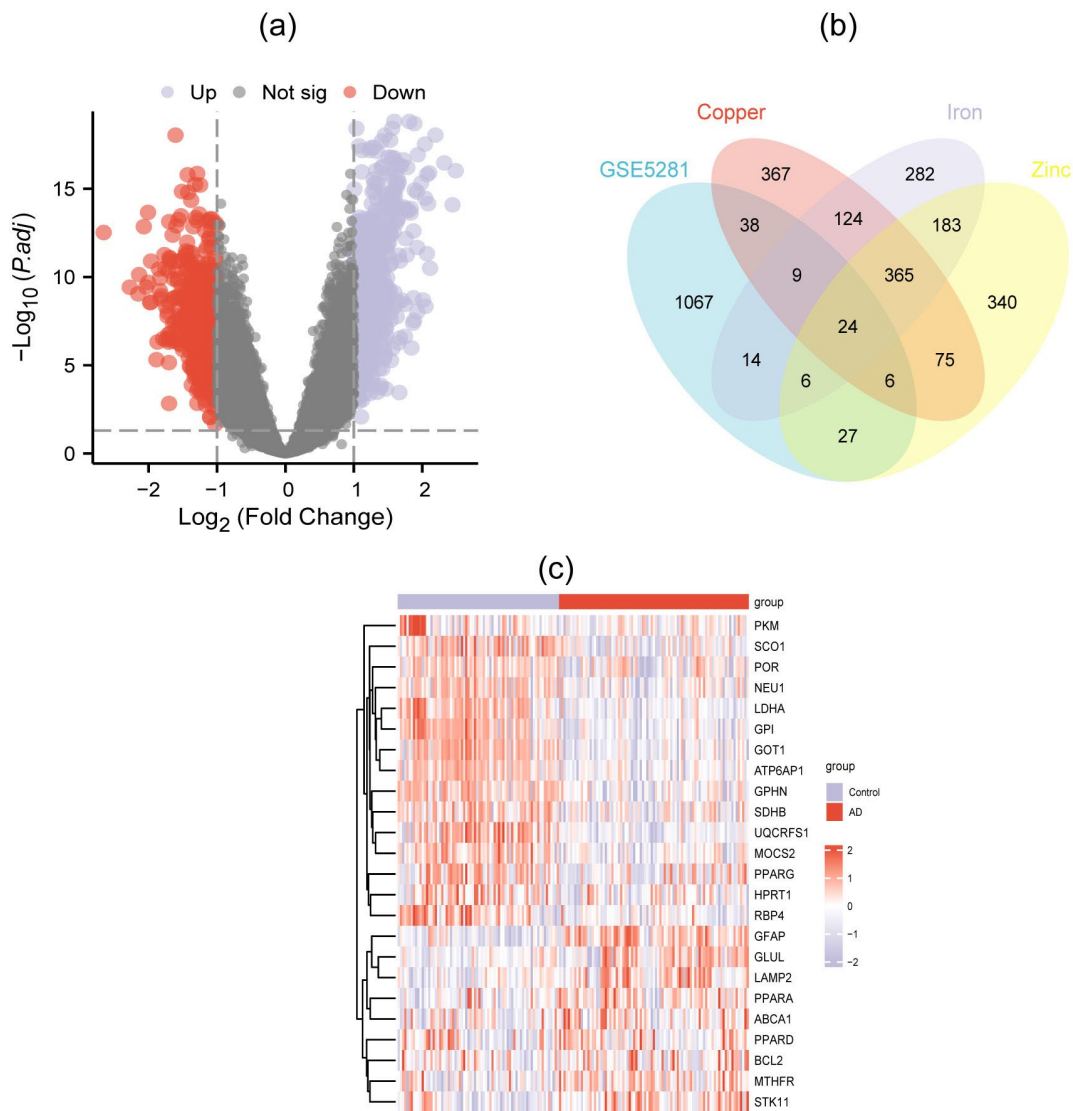


Figure 1. Identification of differentially expressed metal metabolism-related genes (DEMGs). (a) volcano plot exhibiting differential gene analysis in the GSE5281 dataset; (b) Venn diagram showing 24 DEMGs; (c) heatmap indicating the expression levels of DEMGs in AD and normal samples

图 1. 与金属代谢相关的差异表达基因(DEMGs)的筛选。(a) 火山图显示了 GSE5281 数据集中的差异表达基因; (b) 韦恩图显示了 24 个 DEMGs; (c) 热图显示了 DEMGs 在病理组和健康组中的表达水平

3.2. GO 和 KEGG 富集分析

采用 GO 富集分析阐明以上 24 个金属代谢相关差异表达基因的潜在生物学功能。结果显示(图 2)，这些基因集中参与的生物过程为“胆固醇储存”、“胆固醇储存的调节”、“胆固醇储存的负调控”等；主要涉及的细胞组分为“氧化还原酶复合体”、“髓鞘”、“神经胶质细胞凸起”等；重点参与的分子功能包括“配体激活的转录因子活性”、“细胞核受体活性”、“长链脂肪酸结合”等。进一步通过 KEGG 富集分析探究这些基因对应的主要通路。结果显示(图 2)， “非酒精性脂肪肝”、“碳源代谢”以及“糖酵解/糖异生”是其集中参与的通路。

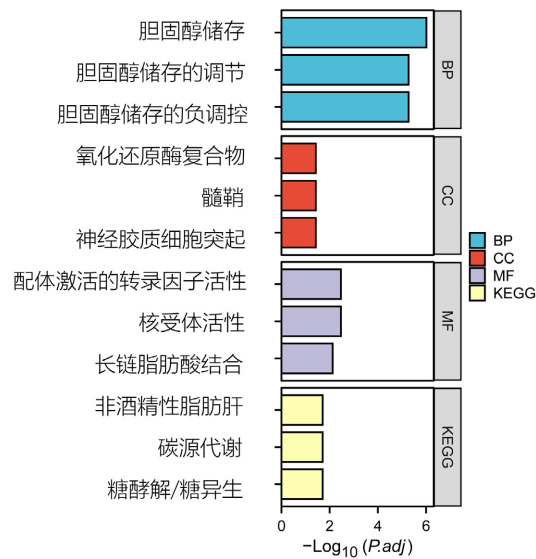


Figure 2. Bar chart of GO and KEGG enrichment analysis: the cell composition, molecular function and pathway involved in copper and iron metabolism-related differential genes are shown from top to bottom

图 2. GO 和 KEGG 富集分析的柱状图：从上至下分别显示与铜铁代谢相关的差异基因的细胞成分、分子功能和参与途径

3.3. 蛋白 - 蛋白互作网络构建及枢纽基因的确定

使用 STRING 在线数据库对 24 个交集基因构建蛋白 - 蛋白互作网络(图 3(a))。将上述分析结果导入 Cytoscape(3.10.2)软件, 使用 MCODE 模块确定出该网络中有 7 个枢纽基因, 分布在同一个网络中, 分别为 *GLUL*、*GOT1*、*GPI*、*LDHA*、*PKM*、*SDHB* 和 *UQCRRF1* (图 3(b), 表 1)。

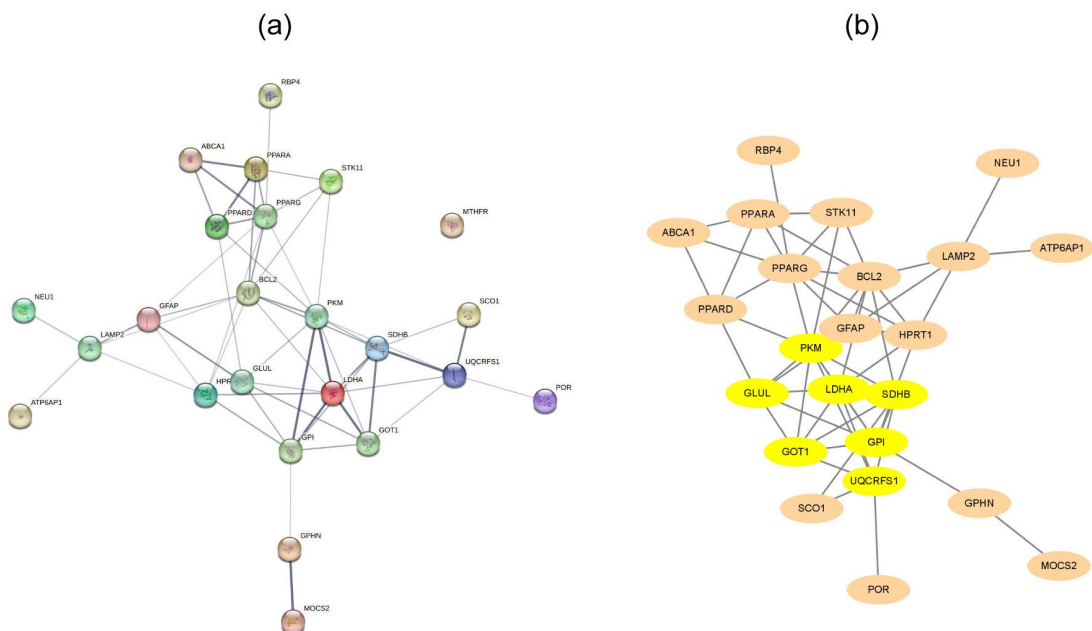


Figure 3. Identification of hub genes. (a) Protein-protein interaction network of 24 DEMGs constructed using STRING; (b) 7 hub genes (yellow) determined using MCODE analysis module of Cytoscape

图 3. 枢纽基因的筛选。(a) 使用 STRING 在线数据库对 24 个交集基因构建蛋白 - 蛋白互作网络；(b) 使用 Cytoscape 软件中的 MCODE 插件确定 7 个枢纽基因(黄色)

Table 1. Information of 7 hub genes
表 1. 7 个枢纽基因的信息

基因名	logFC 值	调整后的 P 值	描述
<i>GLUL</i>	1.18	6.53×10^{-12}	谷氨酸氨裂解酶
<i>GOT1</i>	-1.77	5.44×10^{-12}	谷草转氨酶 1
<i>GPI</i>	-1.44	1.07×10^{-12}	葡萄糖-6-磷酸异构酶
<i>LDHA</i>	-1.29	1.47×10^{-9}	乳酸脱氢酶 A
<i>PKM</i>	-1.09	3.05×10^{-5}	丙酮酸激酶 M1/2
<i>SDHB</i>	-1.55	1.23×10^{-11}	琥珀酸脱氢酶复合物铁硫亚基 B
<i>UQCRRS1</i>	-1.13	1.91×10^{-11}	泛素醇 - 细胞色素 c 还原酶, Rieske 铁硫多肽 1

3.4. 枢纽基因的相关性分析

通过 Spearman 相关性统计揭示枢纽基因之间的相互作用关系,其两两之间的相关系数值和统计 P 值用饼图表示(图 4)。饼图中心的标注为相关系数值或 p 值的范围,饼图的颜色以及填充比例都为相关性系数。结果显示,多数基因对呈现正相关性关系,其中呈现最强正相关性的三对基因为 *GOT1* 与 *GPI*、*GPI* 与 *LDHA* 以及 *GOT1* 与 *UQCRRS1*,相关系数分别为 0.82、0.81 和 0.77,而呈现最强负相关性的两对基因为 *GLUL* 与 *LDHA*,以及 *GLUL* 与 *GPI*,相关系数分别为-0.29 和-0.28。

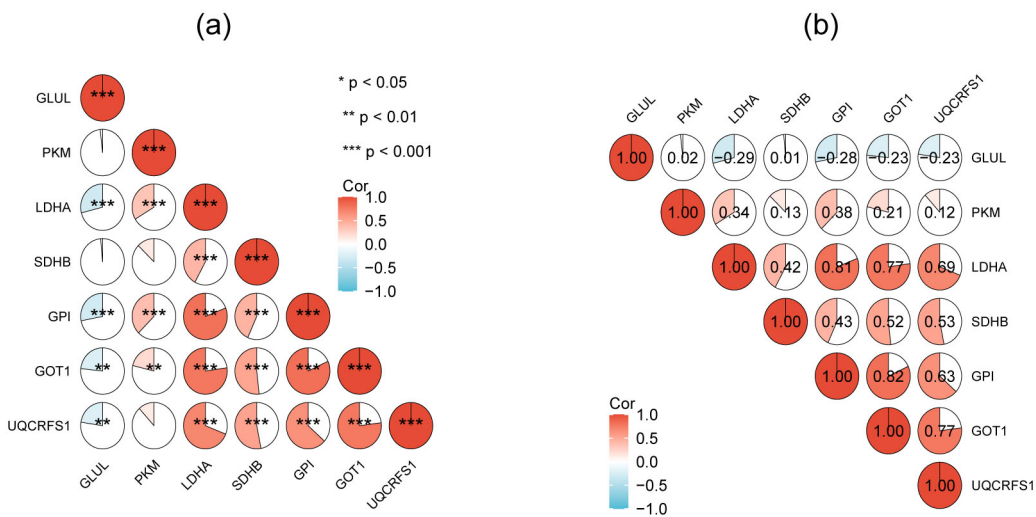


Figure 4. Correlation analysis of 7 hub genes. (a) The circle in the figure shows the P-value (b) The circle in the figure shows the correlation coefficient.

图 4. 7 个枢纽基因的关联性分析。(a) 图中圆形内显示 P 值 (b) 图中圆形内显示相关系数

3.5. ROC 曲线评估诊断效能

统一为了评估 7 个枢纽基因的潜在诊断价值,对每个基因构建 ROC 曲线。曲线下面积(AUC)值越接近 1 表示准确性越高。结果显示, *GOT1*、*GPI*、*LDHA*、*SDHB* 及 *UQCRRS1* 5 个枢纽基因的 AUC 值大于 0.7, 表明其预测模型具有合理性。其中, *GPI* 与 *LDHA* 的 AUC 值均大于 0.8, 说明二者所构建的模型具有较强的判别能力(图 5)。

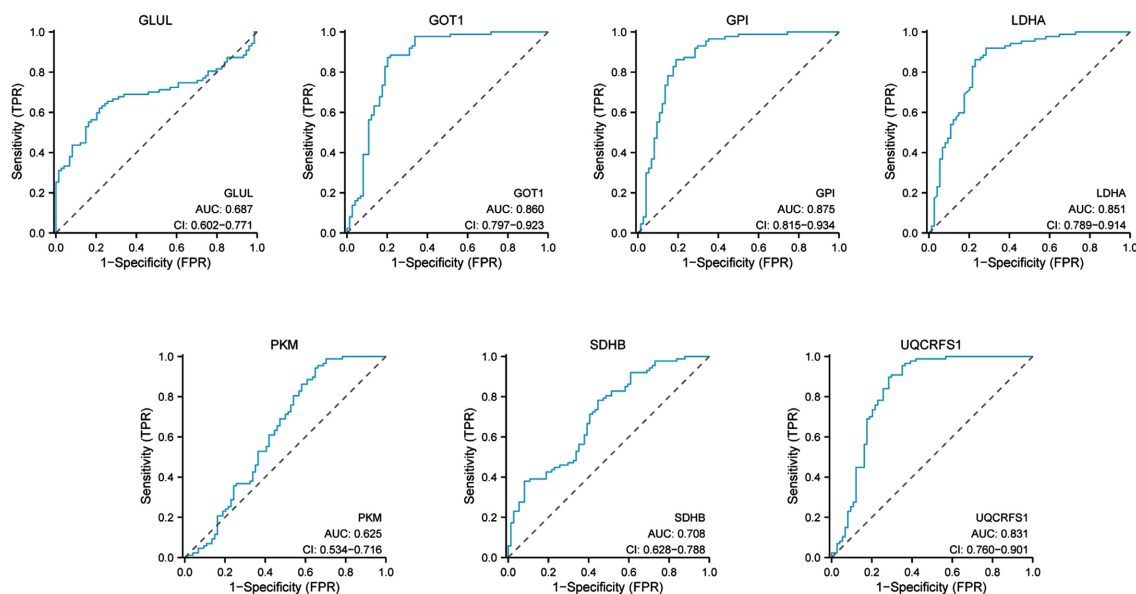


Figure 5. ROC curves for diagnosis of 7 hub genes

图 5. 7 个枢纽基因的诊断 ROC 曲线

3.6. 外部数据集验证

选择 AUC 值大于 0.7 的 5 个枢纽基因, 在 GSE132903 数据集进行验证, 进一步确认其差异表达情况。结果显示, 5 个基因均在病理组和健康组之间呈现显著的表达差异, 且在病理组呈现显著的下调趋势, 与在 GSE5281 数据集呈现的趋势一致(图 6)。

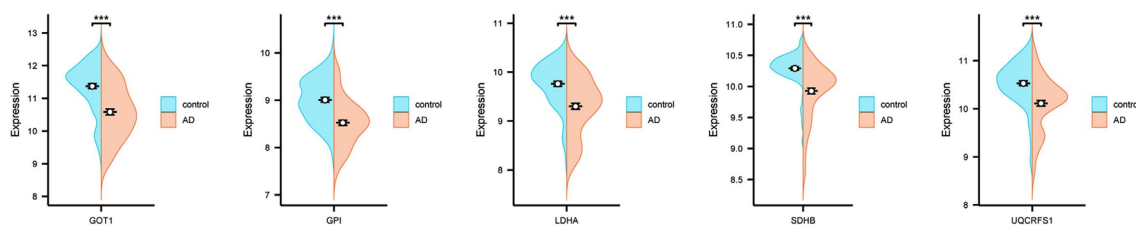


Figure 6. Validation of 5 hub genes in GSE132903 dataset

图 6. 5 个枢纽基因在 GSE132903 数据集的验证情况

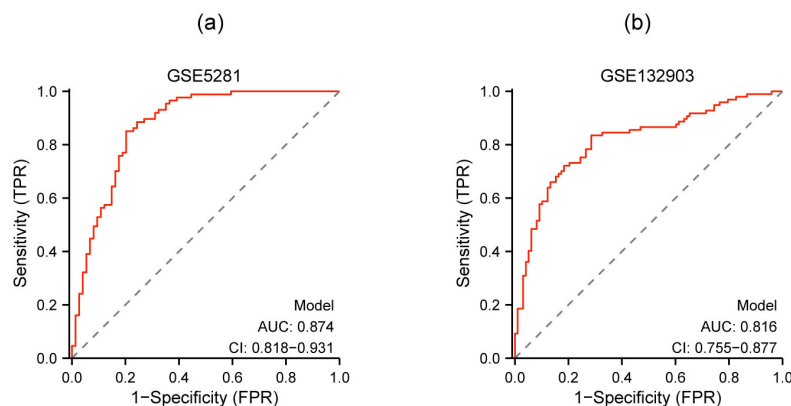


Figure 7. Construction of multi-gene diagnostic ROC models. (a) In GSE5281 dataset; (b) In GSE132903 dataset

图 7. 多基因诊断 ROC 模型构建。(a) 在 GSE5281 数据集 (b) 在 GSE132903 数据集

3.7. 多基因联合诊断模型构建

选取上述 5 个枢纽基因, 基于 GSE5281 数据集, 构建多基因联合 ROC 模型。结果显示, 其 AUC 为 0.874, 说明该模型具有较强的预测性(图 7(a))。将其进一步在 GSE132903 数据集中验证, 结果显示 ROC 曲线的 AUC 值为 0.816, 进一步确认了该模型预测的准确程度(图 7(b))。以上结果说明, *GOT1*、*GPI*、*LDHA*、*SDHB* 及 *UQCERS1* 可作为潜在的 AD 诊断标志物。

4. 讨论

阿尔茨海默症与脑部金属代谢的失衡密切相关[20][21], 借助生物信息学方法, 探索 AD 中差异表达的金属代谢相关基因将有助于进一步理解这种疾病的病理机制, 并发现的新的生物标志物。本研究从铜、铁及锌代谢的角度, 基于 GSE5281 数据集中 AD 患者脑组织样本的表达谱数据, 确定了 24 个与这三种金属代谢共同相关的差异表达基因, 并通过 GO 和 KEGG 富集分析探究了其生物功能和通路。通过 PPI 网络构建, 从 24 个差异基因中确定出 7 个发挥关键作用的枢纽基因。通过 ROC 曲线评估这些基因的潜在诊断价值, 并取 AUC > 0.7 的 5 个基因构建了多基因联合诊断模型, 并在 GSE13291 数据集中进行了验证。

铜是多种酶的辅因子, 在神经系统中参与能量代谢、抗氧化防御和神经传递等关键生物过程[22]-[24]。铁是血红蛋白的重要组成部分, 参与氧气的运输。此外, 铁还参与儿茶酚胺神经递质的代谢和神经系统髓鞘形成[25][26]。锌与多种神经递质受体相互作用并调节其活性。例如, 锌与谷氨酸受体结合可影响神经元兴奋性, 并在突触传递中发挥重要作用[27]。本研究的 GO 和 KEGG 富集分析结果显示, 24 个与金属代谢相关的 AD 差异表达基因, 主要与物质和能量代谢密切相关, 比如参与胆固醇储存和调节、长链脂肪酸结合、碳源代谢、糖酵解/糖异生、氧化还原酶复合体的构成等。此外, 这些基因还主要与神经系统的结构组成相关, 比如参与髓鞘、神经胶质细胞凸起的组成等。有研究表明, AD 患者脑内脂质代谢紊乱, 胆固醇代谢异常可能导致 β -淀粉样蛋白(A β)的积累[28], 而磷脂代谢异常可能影响神经元膜的功能, 加剧神经元功能障碍[29], 且 AD 患者大脑中的葡萄糖代谢显著降低, 这可能是由于神经元胰岛素抵抗和线粒体功能障碍所致[30]。本结果与前人的研究结论形成相互印证, 由此可见, AD 患者脑部的金属代谢失衡, 将会通过多种途径影响机体的生理功能。

本研究通过构建 ROC 诊断曲线, 筛选出了 AUC 值较好(>0.7)的 5 个枢纽基因作为潜在的 AD 诊断标志物。这些基因在 AD 患者脑部均呈现显著的下调表达, 且编码的产物均与能量物质代谢密切相关。*GOT1* 编码谷氨酰-草酰乙酸转氨酶 1, 该酶在细胞内可催化谷氨酸脱氢生成 α -酮戊二酸。而过量的谷氨酸可以损害大脑功能[31], 其兴奋毒性也是 AD 的发病机制之一。谷氨酰-草酰乙酸转氨酶的催化作用可促进谷氨酸从大脑中流出[32], 从而逆转 A β 和 TNF- α 对神经突触可塑性的破坏[33]。*GPI* 编码葡萄糖-6-磷酸异构酶, 主要参与糖酵解途径, 催化葡萄糖-6-磷酸和果糖-6-磷酸之间的可逆转化。这一反应为细胞提供能量和碳骨架, 影响多种生物过程, 如多糖合成和细胞能量稳态[34]。*LDHA* 编码乳酸脱氢酶 A。乳酸脱氢酶是糖酵解通路中的关键酶, 催化丙酮酸转化为乳酸, 而乳酸可作为神经元的能量底物支持突触功能并促进修复[35][36]。*LDHA* 表达下降导致乳酸生成减少, 加剧神经元能量代谢缺陷和 A β 累积, 进而引发突触损伤和神经退行性变[35][37]。*SDHB* 编码琥珀酸脱氢酶复合物铁硫亚基 B。琥珀酸脱氢酶在三羧酸循环中负责将琥珀酸转化为延胡索酸, 同时将电子传递给辅酶 Q, 参与细胞的能量代谢。在阿尔茨海默症中, 其活性降低会导致线粒体功能障碍, 增强氧化应激反应, 进而引发神经炎症的加剧[38][39]。*UQCERS1* 编码 Rieske 铁硫蛋白, 该蛋白是线粒体电子传递链中复合体 III (泛醌-细胞色素 c 还原酶) 的一个关键亚基。在某些神经退行性疾病中, 如亨廷顿病和阿尔茨海默症, 线粒体复合体 III 和复合体 IV

的活性可下降 30%~70% [40]。有研究发现, 在敲除 Rieske 铁硫蛋白的细胞内, 复合体 III 缺乏酶的催化活性, 且复合体 I 和 IV 表现出功能下降, 并伴随 ROS 增加[41], 表明 *UQCRCF1* 在维持线粒体功能中的重要性。

本研究结果从不同的角度进一步补充了 AD 的潜在生物标志物, 为探索该病的机制提供了更多理论依据。研究仍存在一定局限性, 未来可以通过分子实验, 在细胞模型、动物模型甚至临床样本上将筛选到的基因加以进一步验证。

基金项目

嘉兴市公益性研究计划项目(2022AD10030), 嘉兴南湖学院省级大学生创新创业训练计划项目(S202513291038)。

参考文献

- [1] Zhang, Y.Y., Li, X.S., Ren, K.D., Peng, J. and Luo, X.J. (2023) Restoration of Metal Homeostasis: A Potential Strategy against Neurodegenerative Diseases. *Ageing Research Reviews*, **87**, Article ID: 101931. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.101931>
- [2] Patel, R. and Aschner, M. (2021) Commonalities between Copper Neurotoxicity and Alzheimer's Disease. *Toxics*, **9**, Article No. 4. <https://doi.org/10.3390/toxics9010004>
- [3] Cong, C., Cong, H., Yao, Y., Bai, Y. and Xu, L. (2025) Copper Homeostasis and Cuproptosis in Alzheimer's Disease (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, **56**, Article No. 172. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2025.5613>
- [4] Meng, D., Luo, G. and Liu, P. (2025) Copper Metabolism and Cuproptosis in Alzheimer's Disease: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **190**, Article ID: 118354. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.118354>
- [5] Long, H.Z., Zhou, Z.W., Cheng, Y., Luo, H.Y., Li, F.J., Xu, S.G., *et al.* (2022) The Role of Microglia in Alzheimer's Disease from the Perspective of Immune Inflammation and Iron Metabolism. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **14**, Article ID: 888989. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.888989>
- [6] Wang, J., Fu, J., Zhao, Y., Liu, Q., Yan, X. and Su, J. (2023) Iron and Targeted Iron Therapy in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article No. 16353. <https://doi.org/10.3390/ijms242216353>
- [7] Zhao, D., Yang, K., Guo, H., Zeng, J., Wang, S., Xu, H., *et al.* (2023) Mechanisms of Ferroptosis in Alzheimer's Disease and Therapeutic Effects of Natural Plant Products: A Review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **164**, Article ID: 114312. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114312>
- [8] Li, Z., Liu, Y., Wei, R., Yong, V.W. and Xue, M. (2022) The Important Role of Zinc in Neurological Diseases. *Biomolecules*, **13**, Article No. 28. <https://doi.org/10.3390/biom13010028>
- [9] De Benedictis, C.A., Haffke, C., Hagmeyer, S., Sauer, A.K. and Grabrucker, A.M. (2021) Expression Analysis of Zinc Transporters in Nervous Tissue Cells Reveals Neuronal and Synaptic Localization of ZIP4. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article No. 4511. <https://doi.org/10.3390/ijms22094511>
- [10] Baj, J., Flieger, W., Barbachowska, A., Kowalska, B., Flieger, M., Forma, A., *et al.* (2023) Consequences of Disturbing Manganese Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article No. 14959. <https://doi.org/10.3390/ijms241914959>
- [11] Skalny, A.V., Aschner, M. and Tinkov, A.A. (2021) Zinc. In: *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 96, Elsevier, 251-310.
- [12] Schloss, J.V. (2025) Is Dolichol Pathway Dysfunction a Significant Factor in Alzheimer's Disease? *Inflammopharmacology*, **33**, 4651-4658. <https://doi.org/10.1007/s10787-025-01868-x>
- [13] Xu, W., Su, X., Qin, J., Jin, Y., Zhang, N. and Huang, S. (2024) Identification of Autophagy-Related Biomarkers and Diagnostic Model in Alzheimer's Disease. *Genes*, **15**, Article No. 1027. <https://doi.org/10.3390/genes15081027>
- [14] Zhao, H., Wang, J., Li, Z., Wang, S., Yu, G. and Wang, L. (2023) Identification Ferroptosis-Related Hub Genes and Diagnostic Model in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **16**, Article ID: 1280639. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1280639>
- [15] Yan, R., Wang, W., Yang, W., Huang, M. and Xu, W. (2024) Mitochondria-Related Candidate Genes and Diagnostic Model to Predict Late-Onset Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, **99**, s299-s315. <https://doi.org/10.3233/jad-230314>

- [16] Zhang, Y. and Kiryu, H. (2023) Identification of Oxidative Stress-Related Genes Differentially Expressed in Alzheimer's Disease and Construction of a Hub Gene-Based Diagnostic Model. *Scientific Reports*, **13**, Article No. 6817. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34021-1>
- [17] Ritchie, M.E., Phipson, B., Wu, D., Hu, Y., Law, C.W., Shi, W., *et al.* (2015) Limma Powers Differential Expression Analyses for RNA-Sequencing and Microarray Studies. *Nucleic Acids Research*, **43**, e47-e47. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv007>
- [18] Yu, G., Wang, L., Han, Y. and He, Q. (2012) Clusterprofiler: An R Package for Comparing Biological Themes among Gene Clusters. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, **16**, 284-287. <https://doi.org/10.1089/omi.2011.0118>
- [19] Szklarczyk, D., Gable, A.L., Nastou, K.C., Lyon, D., Kirsch, R., Pyysalo, S., *et al.* (2020) The STRING Database in 2021: Customizable Protein-Protein Networks, and Functional Characterization of User-Uploaded Gene/Measurement Sets. *Nucleic Acids Research*, **49**, D605-D612. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1074>
- [20] Ayton, S., Lei, P. and Bush, A.I. (2013) Metallostatics in Alzheimer's Disease. *Free Radical Biology and Medicine*, **62**, 76-89. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.10.558>
- [21] Xu, W., Xu, Q., Cheng, H. and Tan, X. (2017) The Efficacy and Pharmacological Mechanism of Zn(7)MT3 to Protect against Alzheimer's Disease. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 13763. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12800-x>
- [22] Zhong, G., Wang, X., Li, J., Xie, Z., Wu, Q., Chen, J., *et al.* (2024) Insights into the Role of Copper in Neurodegenerative Diseases and the Therapeutic Potential of Natural Compounds. *Current Neuropharmacology*, **22**, 1650-1671. <https://doi.org/10.2174/1570159x22666231103085859>
- [23] Dringen, R., Scheiber, I.F. and Mercer, J.F.B. (2013) Copper Metabolism of Astrocytes. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **5**, Article No. 9. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2013.00009>
- [24] Gromadzka, G., Tarnacka, B., Flaga, A. and Adamczyk, A. (2020) Copper Dyshomeostasis in Neurodegenerative Diseases—Therapeutic Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article No. 9259. <https://doi.org/10.3390/ijms21239259>
- [25] Thirupathi, A. and Chang, Y.Z. (2019) Brain Iron Metabolism and CNS Diseases. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Springer, 1-19. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9589-5_1
- [26] Peng, Y., Chang, X. and Lang, M. (2021) Iron Homeostasis Disorder and Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article No. 12442. <https://doi.org/10.3390/ijms222212442>
- [27] Singh, R., Panghal, A., Jadhav, K., Thakur, A., Verma, R.K., Singh, C., *et al.* (2024) Recent Advances in Targeting Transition Metals (Copper, Iron, and Zinc) in Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, **61**, 10916-10940. <https://doi.org/10.1007/s12035-024-04256-8>
- [28] Di Paolo, G. and Kim, T. (2011) Linking Lipids to Alzheimer's Disease: Cholesterol and Beyond. *Nature Reviews Neuroscience*, **12**, 284-296. <https://doi.org/10.1038/nrn3012>
- [29] Han, X. (2005) Lipid Alterations in the Earliest Clinically Recognizable Stage of Alzheimers Disease: Implication of the Role of Lipids in the Pathogenesis of Alzheimers Disease. *Current Alzheimer Research*, **2**, 65-77. <https://doi.org/10.2174/1567205052772786>
- [30] Cunnane, S., Nugent, S., Roy, M., Courchesne-Loyer, A., Croteau, E., Tremblay, S., *et al.* (2011) Brain Fuel Metabolism, Aging, and Alzheimer's Disease. *Nutrition*, **27**, 3-20. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2010.07.021>
- [31] Wiehler, A., Branzoli, F., Adanyeguh, I., Mochel, F. and Pessiglione, M. (2022) A Neuro-Metabolic Account of Why Daylong Cognitive Work Alters the Control of Economic Decisions. *Current Biology*, **32**, 3564-3575.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.07.010>
- [32] Zhang, D., Xiao, M., Wang, L. and Jia, W. (2018) Blood-Based Glutamate Scavengers Reverse Traumatic Brain Injury-Induced Synaptic Plasticity Disruption by Decreasing Glutamate Level in Hippocampus Interstitial Fluid, but Not Cerebral Spinal Fluid, *in Vivo*. *Neurotoxicity Research*, **35**, 360-372. <https://doi.org/10.1007/s12640-018-9961-8>
- [33] Zhang, D., Mably, A.J., Walsh, D.M. and Rowan, M.J. (2016) Peripheral Interventions Enhancing Brain Glutamate Homeostasis Relieve Amyloid β - and TNF α -Mediated Synaptic Plasticity Disruption in the Rat Hippocampus. *Cerebral Cortex*, **27**, 3724-3735. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw193>
- [34] Wang, Y., Chen, J., Han, J., Yang, Z., Zhu, J., Ren, A., *et al.* (2022) Cloning and Characterization of Phosphoglucose Isomerase in *Lentinula edodes*. *Journal of Basic Microbiology*, **62**, 740-749. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100598>
- [35] Tian, Q., Li, J., Wu, B., Wang, J., Xiao, Q., Tian, N., *et al.* (2023) Hypoxia-Sensing VGLL4 Promotes LDHA-Driven Lactate Production to Ameliorate Neuronal Dysfunction in a Cellular Model Relevant to Alzheimer's Disease. *The FASEB Journal*, **37**, e23290. <https://doi.org/10.1096/fj.202301173rrr>
- [36] Newington, J.T., Pitts, A., Chien, A., Arseneault, R., Schubert, D. and Cumming, R.C. (2011) Amyloid Beta Resistance in Nerve Cell Lines Is Mediated by the Warburg Effect. *PLOS ONE*, **6**, e19191. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019191>

-
- [37] Yoo, I.D., Park, M.W., Cha, H.W., Yoon, S., Boonpraman, N., Yi, S.S., *et al.* (2020) Elevated CLOCK and BMAL1 Contribute to the Impairment of Aerobic Glycolysis from Astrocytes in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article No. 7862. <https://doi.org/10.3390/ijms21217862>
 - [38] Pozdnyakov, D.I., Zolotych, D.S., Rukovitsyna, V.M. and Oganessian, E.T. (2022) Chromone Derivatives Suppress Neuroinflammation and Improve Mitochondrial Function in the Sporadic Form of Alzheimer's Disease under Experimental Conditions. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **25**, 871-881
 - [39] Horváth, G., Sváb, G., Komlódi, T., Ravasz, D., Kacsó, G., Doczi, J., *et al.* (2022) Reverse and Forward Electron Flow-Induced H₂O₂ Formation Is Decreased in α -Ketoglutarate Dehydrogenase (α -KGDH) Subunit (E2 or E3) Heterozygote Knock Out Animals. *Antioxidants*, **11**, Article No. 1487. <https://doi.org/10.3390/antiox11081487>
 - [40] Kilbride, S.M., Gluchowska, S.A., Telford, J.E., O'Sullivan, C. and Davey, G.P. (2011) High-Level Inhibition of Mitochondrial Complexes III and IV Is Required to Increase Glutamate Release from the Nerve Terminal. *Molecular Neurodegeneration*, **6**, Article No. 53. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-53>
 - [41] Diaz, F., Enríquez, J.A. and Moraes, C.T. (2012) Cells Lacking Rieske Iron-Sulfur Protein Have a Reactive Oxygen Species-Associated Decrease in Respiratory Complexes I and IV. *Molecular and Cellular Biology*, **32**, 415-429. <https://doi.org/10.1128/mcb.06051-11>