

## Integracja wielu omik odkrywa kluczowe mechanizmy molekularne i cele terapeutyczne w krótkowzroczności i patologicznej krótkowzroczności

Jingwen Hui <sup>a,b</sup>, Xuehao Cui <sup>c,d,e,\*</sup> , Quanhong Han <sup>a,b,\*\*</sup>

<sup>a</sup> Szpital Okulistyczny w Tianjin, nr 4 Gansu Road, dzielnica Heping, Tianjin, Chiny

<sup>b</sup> Tianjin Key Lab of Ophthalmology and Visual Science, Tianjin, Chiny

<sup>c</sup> Jednostka Biologii Mitochondrialnej MRC, Wydział Nauk Klinicznych o Mózgu, Uniwersytet Cambridge, Cambridge CB2 0XY, Wielka Brytania

<sup>d</sup> Centrum Naprawy Mózgu im. Johna van Geesta, Uniwersytet Cambridge, Cambridge CB2 0PY, Wielka Brytania

<sup>e</sup> Oddział Okulistyki w Cambridge, Szpital Addenbrooke's, Fundacja Szpitali Uniwersyteckich w Cambridge NHS, Cambridge CB2 0QQ, Wielka Brytania

### INFORMACJE O ARTYKULE

#### Słowa kluczowe:

Krótkowzroczność  
Krótkowzroczność patologiczna  
Randomizacja mendłowska  
Przebudowa macierzy zewnątrzkomórkowej  
Cel terapeutyczny  
Dokowanie molekularne

### STRESZCZENIE

**Cel:** Krótkowzroczność, a zwłaszcza krótkowzroczność patologiczna (PM), stanowi poważne obciążenie dla zdrowia na całym świecie ze względu na rosnącą częstość występowania i związane z nią powikłania zagrażające wzroku. Pomimo szeroko zakrojonych badań genetycznych molekularne mechanizmy leżące u podstaw postępu krótkowzroczności pozostają niejasne. Niniejsze badanie ma na celu identyfikację kluczowych białek przyczynowych i szlaków metabolicznych w krótkowzroczności i PM oraz zbadanie potencjalnych celów terapeutycznych.

**Metody:** Wykorzystaliśmy wieloomikową strukturę integrującą randomizację mendłowską (MR), analizę kolokalizacji, sieci interakcji białko-białko (PPI), wzbogacanie szlaków metabolicznych i dokowanie molekularne w celu zbadania mechanizmów molekularnych krótkowzroczności i PM. Przeanalizowaliśmy pięć zestawów danych pQTL dotyczących całego proteomu, dwa zestawy danych eQTL dotyczących krwi pełnej oraz metaboliczne GWAS w celu zidentyfikowania białek, genów i metabolitów przyczynowych. Przeprowadzono symulacje dokowania małych cząsteczek i dynamiki molekularnej (MD) w celu oceny potencjalnych interakcji między lekami a celami terapeutycznymi.

**Wyniki:** Zidentyfikowaliśmy PDGFRA, LRRTM2 i PCOLCE jako kluczowe regulatory krótkowzroczności i PM. PDGFRA był związany z przebudową macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) i aktywacją fibroblastów, LRRTM2 z neurotransmisją siatkówki i sygnalizacją dopaminową, a PCOLCE ze stabilnością kolagenu i biomechaniką twardówki. Analiza wzbogacenia funkcjonalnego wskazała sygnalizację immunologiczną, metabolizm lipidów i szlaki stresu oksydacyjnego jako czynniki przyczyniające się do patogenezы krótkowzroczności. Dokowanie molekularne i symulacje MD zidentyfikowały 1,3-propanodiol, kwas cis-9-oktadekanoowy i 17-beta-estradiol jako potencjalne związki terapeutyczne, które mogą stabilizować ECM, wzmacniać neurotransmisję i wzmacniać integralność twardówki.

**Wnioski:** Nasza wieloomikowa struktura nadaje priorytet PDGFRA, LRRTM2 i PCOLCE jako kandydatom powiązanym z przebudową ECM, neurotransmisją i biomechaniką twardówki w krótkowzroczności i PM. Integracja MR z analizami kolokalizacji, PPI i szlaków prowadzi do hipotez mechanistycznych i możliwych do przetestowania celów. Wyniki dokowania/MD mają charakter eksploracyjny i przed wyciągnięciem jakichkolwiek wniosków terapeutycznych wymagają eksperymentalnej walidacji.

### 1. Wprowadzenie

Krótkowzroczność, a zwłaszcza krótkowzroczność patologiczna (PM), stanowi poważny problem zdrowotny na całym świecie ze względu na rosnącą częstość występowania i ryzyko nieodwracalnych powikłań zagrażających wzroku, takich jak makulopatia krótkowzroczna, odwarstwienie siatkówki i jaskra <sup>1-3</sup>. W Azji Wschodniej problem ten dotyka nawet 80–90% młodych dorosłych, a liczba przypadków wysokiej krótkowzroczności również rośnie.<sup>4</sup> Wysoka krótkowzroczność, definiowana jako równoważnik sferyczny  $-6,00$  D lub gorszy, wiąże się z postępującym wydłużeniem osiowym i zmianami strukturalnymi w

twardówki, naczyńki i siatkówki, przyczyniając się do rozwoju PM.<sup>5,6</sup> Mechanizmy leżące u podstaw tego zjawiska obejmują nadmierny wzrost osiowy spowodowany biomechanicznym osłabieniem macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) twardówki, zmienioną regulacją przepływu krwi w naczyniówce oraz zaburzenia w szlakach sygnałowych siatkówki.<sup>7</sup> Prognozy epidemiologiczne szacują, że do 2050 r. prawie 50% światowej populacji będzie miało krótkowzroczność, a około 10% z nich rozwinie wysoką krótkowzroczność, co podkreśla pilną potrzebę skutecznych interwencji profilaktycznych i terapeutycznych wykraczających poza korekcję optyczną, taką jak okulary i soczewki kontaktowe.<sup>8,9</sup>

\* Autor korespondencyjny: MRC Mitochondrial Biology Unit, Department of Clinical Neurosciences, University of Cambridge, Cambridge CB2 0XY, Wielka Brytania.

\*\* Autor korespondencyjny: Tianjin Eye Hospital, No.4 Gansu Road, Heping District, Tianjin, Chiny.

Adresy e-mail: [xc350@cam.ac.uk](mailto:xc350@cam.ac.uk) (X. Cui), [5020200063@nankai.edu.cn](mailto:5020200063@nankai.edu.cn) (Q. Han).

<https://doi.org/10.1016/j.apjo.2026.100277>

Otrzymano 23 lipca 2025 r.; Otrzymano w poprawionej formie 8 września 2025 r.; Zaakceptowano 26 września 2025 r.

Dostępne online 8 stycznia 2026 r.

2162-0989/© 2026 Autorzy. Opublikowane przez Elsevier Inc. w imieniu Azjatycko-Pacyficznej Akademii Okulistyki i Akademii Profesorów Okulistyki Azji i Pacyfiku. Jest to artykuł dostępny na zasadach otwartego dostępu na licencji CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Etiologia krótkowzroczności jest wieloczynnikowa i wynika zarówno z predyspozycji genetycznych, jak i czynników środowiskowych, takich jak długotrwała praca w bliskiej odległości i niewystarczająca ekspozycja na światło zewnętrzne<sup>10,11</sup>. Badania asocjacyjne całego genomu (GWAS) pozwoliły zidentyfikować ponad 400 loci genetycznych związanych z wadami refrakcji, co podkreśla znaczną dziedziczność krótkowzroczności.<sup>12,13</sup> Jednak pomimo tych odkryć, dokładne mechanizmy molekularne łączące warianty genetyczne z patogenezą krótkowzroczności pozostają słabo poznane.<sup>14</sup> Postęp krótkowzroczności wiąże się z zaburzeniami przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej, nieprawidłową aktywnością fibroblastów twardówki oraz zaburzeniami sygnalizacji neuroprzekazników siatkówki, szczególnie tych związanych ze szlakami dopaminy i kwasu retinowego.<sup>15</sup> Najnowsze dowody sugerują, że zaburzenia regulacji białek odgrywają kluczową rolę w tych procesach, co sprawia, że białka są idealnymi kandydatami do interwencji terapeutycznej.<sup>16</sup> Białka mają bezpośredni wpływ na zmiany genetyczne, przekładając ryzyko genetyczne na zmiany fenotypowe na poziomie tkankowym. Jednak większość wcześniejszych badań koncentrowała się wyłącznie na loci genetycznych, nie uwzględniając w sposób systematyczny zmian białkowych istotnych z funkcjonalnego punktu widzenia.

Aby wypełnić tę lukę, zastosowaliśmy randomizację mendelowską (MR).<sup>17</sup> Ta solidna struktura analityczna wykorzystuje warianty genetyczne jako zmienne instrumentalne do wnioskowania o związkach przyczynowych między konkretnymi ekspozycjami a skutkami chorobowymi.<sup>18</sup> W przeciwieństwie do tradycyjnych badań epidemiologicznych, MR łagodzi błędy wynikające z zmiennych zakłócających i odwrotnej przyczynowości, dostarczając solidnych dowodów na związki przyczynowo-skutkowe.<sup>19</sup> Poprzez integrację danych dotyczących loci cech ilościowych białek (pQTL) i loci cech ilościowych ekspresji (eQTL) staraliśmy się odkryć białka i geny, które mają bezpośredni wpływ na krótkowzroczność i PM, identyfikując w ten sposób potencjalne cele terapeutyczne.

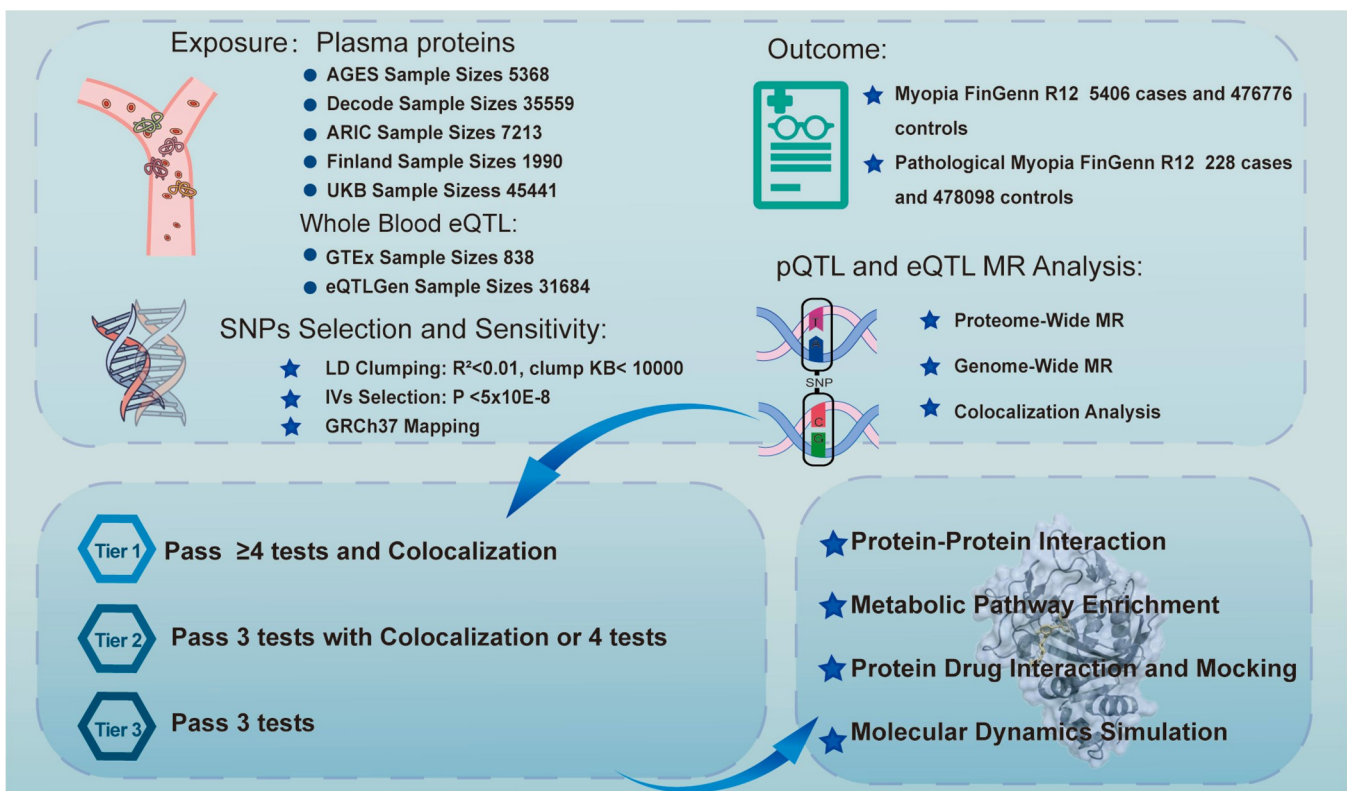
Kluczową zaletą naszego badania jest jednoczesne badanie krótkowzroczności i PM, co pozwala na bardziej kompleksowe zrozumienie ich mechanizmów molekularnych. W przeciwieństwie do poprzednich badań skupiających się na pojedynczych

genetycznych loci lub ograniczonych zbiorów danych, zastosowaliśmy podejście multiomiczne, integrując pięć dużych zbiorów danych pQTL dotyczących całego proteomu oraz dwa zbiory danych eQTL dotyczących krwi pełnej. Ta wysokiej rozdzielczości ocena związków przyczynowych między ekspresją białek, regulacją genów i ryzykiem krótkowzroczności pozwala nam wyjść poza proste powiązania genetyczne i uzyskać mechanistyczny wgląd w postępowanie choroby. Ponadto włączyliśmy analizę interakcji białko-białko (PPI), wzbogacenie szlaków metabolicznych oraz przesiewanie leków małowcząsteczkowych w celu systematycznej identyfikacji i ustalenia priorytetów celów terapeutycznych o znaczeniu klinicznym<sup>20</sup>. Wyniki te stanowią molekularne ramy patogenezы krótkowzroczności, wskazując białka kandydujące, które mogą służyć jako realne cele farmakologiczne, oraz torując drogę dla strategii medycyny precyzyjnej mających na celu złagodzenie postępu krótkowzroczności i związanych z nią powikłań.

## 2. Metody i materiały

### 2.1. Projekt badania

W niniejszym badaniu wykorzystano kompleksową strukturę multiomiczną w celu zidentyfikowania i ustalenia priorytetów celów terapeutycznych dla krótkowzroczności i PM poprzez integrację danych proteomicznych, transkryptomicznych i metabolomicznych z badaniami genetycznymi (rys. 1, tabela S2). Podejście to obejmowało czterostopniowy proces analityczny: (1) pozyskiwanie danych z wielkoskalowych badań GWAS, w tym zestawów danych pQTL, eQTL i metabolomicznych GWAS; (2) wnioskowanie przyczynowo-skutkowe z wykorzystaniem MR w celu identyfikacji białek, genów i metabolitów związanych z krótkowzrocznością i PM; (3) walidacja funkcjonalna poprzez analizę kolokalizacji, analizę PPI, wzbogacenie szlaków metabolicznych i dokowanie małych cząsteczek oraz (4) symulacje MD w celu oceny stabilności i wykonalności interakcji między lekiem a celem. W badaniu zastosowano rygorystyczne ramy statystyczne w celu zapewnienia solidności i powtarzalności, stosując



**Ryc. 1.** Przegląd projektu badania i ram analitycznych. Schemat przedstawia przebieg badania, w tym źródła danych, wybór instrumentów genetycznych, analizę randomizacji mendelowskiej (MR) oraz dalszą walidację funkcjonalną. Jako ekspozycje wykorzystano poziomy białek w osoczu, a instrumenty genetyczne pochodziły z wielu kohort. Wynikami były krótkowzroczność i krótkowzroczność patologiczna, a analizy MR całego genomu i proteomu przeprowadzono przy użyciu loci cech ilościowych białek (pQTL) i loci cech ilościowych ekspresji (eQTL). Istotne powiązania oceniono dodatkowo poprzez kolokalizację, wzbogacenie szlaków, interakcje białko-białko i symulacje dynamiki molekularnej.

Wielokrotne modele MR i analizy wrażliwości w celu złagodzenia potencjalnych błędów systematycznych i efektów zakłócających. Wybraliśmy pięć dużych zasobów pQTL, aby zmaksymalizować replikację między platformami i zmniejszyć prawdopodobieństwo, że wyniki będą oparte na jednej kohorcie lub platformie badawczej. Strategia ta zwiększa solidność poprzez potwierdzenie instrumentów białkowych w różnych projektach badań, wielkościach próbek i technologiach pomiarowych. Zasoby te zapewniają uzupełniające się pokrycie białek, transkryptów i metabolitów, umożliwiając bardziej kompleksowe i oparte na biologii ramy dla wnioskowania przyczynowego w przypadku krótkowzroczności i PM.

## 2.2. Źródła danych

Uzyskano zbiorcze dane statystyczne z wielu badań GWAS na dużą skalę w celu zbadania genetycznych determinantów krótkowzroczności i krótkowzroczności patologicznej (PM). Dane GWAS pochodziły z bazy danych FinnGen, która zawiera 5406 przypadków krótkowzroczności i 476 776 przypadków kontrolnych, a także 228 przypadków PM i 478 098 przypadków kontrolnych. FinnGen integruje dane genetyczne z fińskich biobanków z krajowymi rejestrami zdrowia, oferując dobrze zdefiniowane ramy kontroli przypadków w ramach dużej kohorty populacyjnej. W niniejszym badaniu wyniki dotyczące krótkowzroczności i PM pochodziły wyłącznie z podsumowania statystyk FinnGen R12. W bazie FinnGen PM definiuje się przy użyciu kodów diagnostycznych przypisanych z krajowych rejestrów; ocena tylnego staphyloma twardówki i stopnia zaawansowania ATN nie była dostępna na poziomie statystyk podsumowujących, dlatego nie można jej było zastosować. Uznajemy to za ograniczenie i traktujemy wyniki dotyczące PM jako hipotezę, którą należy powtórzyć w przyszłych zestawach danych z ujednoliconymi definicjami opartymi na obrazowaniu.

Dane pQTL dotyczące całego proteomu uzyskano z pięciu niezależnych kohort. Badanie AGES to podłużne badanie populacyjne dotyczące starzenia się i chorób przewlekłych, dostarczające cennych informacji na temat zmian ekspresji białek wraz z wiekiem.<sup>21</sup> Kohorta Decode Icelandic wykorzystuje strukturę populacji założycielskiej, co czyni ją szczególnie przydatną do identyfikacji genetycznych determinantów poziomu białek we krwi.<sup>22</sup> Badanie Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) to długoterminowe badanie epidemiologiczne kohortowe poświęcone czynnikom ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, w ramach którego dostępne są obszerne profile proteomiczne.<sup>23</sup> Badanie FinnGen integruje dane z biobanku i rejestru w celu zwiększenia mocy statystycznej w identyfikacji powiązań pQTL.<sup>24</sup> UK Biobank (UKB) to wielkoskalowa prospektywna kohorta z dogłębną fenotypizacją genetyczną i zdrowotną.<sup>25</sup> Jest to kluczowe źródło informacji do badania zmienności proteomicznej w różnych cechach i chorobach.

Dane eQTL uzyskano z projektu GTEX (Genotype-Tissue Expression) oraz konsorcjum eQTLGen. GTEX zapewnia specyficzne dla tkanki powiązania eQTL w wielu narządach, umożliwiając badanie regulacji ekspresji genów w odpowiednich tkankach.<sup>26</sup> Konsorcjum eQTLGen gromadzi powiązania eQTL oparte na badaniach krwi z różnych kohort, zwiększając moc statystyczną wykrywania wpływu genetycznego na ekspresję genów.<sup>27</sup> W niniejszym badaniu połączyliśmy statystyki podsumowujące z tych dwóch zestawów danych eQTL, aby stworzyć zharmonizowany zestaw danych, który następnie wykorzystaliśmy do dalszych analiz MR. Integracja ta pozwoliła nam zwiększyć moc statystyczną i poprawić dokładność naszych wniosków dotyczących roli ekspresji genów w ryzyku wystąpienia krótkowzroczności.

Dane metabolomiczne GWAS pochodzą z szeroko zakrojonego badania profilowania metabolomicznego, w ramach którego zmierzono 1400 metabolitów z różnych klas biochemicznych, w tym aminokwasów, lipidów, węglowodanów i markerów stresu oksydacyjnego.<sup>28</sup> Zbiory tych danych zapewniają kompleksowy obraz zaburzeń metabolicznych w organizmie i ich potencjalnego wpływu na rozwój krótkowzroczności. Uwzględnienie danych metabolomicznych pozwoliło nam zbadać związki przyczynowo-skutkowe między cechami metabolicznymi a ryzykiem krótkowzroczności, co dodatkowo potwierdza słuszność naszego wieloomikowego podejścia do odkrywania nowych celów terapeutycznych.

## 2.3. Analiza MR

Przeprowadzono analizę MR w celu wywnioskowania związków przyczynowych między ekspozycjami uwarunkowanymi genetycznie a ryzykiem krótkowzroczności, wykorzystując polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNP) jako zmienne instrumentalne (IV). Oddzielne analizy MR

dla zestawów danych proteomicznych, transkryptomicznych i metabolomicznych przy użyciu ustrukturyzowanego podejścia obejmującego wybór zmiennych instrumentalnych, modelowanie wnioskowania przyczynowego i testy wrażliwości. IV

zostały wybrane z zestawów danych pQTL i eQTL na podstawie istotności genomowej ( $P < 5 \times 10^{-8}$ ) i skupisk nierównowagi sprzężeń genetycznych (LD) ( $R^2 < 0,01$ , okno skupisk = 10 000 kb) w celu zapewnienia ich niezależności. Warianty cis-pQTL i cis-eQTL w obrębie 1 Mb odpowiedniego genu zostały potraktowane priorytetowo w celu ograniczenia pleiotropii. Zachowano wyłącznie IV o statystyce F większej niż 10, aby uniknąć błędu słabego instrumentu. W analizie pierwotnej zastosowano regresję ważoną odwrotnością wariancji (IVW) za pomocą pakietów TwoSampleMR i MR-Base w języku R, zakładając, że wszystkie SNP były prawidłowymi instrumentami.<sup>29</sup> Aby uwzględnić potencjalne naruszenia założeń IV, zastosowano dodatkowe metody MR, w tym regresję MR-Egger, która testuje pleiotropię poziomą poprzez ocenę terminu przecięcia. W przypadku ekspozycji instrumentowanych przez  $< 3$  niezależne SNP, przecięcia MR-Egger nie są możliwe do oszacowania (zgłaszane jako NA). W celu zidentyfikowania skutków przyczynowych w heterogeniczności zastosowano również estymator oparty na modelu, grupując instrumenty o podobnych szacunkach skutków. Przeprowadzono analizy wrażliwości w celu dalszej walidacji wyników MR, w tym test Q Cochran w celu oceny heterogeniczności między IV. Zastosowano MR-PRESSO w celu wykrycia i skorygowania pleiotropii horyzontalnej poprzez usunięcie wartości odstających SNP, które przyczyniały się do powstania błędu systematycznego. Dodatkowo zastosowano filtrowanie Steigera w celu zapewnienia prawidłowej kierunkowości przyczynowości poprzez weryfikację, czy IV wyjaśniały większą wariancję w ekspozycji niż w wyniku. Dzięki połączeniu tych solidnych podejść statystycznych zapewniliśmy wysoką wiarygodność wniosków przyczynowych, przyczyniając się do identyfikacji potencjalnych celów terapeutycznych dla krótkowzroczności. Ponieważ platformy proteomiczne, procesy kwantyfikacji, pochodzenie etniczne i wielkość próbek różnią się w zasobach pQTL AGES, deCODE, ARIC, FinnGen i UKB, przeprowadziliśmy oddzielne analizy MR z dwiema próbkami dla każdego zestawu danych pQTL w odniesieniu do tych samych wyników FinnGen, a następnie replikację międzykohortową poprzez przecięcie. Uniknęliśmy metaanalizy heterogenicznych statystyk podsumowujących pQTL, aby zmniejszyć odchylenia zależne od platformy. W niniejszym badaniu MR obejmujące cały proteom wykorzystano przede wszystkim jako etap eksploracyjnego odkrywania w wielu niezależnych zasobach pQTL. Z tego powodu początkowo podano nominalne wartości  $P$  ( $P < 0,05$ ) bez bezpośredniej korekty FDR

w pierwotnych skanach MR<sup>30-32</sup>. Zamiast tego priorytetowo potraktowaliśmy solidność, wymagając replikacji w różnych kohortach, a następnie weryfikując kandydatów poprzez niezależne analizy eQTL-MR i testy kolokalizacji. Ta wielopoziomowa strategia miała na celu zminimalizowanie liczby wyników fałszywie dodatnich, jednocześnie umożliwiając odkrywanie nowych celów w kontekście eksploracyjnym.

## 2.4. Analiza kolokalizacji

W analizie kolokalizacji wykorzystano pakiet Coloc w języku R w celu ustalenia, czy wspólny wariant genetyczny wpływa na ekspresję genów/białek i ryzyko krótkowzroczności. W analizie tej oceniono, czy loci GWAS związane z krótkowzrocznością pokrywały się z loci ekspresji lub loci cech ilościowych białek, testując pięć wzajemnie wykluczających się hipotez: (H0) brak związku z żadną z cech, (H1) związek tylko z cechą pierwszą, (H2) związek tylko z cechą drugą, (H3) dwa odrębne warianty przyczynowe oraz (H4) wspólny wariant przyczynowy wpływający na obie cechy.<sup>33</sup> Prawdopodobieństwo a posteriori H4 (PPH4) większe niż 0,8 uznano za silny dowód kolokalizacji, natomiast PPH4 między 0,5 a 0,8 wskazywało na słaby dowód kolokalizacji. Przeprowadzono analizę wrażliwości, zmieniając prawdopodobieństwa a priori dla oczekiwanych wielkości efektów, aby ocenić solidność wyników kolokalizacji. Analizy przeprowadzono w oknie  $\pm 500$  kb wycentrowanym na głównym SNP w każdym locus. Zastosowano domyślne prawdopodobieństwa a priori ( $p_1 = 1 \times 10^{-4}$ ,  $p_2 = 1 \times 10^{-4}$ ,  $p_{12} = 1 \times 10^{-5}$ ), a analizy wrażliwości przeprowadzono poprzez zmianę wartości a priori o jeden rząd wielkości w celu oceny odporności. Dodatkowo zastosowano metodę bayesowskiego precyzyjnego mapowania eCAVIAR w celu oceny prawdopodobieństwa, że wiele SNP wspólnie wpływa na obie cechy, poprawiając w ten sposób rozdzielczość w przypadkach, w których wiele powiązanych wariantów przyczyniało się do efektów przyczynowych. Dzięki połączeniu kolokalizacji z wynikami MR zidentyfikowaliśmy geny i białka o wysokim stopniu pewności, które mają silne wsparcie genetyczne dla ich udziału w

patofizjologii krótkowzroczności.

## 2.5. Strategia ustalania priorytetów białek

Białka zidentyfikowane za pomocą analiz MR i kolokalizacji zostały podzielone na trzy poziomy. Białka zostały uszeregowane według priorytetów na podstawie replikacji między kohortami, a nie zbiorczej metaanalizy: Podział na poziomy oparto na liczbie zestawów danych pQTL z nominalnym wsparciem MR, prawdopodobieństwie kolokalizacji i zgodnych sygnałach eQTL-MR. Białka poziomu 1 zdefiniowano jako te, które wykazały solidne dowody genetyczne, albo poprzez istotne powiązania w co najmniej czterech niezależnych zestawach danych pQTL lub eQTL MR z silnym wsparciem kolokalizacji ( $PP.H4 > 0,8$ ), albo poprzez istotne powiązania w co najmniej pięciu niezależnych zestawach danych z umiarkowanym wsparciem kolokalizacji ( $0,5 \leq PP.H4 \leq 0,8$ ). Definicja ta gwarantuje, że kandydaci poziomu 1 łączą szerokie powtórzenie w wielu kohortach z potwierdzającymi dowodami kolokalizacji, nadając tym samym priorytet białkom o największym prawdopodobieństwie rzeczywistego udziału przyczynowego. Białka poziomu 2 były istotnie powiązane w trzech zestawach danych pQTL lub eQTL z poparciem kolokalizacji lub tych z istotnymi powiązaniami w co najmniej czterech zestawach danych. Białka poziomu 3 miały istotne powiązania w co najmniej trzech zestawach danych, ale nie miały silnego poparcia dla kolokalizacji. Ta hierarchiczna klasyfikacja zapewniła systematyczne podejście do ustalania priorytetów białek do walidacji funkcjonalnej i wysiłków związanych z odkrywaniem leków w badaniach nad krótkowzrocznością i PM.

## 2.6. Analiza PPI

Wykorzystując bazę danych STRING, skonstruowano sieć PPI w celu zbadania interakcji funkcjonalnych między zidentyfikowanymi białkami. Wybrano interakcje o wysokim stopniu pewności (wynik interakcji  $> 0,7$ ) w celu zidentyfikowania kluczowych szlaków biologicznych i kompleksów molekularnych zaangażowanych w patogenezę krótkowzroczności. Dzięki połączeniu analizy PPI z wynikami badań MR i kolokalizacji zidentyfikowaliśmy podstawowe sieci regulacyjne zaangażowane w progresję krótkowzroczności i uzyskaliśmy mechanistyczny wgląd w molekularne podstawy podatności na chorobę.

## 2.7. Analiza wzbogacenia szlaków metabolomicznych

Analizę wzbogacenia szlaków przeprowadzono przy użyciu pakietu clusterPro-filer w języku R, wykorzystując Encyklopedię Genów i Genomów z Kioto (KEGG) oraz Bazę Danych Metabolomów Człowieka (HMDB) w celu zidentyfikowania szlaków metabolicznych istotnie związanych z ryzykiem krótkowzroczności. Przeprowadzono analizę nadreprezentacji w celu ustalenia, czy określone szlaki były nieproporcjonalnie dotknięte metabolitami zidentyfikowanymi w MR. Wyniki wpływu szlaków obliczono na podstawie liczby wzbogaconych metabolitów, ich istotności statystycznej i łączności w sieciach KEGG. Istotność statystyczną określono za pomocą testu hipergeometrycznego z korektą FDR Benjamini–Hochberga dla wszystkich szlaków; szlaki z  $FDR < 0,05$  uznano za istotne, a  $0,05 \leq FDR < 0,20$  za eksploracyjne. To zintegrowane podejście pomogło udoskonalić priorytetyzację celów i dostarczyło informacji na temat mechanizmów metabolomicznych leżących u podstaw rozwoju krótkowzroczności i PM.

## 2.8. Dokowanie małych cząsteczek i symulacja dynamiki molekularnej

W celu zbadania potencjalnych celów terapeutycznych przeprowadzono badanie dokowania molekularnego trzech białek silnie związanych z krótkowzrocznością i PM. Ligandy małowzrostkowe uzyskano z bazy danych PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), gdzie pobrano ich struktury 2D, a następnie przekształcono je w struktury 3D za pomocą oprogramowania ChemOffice. Uzyskane struktury 3D zapisano w formacie mol2 do dalszych badań dokowania molekularnego. Cele białkowe zostały wybrane na podstawie ich znaczenia dla patogenezы krótkowzroczności z bazy danych RCSB PDB (<http://www.rcsb.org/>), priorytetowo traktując struktury krystaliczne o wysokiej rozdzielczości, które służą jako receptory molekularne. Optymalizację strukturalną przeprowadzono przy użyciu PyMOL, w tym usunięcie cząsteczek wody,

grupy fosforanowe i inne pierwiastki nieistotne przed zapisaniem struktury białka w formacie PDB. Dokowanie molekularne przeprowadzono przy użyciu programu AutoDock Vina 1.5.6 w celu zbadania interakcji między białkami a ligandami małowzrostkowymi. Struktury zarówno białek, jak i ligandów zostały wstępnie przetworzone przy użyciu programu AutoDock Tools, gdzie białka zostały uwodornione i pozbawione cząsteczek wody, natomiast ligandy poddano uwodornieniu i określeniu siły skrętniej. Współrzędne siatki dokowania zostały ustawione na podstawie kieszeni wiązania, a wyniki dokowania zostały ocenione na podstawie wyników energii wiązania. Program Vina wykorzystał siatkę obejmującą kieszeń wiązania z marginesami  $\geq 5 \text{ \AA}$  w każdym wymiarze, wyczerpaniem = 8–12 i  $\geq 20$  niezależnymi przebiegami na ligand. Definicja kieszeni była zgodna z ligandem współkrystalizowanym lub zachowanymi wnikami zidentyfikowanymi przez mapowanie receptora. Do dalszych symulacji dynamiki molekularnej wybrano konformację dokowania o najniższej energii. Do wizualizacji 2D i 3D interakcji między badanymi związkami a kluczowymi resztami białkowymi wykorzystano programy PyMOL i Discovery Studio 2019. Do oceny siły interakcji wykorzystano wartości energii wiązania, gdzie energia wiązania poniżej  $-5,0 \text{ kcal/mol}$  wskazywała na dobrą aktywność wiązania, a wartości poniżej  $-7,0 \text{ kcal/mol}$  sugerowały silne powinowactwo wiązania. Niższe wartości energii wiązania oznaczały silniejsze interakcje, wyższe powinowactwo i doskonałą stabilność konformacyjną kompleksu białko-ligand. Symulacje MD przeprowadzono przy użyciu programu GROMACS 2023 przez łączny czas 100 ns w celu oceny stabilności kompleksu białko-ligand. W przypadku białek zastosowano pole siłowe CHARMM 36, natomiast parametry topologii ligandów wygenerowano przy użyciu pola siłowego GAFF2. Układ zamknięto w okresowej skrzynce granicznej, a cząsteczki wody dodano przy użyciu modelu wody TIP3P w celu rozwiązania układu. Do oddziaływań elektrostatycznych dalekiego zasięgu zastosowano metodę Particle Mesh Ewald (PME), natomiast do oddziaływań bliskiego zasięgu zastosowano algorytm Verleta. System poddano 100 000 kroków symulacji równowagi NVT (stała objętość i temperatura) oraz NPT (stałe ciśnienie i temperatura), ze stałą sprężenia wynoszącą 0,1 ps w okresie 100 ps. Oddziaływania van der Waals i kulombowskie obliczono przy wartości granicznej 1,0 nm. Ostateczną symulację MD trwającą 100 ns przeprowadzono w stałej temperaturze (300 K) i ciśnieniu (1 bar) w celu oceny dynamiki konformacyjnej kompleksu białko-ligand.

## 3. Wyniki

### 3.1. Analiza MR całego proteomu pozwoliła zidentyfikować białka związane z krótkowzrocznością i PM

Stosując metodę współczynnika Walda lub metodę IVW, zidentyfikowaliśmy istotny związek przyczynowo-skutkowy między krótkowzrocznością a 144 białkami w proteomicznym GWAS AGES (*ryc. S1A*), 93 białkami w Decode (*ryc. S1B*), 81 białkami w badaniu ARIC (*ryc. S1C*), 147 białkami w badaniu Finland (*ryc. S1D*) oraz 111 białkami w badaniu UKB (*ryc. S1E*), przy  $p < 0,05$ . Następnie przeprowadziliśmy analizę przecięcia wyników MR w pięciu zestawach danych proteomicznych. Zidentyfikowaliśmy 19 białek (LAG3, PDIA5, FCER2, SPARCL1, PDGFRA, C1QTNF5, CTSF, CHI3L2, LRRTM2, ERBB3, CALB2, CA13, TRIM3, TCN2, SAT2, EFEMP1, PSME2, GFRA2), które wykazały istotny związek przyczynowy z krótkowzrocznością w co najmniej trzech wynikach proteomicznych MR (*rys. 5C*). Spośród nich NID1, PDIA5, FCER2, PDGFRA, LRRTM2, ERBB3, CA13, TRIM3 i PSME2 wykazały dodatkia zależność przyczynową z krótkowzrocznością, co sugeruje, że białka te mogą być przyczynowo związane ze zwiększonym ryzykiem krótkowzroczności. Natomiast inne białka wykazały ujemną zależność przyczynową z krótkowzrocznością, co wskazuje na potencjalną rolę w zmniejszeniu ryzyka rozwoju krótkowzroczności. PDGFRA, CTSF i CA13 konsekwentnie wykazywały istotną zależność przyczynową z krótkowzrocznością w czterech zestawach danych proteomicznych. Ponadto analiza MR-PRESSO wykazała niewystarczające dowody na pleiotropię horyzontalną w powiązaniach między tymi 19 białkami krążącymi a ryzykiem krótkowzroczności (globalna wartość  $P$  testu  $> 0,05$ ; *tabele S3, S5, S7, S9, S11*). Oceniliśmy również heterogeniczność i nie wykryliśmy żadnej znaczącej heterogeniczności w analizach MR-Egger lub IVW ( $Q_{pval} > 0,05$ ; *tabele S4, S6, S8, S10, S12*).

Przeprowadziliśmy również analizę proteomiczną MR w PM, identyfikując 98 istotnych białek w zbiorze danych AGES (rys. S2A), 67 istotnych białek w Decode (rys. S2B), 61 istotnych białek w ARIC (rys. S2C), 466 istotnych białek w Finlandii (rys. S2D) i 87 istotnych białek w UKB (rys. S2E) z PM. Dalsza analiza ujawniła 13 białek (ADH4, TNFSF14, DLK2, SPOCK3, PCOLCE, C1QTNF3, NPPB, RBP1, LRP11, SCIN, DARS1, BOLA3, RBP7), które były istotnie związane z PM w co najmniej trzech analizach proteomicznych MR (rys. 5D). DLK2, SPOCK3, PCOLCE, C1QTNF3, NPPB, RBP1, LRP11 i Stwierdzono, że białka BOLA3 mają pozytywny związek przyczynowy z PM, co wskazuje, że białka te mogą przyczynić się do zwiększonej podatności na PM. Natomiast pozostałe białka wykazywały ujemny związek przyczynowy, co sugeruje potencjalne działanie ochronne przed rozwojem PM. Spośród nich białka PCOLCE, NPPB i RBP1 wykazywały istotne związki przyczynowe z PM w czterech zestawach danych proteomicznych. Ponadto analiza MR-PRESSO nie wykazała istotnych dowodów na pleiotropię horyzontalną między tymi 13 białkami krążącymi a ryzykiem PM (tabela S13, S15, S17, S19, S21). Oceniliśmy również heterogeniczność i nie wykryliśmy żadnej istotnej heterogeniczności w analizach MR-Egger lub IVW (tabela S14, S16, S18, S20, S22).

### 3.2. Analiza kolokalizacji w krótkowzroczności i PM

Przeprowadziliśmy analizę kolokalizacji genetycznej w celu zmniejszenia potencjalnych zakłóceń spowodowanych LD. W przypadku krótkowzroczności wybraliśmy potencjalne białka przyczynowe zidentyfikowane w wielu analizach proteomicznych MR do analizy kolokalizacji (rys. 2A). Stwierdziliśmy, że przy PP4 > 80% trzy białka [PDGFRA (rys. 2D), LRRTM2 (rys. 2C) i CHI3L2 (rys. 2E)] wykazywały silne dowody genetycznej kolokalizacji z krótkowzrocznością. Dodatkowo, przy PP4 > 50%, CTSF (rys. 2B) wykazywał słabsze dowody genetycznej kolokalizacji z krótkowzrocznością. W przypadku PM (rys. 3A) stwierdziliśmy, że RBP1 (rys. 3C) i SCIN (rys. 3D) wykazywały istotne dowody kolokalizacji genetycznej, podczas gdy PCOLCE (rys. 3B) wykazywał słabsze dowody kolokalizacji genetycznej. Wyniki te sugerują, że zmiany poziomu tych białek oraz ryzyko krótkowzroczności i PM mogą być spowodowane wspólnymi genetycznymi wariantami przyczynowymi.

### 3.3. Analiza MR całego genomu i analiza wzbogacenia

Przeanalizowaliśmy MR przy użyciu połączonych danych eQTL w celu zbadania związków przyczynowych między krótkowzrocznością a PM. Zidentyfikowaliśmy 530 genów, które wykazały istotne związki przyczynowe z krótkowzrocznością. Po zastosowaniu testu Benjamini-Hochberga (BH) 204 geny pozostały istotnie związane z krótkowzrocznością przy FDR < 0,05 (rys. 4A, tabela S32). Analiza MR-PRESSO nie wykazała żadnych dowodów na pleiotropię horyzontalną ani znaczącą heterogeniczność powiązań między tymi istotnymi genami a ryzykiem krótkowzroczności. Zidentyfikowaliśmy 456 istotnych genów związanych z PM, a 140 genów pozostało istotnie związanych z PM przy FDR < 0,05 (rys. 4B, tabela S33).

Następnie nasza analiza wzbogacenia funkcjonalnego wykazała, że białka związane z krótkowzrocznością są zaangażowane przede wszystkim w aktywację odpowiedzi immunologicznej, interakcje ECM i metabolizm lipidów, co sugeruje rolę stanu zapalnego i zaburzeń metabolicznych w rozwoju krótkowzroczności (rys. 4C, 4D). Kluczowe szlaki obejmują produkcję interleukiny-12, odporność komórkową, interakcje między ECM a receptorami oraz sygnalizację PI3K-Akt, co wskazuje, że sygnalizacja immunologiczna i przebudowa strukturalna przyczyniają się do zmian w oku w krótkowzroczności. Ponadto wzbogacenie szlaków metabolizmu cholesterolu i miażdżycy lipidowej sugeruje, że homeostaza lipidowa może odgrywać rolę w postępie choroby.

Natomiast geny związane z PM wykazują silniejszą aktywację układu odpornościowego, przebudowę ECM i dysfunkcję metaboliczną, co wskazuje na bardziej nasilony proces zapalny i zwyrodnieniowy (rys. 4E, 4F). Znaczący udział interakcji receptorów ECM, ogniskowej adhezji i szlaków sygnałowych TNF sugeruje, że niestabilność strukturalna i przewlekłe zapalenie mogą powodować zwyrodnienie twardówki i siatkówki w PM. Ponadto patologiczna krótkowzroczność wykazuje większe wzbogacenie w stres oksydacyjny i szlaki metaboliczne, takie jak

metabolizm glutationu, metabolizm lipidów i sygnalizacja PI3K-Akt, co wskazuje na zaburzenia równowagi metabolicznej w patogenezie. Nasze odkrycia sugerują, że zaburzenia regulacji immunologicznej, przebudowa ECM i zaburzenia metaboliczne mają kluczowe znaczenie zarówno dla krótkowzroczności, jak i PM, przy czym ta ostatnia wykazuje poważniejsze zmiany immunologiczne i strukturalne. Te spostrzeżenia wskazują na interwencje ukierunkowane na układ odpornościowy i ECM jako potencjalne strategie terapeutyczne w leczeniu krótkowzroczności i jej progresji do PM.

### 3.4. Priorytetyzacja białek na podstawie analizy MR i kolokalizacji

Na podstawie pięciu analiz MR całego proteomu, analizy MR całego genomu oraz analizy kolokalizacji sklasyfikowaliśmy 14 białek związanych z krótkowzrocznością (Tabela 1) i 13 związanych z PM (Tabela 2). Trzy białka (PDGFRA, CHI3L2 i CTSF) zostały przypisane do poziomu 1 białek związanych z krótkowzrocznością, wykazując solidne dowody. Cztery białka (LRRTM2, CA13, FCER2 i ERBB3) zostały sklasyfikowane jako poziom 2, z umiarkowanymi dowodami MR. Pozostałe siedem białek, w tym NID1, TRIM3, CALB2, SAT2, C1QTNF5, TCN2 i GFRA2, zostało umieszczonych w Tier 3, wykazując słabsze, ale znaczące sygnały MR. RBP1 i PCOLCE były najsilniej związane z białkami związanymi z PM i sklasyfikowane jako Tier 1, co wskazuje na solidne wsparcie. SCIN, NPPB i TNFSF14 zostały sklasyfikowane jako poziom 2, wykazując istotne, ale nieco słabsze powiązania. Pozostałe białka, BOLA3, ADH4, DLK2, RBP7, C1QTNF3, LRP11 i SPOCK3, zostały sklasyfikowane jako poziom 3, wykazując umiarkowane dowody MR, ale ograniczone wsparcie kolokalizacji.

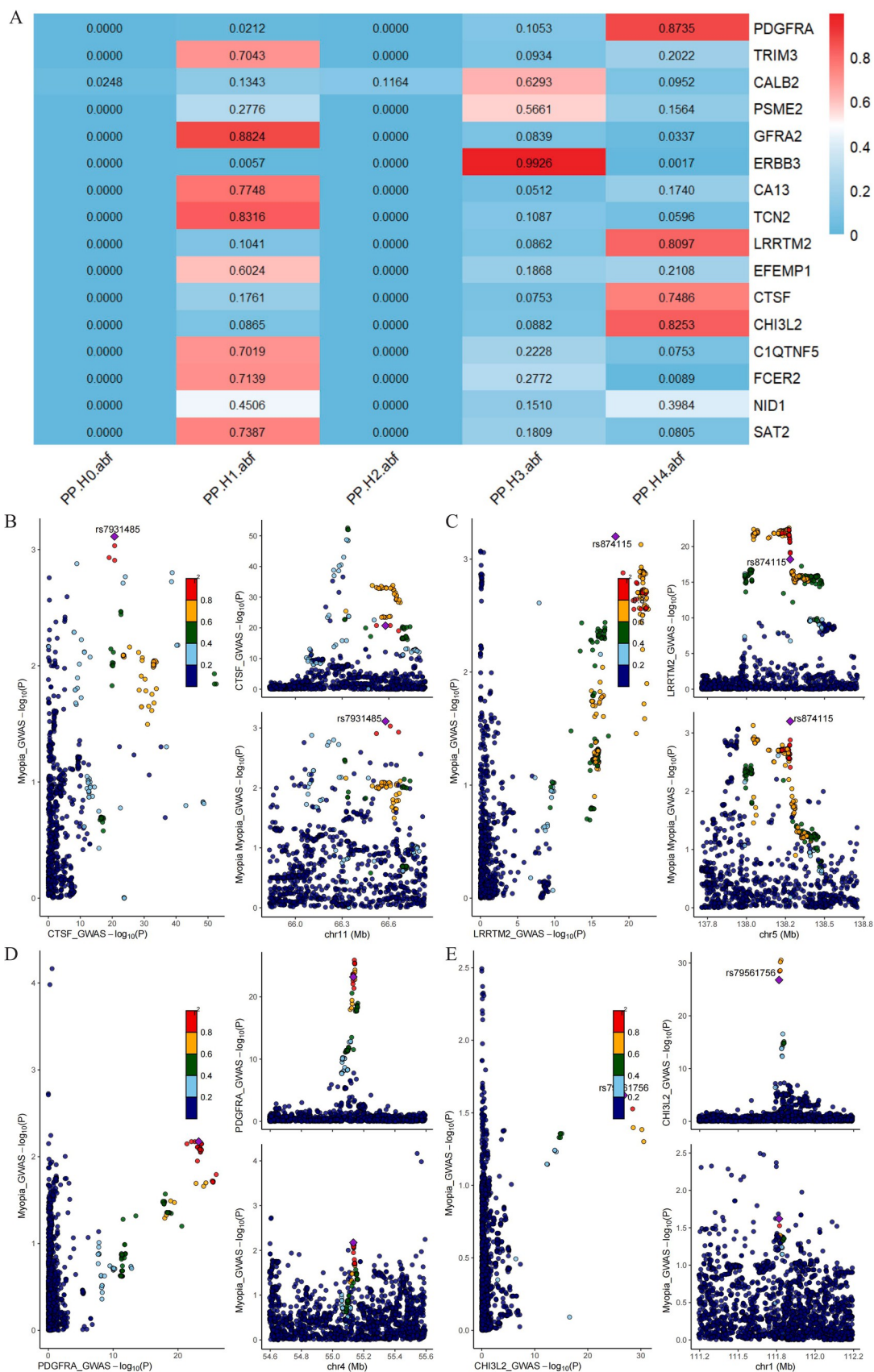
### 3.5. PPI dla potencjalnych białek docelowych

Zidentyfikowaliśmy kluczowe białka oddziałujące z celami obecnie dostępnych białek związanych z krótkowzrocznością i PM (rys. 5A, 5B). Korzystając z bazy danych STRING, zidentyfikowaliśmy kilka znanych i wiarygodnych interakcji, w tym rolę PDGFRA w oddziaływaniu z wieloma białkami, które mogą odgrywać kluczową rolę w patogenezie krótkowzroczności. Ponadto stwierdzono, że PCOLCE ma potencjalne znaczenie terapeutyczne w leczeniu PM.

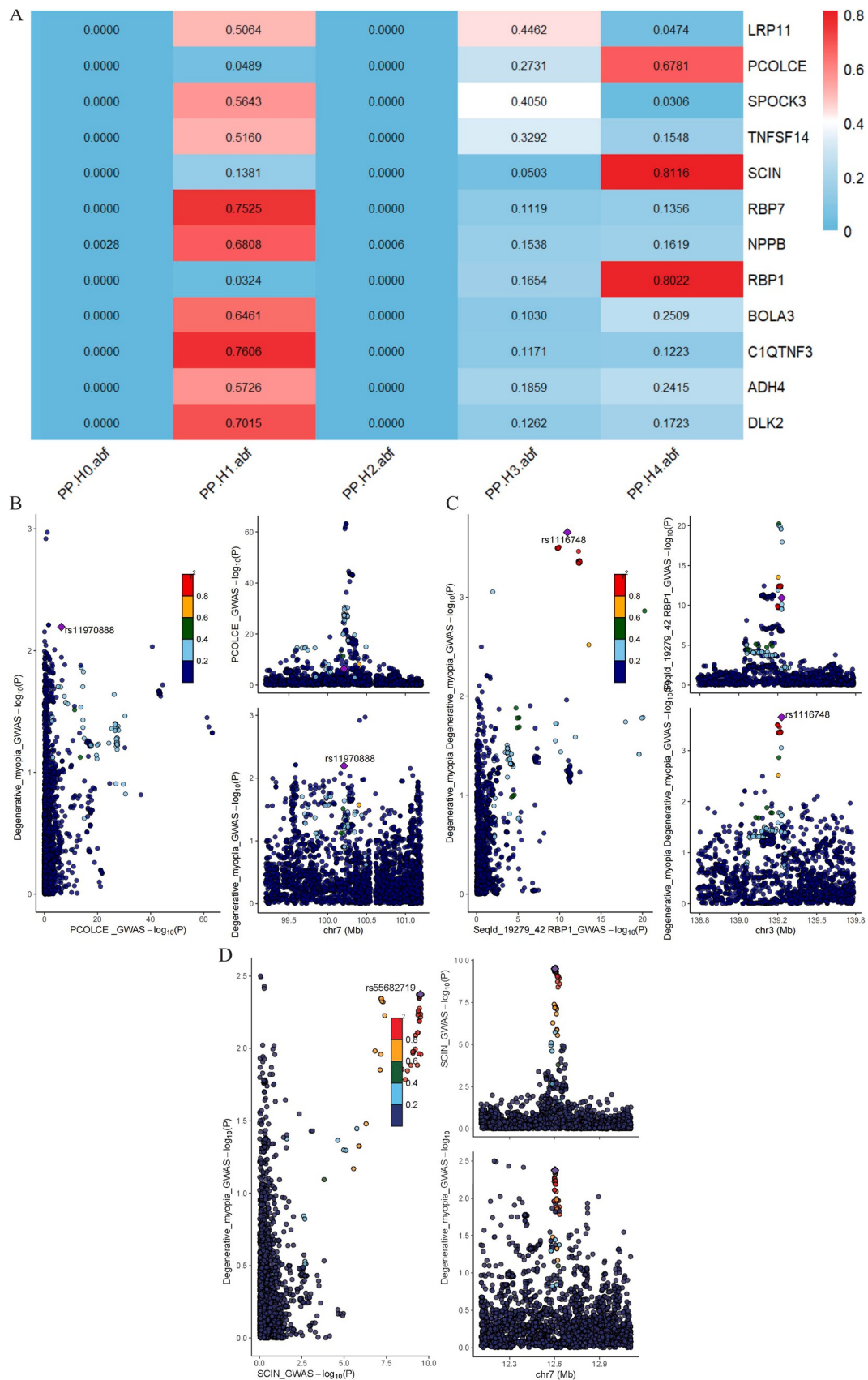
### 3.6. Analiza wzbogacenia szlaków metabolicznych

Zidentyfikowaliśmy 49 metabolitów, które wykazywały istotne związki przyczynowo-skutkowe z krótkowzrocznością (tabela S23, S24, S25) oraz 39 metabolitów, które wykazywały istotne związki przyczynowo-skutkowe z PM (tabela S26, S27, S28). Następnie przeprowadziliśmy analizę wzbogacenia tych metabolitów i sklasyfikowaliśmy je za pomocą analiz szlaków KEGG i HMDB. W analizie szlaków KEGG (rys. S3A, tabela S30) najbardziej znacząco wzbogacone szlaki metaboliczne związane z krótkowzrocznością obejmowały metabolizm kofeiny, metabolizm skrobi i sacharozy, metabolizm fruktozy i mannozy, metabolizm galaktozy, degradację lizyny, metabolizm cysteiny i metioniny, metabolizm cukrów aminowych i cukrów nukleotydowych oraz biosyntezę pierwotnych kwasów żółciowych. Spośród nich metabolizm kofeiny wykazał największe wzbogacenie, co sugeruje potencjalną rolę szlaków metabolicznych związanych z kofeiną w krótkowzroczności. W analizie szlaków HMDB (rys. S3B) do najbardziej znacząco wzbogaconych szlaków należały biosynteza spermidyny i sperminy, metabolizm kofeiny, metabolizm skrobi i sacharozy, degradacja fruktozy i mannozy, metabolizm cukrów aminowych, metabolizm galaktozy, metabolizm metioniny oraz biosynteza kwasów żółciowych. Udział metabolizmu poliamin (biosynteza spermidyny i sperminy) oraz metabolizmu kofeiny dodatkowo potwierdza hipotezę, że niektóre czynniki dietetyczne i metaboliczne mogą wpływać na rozwój krótkowzroczności.

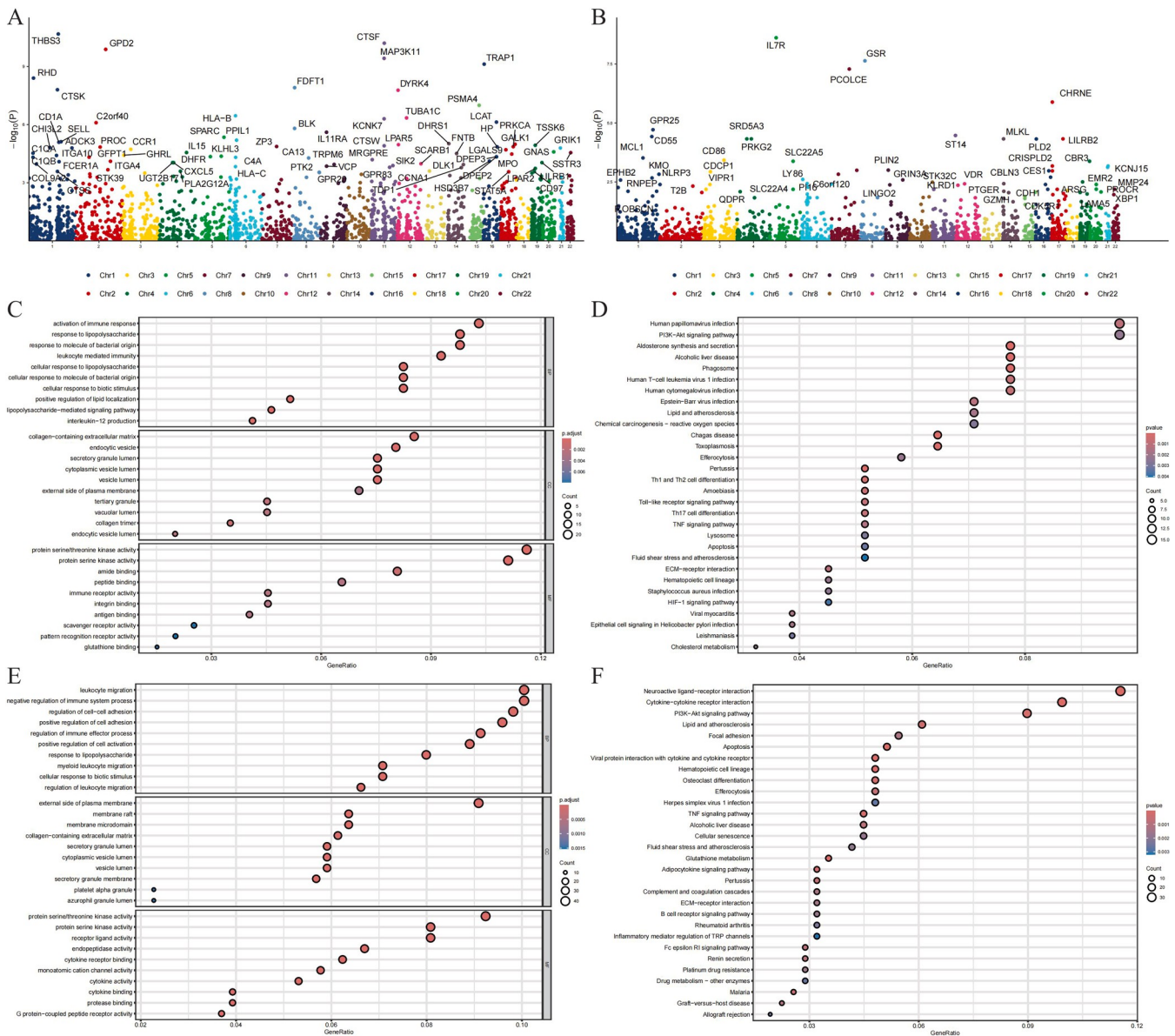
W przypadku PM analiza szlaków KEGG (rysunek S3C, tabela S31) zidentyfikowała metabolizm butanianu, metabolizm glicerolipidów, biosyntezę pantotenianu i CoA, metabolizm beta-alaniny, metabolizm propanianu, metabolizm argininy i proliny, metabolizm glicerofosfolipidów, metabolizm pirymidyny oraz degradację waliny, leucyny i izoleucyny jako najbardziej znaczące wzbogacone szlaki. Co ciekawe, metabolizm butanianu i metabolizm glicerolipidów były bardzo wzbogacone, co sugeruje



**Ryc. 2.** Wyniki kolokalizacji białek związanych z krótkowzrocznością. (A) Mapa ciepła przedstawiająca prawdopodobieństwa kolokalizacji (PP.H4) dla istotnych powiązań między białkami a cechami, gdzie wyższe wartości (kolor czerwony) wskazują na silniejsze dowody wspólnych sygnałów genetycznych. (B-E) Wykresy LocusZoom dla wybranych białek (CTSF, LRRTM2, PDGFRA, CHI3L2), pokazujące sygnały powiązania z GWAS krótkowzroczności i odpowiednimi QTL białek. Skala kolorów przedstawia nierównowagę sprzężeń genetycznych (LD) z wiodącym SNP.



**Ryc. 3.** Wyniki kolokalizacji białek związanych z patologiczną krótkowzrocznością. (A) Mapa ciepła prawdopodobieństwa kolokalizacji białek zidentyfikowanych w patologicznej krótkowzroczności. (B-D) Wybrane białka (PCOLCE, RBP1, SCIN) wykazujące sygnały powiązania z PM GWAS i odpowiednimi QTL białek. Skala kolorów przedstawia nierównowagę sprzężeń genetycznych (LD) z wiodącym SNP.



**Ryc. 4.** Wyniki randomizacji mendelowskiej (MR) w całym genomie, (A-B) Wykresy Manhattana wyników analizy MR dla krótkowzroczności i cech PM, podkreślające istotne powiązania między białkami a cechami. (C, E) Ontologia genów i (D, F) Analizy wzbogacenia szlaków KEGG dla zidentyfikowanych białek, pokazujące procesy biologiczne i szlaki istotnie wzbogacone wśród krótkowzroczności i PM.

**Tabela 1**

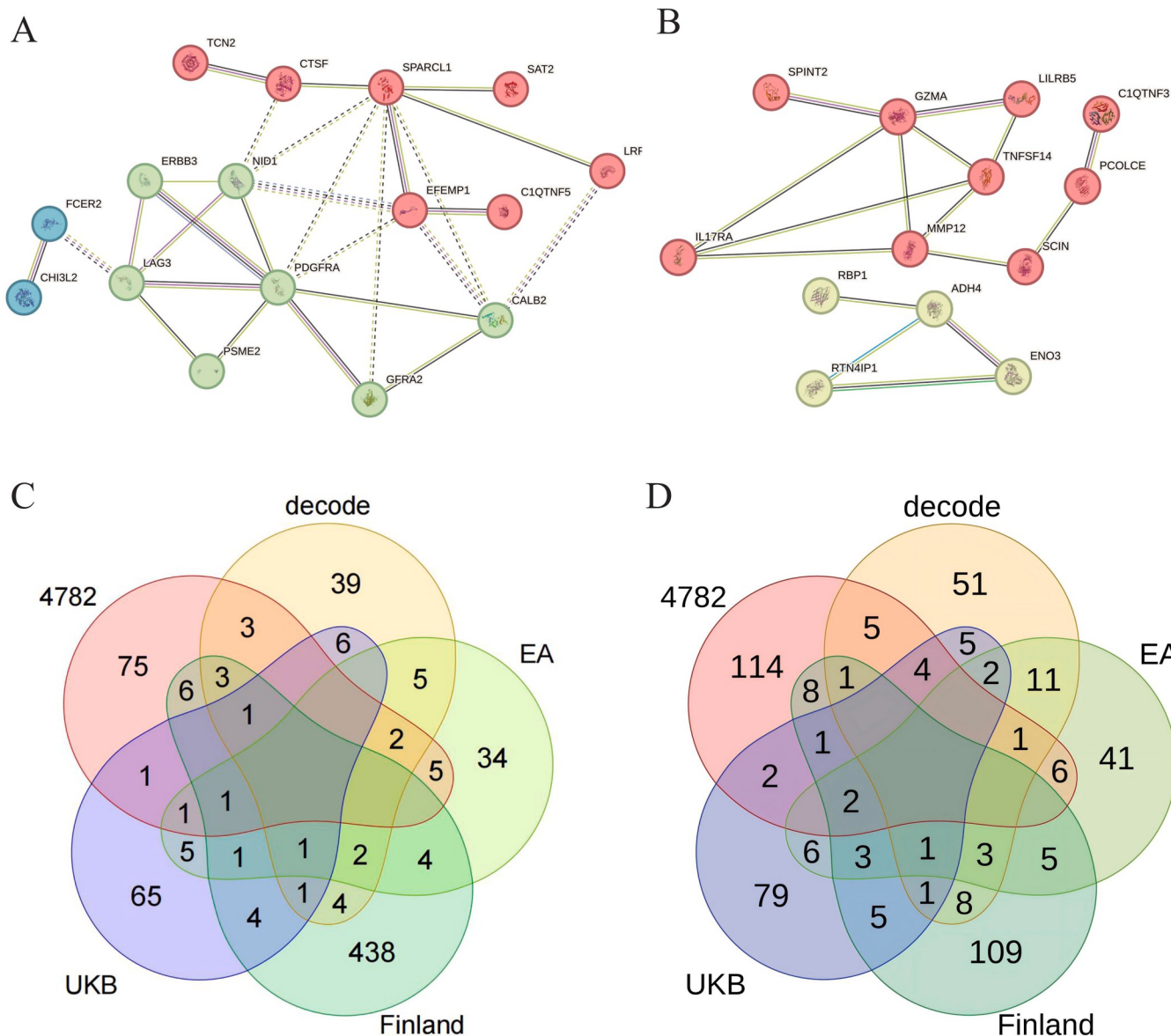
Priorytetyzacja białek związanych z krótkowzrocznością na podstawie analizy MR całego proteomu, eQTL MR i kolokalizacji.

Białko/gen	Analiza MR całego proteomu					MR eQTL Możliwość zastosowania leków P	Kolokalizacja PPH4 > 0,5 słaby PPH4 > 0,8 silny	Kategoria
	AGES P	Dekodowanie P	ARIC P	Finlandia P	UKB P			
PDGFRA	<b>0,0245</b>	0,488	<b>0,0160</b>	<b>0,0186</b>	<b>0,0192</b>	Brak	<b>0,874</b>	Poziom 1
CHI3L2	<b>0,0414</b>	<b>0,0499</b>	<b>0,0499</b>	0,752	Brak	<b>1,53E-05</b>	<b>0,825</b>	Poziom 1
CTSF	<b>0,0319</b>	0,153	<b>0,0143</b>	<b>0,0391</b>	<b>0,0143</b>	<b>6,28E-11</b>	<b>0,749</b>	Poziom 1
LRRTM2	Brak	<b>0,00227</b>	<b>0,00277</b>	<b>0,0244</b>	NA	Brak	<b>0,810</b>	Poziom 2
CAI3	0,0560	<b>0,0114</b>	<b>0,0274</b>	<b>0,0495</b>	<b>0,0272</b>	<b>5,29E-05</b>	0,174	Poziom 2
FCER2	<b>0,0171</b>	<b>0,0318</b>	0,0597	<b>0,0441</b>	0,351	<b>0,0220</b>	0,00890	Poziom 2
ERBB3	Brak	<b>0,00883</b>	<b>0,00883</b>	<b>0,0150</b>	0,4958	<b>0,00510</b>	0,00168	Poziom 2
NID1	<b>0,00266</b>	0,113	Brak	<b>0,0288</b>	<b>0,00656</b>	0,183	0,398	Poziom 3
TRIM3	Brak	<b>0,0144</b>	<b>0,0145</b>	<b>0,0138</b>	NA	Brak	0,202	Poziom 3
CALB2	Brak	<b>0,00902</b>	<b>0,0239</b>	Brak	<b>0,0146</b>	NA	0,0952	Poziom 3
SAT2	0,902	<b>0,0323</b>	0,240	<b>0,0176</b>	<b>0,00265</b>	Brak	0,0805	Poziom 3
C1QTNF5	<b>0,0289</b>	<b>0,00598</b>	Brak	0,112	<b>0,0340</b>	Brak danych	0,0753	Poziom 3
TCN2	0,992	<b>0,0180</b>	<b>0,0338</b>	0,0626	<b>0,0233</b>	0,265	0,0596	Poziom 3
GFRA2	0,147	0,626	<b>0,0477</b>	<b>0,0181</b>	<b>0,0392</b>	Brak danych	0,0337	Poziom 3

**Tabela 2**

Priorytetyzacja białek związanych z PM na podstawie analizy MR całego proteomu, MR eQTL i kolokalizacji.

Białko/gen	Analiza MR całego proteomu					MR eQTL Możliwość zastosowania leków <i>P</i>	Kolokalizacja PPH4>0,5 słaby PPH4>0,8 silny	Kategoria
	AGES <i>P</i>	Dekodowanie <i>P</i>	ARIC <i>P</i>	Finlandia <i>P</i>	UKB <i>P</i>			
<b>RBP1</b>	0,987	<b>0,00137</b>	<b>0,00137</b>	<b>0,00024</b>	<b>0,00137</b>	0,190	<b>0,802</b>	Poziom 1
PCOLCE	<b>0,0472</b>	<b>0,0472</b>	<b>0,00226</b>	<b>0,0347</b>	<b>0,0474</b>	<b>6,51E-11</b>	<b>0,678</b>	Poziom 1
SCIN	0,89262	<b>0,00646</b>	<b>0,00426</b>	<b>0,00062</b>	Brak	Brak	<b>0,812</b>	Poziom 2
NPPB	<b>0,0487</b>	0,06105	<b>0,044</b>	<b>0,044</b>	<b>0,0295</b>	Brak danych	0,162	Poziom 2
TNFSF14	<b>0,0291</b>	<b>0,0365</b>	Brak	<b>0,0234</b>	0,696	<b>0,0074</b>	0,155	Poziom 2
BOLA3	Brak	<b>0,00825</b>	<b>0,0231</b>	<b>0,0381</b>	Brak	0,429	0,251	Poziom 3
ADH4	<b>0,0179</b>	0,08715	<b>0,0179</b>	0,283	<b>0,0162</b>	Brak	0,242	Poziom 3
DLK2	<b>0,0417</b>	<b>0,0375</b>	<b>0,0284</b>	Brak	Brak danych	Brak danych	0,172	Poziom 3
RBP7	0,67962	Brak	<b>0,03005</b>	<b>0,0149</b>	<b>0,0134</b>	Brak	0,1366	Poziom 3
C1QTNF3	<b>0,0484</b>	<b>0,0484</b>	<b>0,0483</b>	0,43078	Brak	Brak danych	0,122	Poziom 3
LRP11	<b>0,00763</b>	<b>0,00244</b>	0,122	<b>0,0231</b>	0,0926	Brak	0,0474	Poziom 3
SPOCK3	<b>0,0439</b>	<b>0,0434</b>	Brak	<b>0,0487</b>	Brak	Brak	0,0306	Poziom 3



**Ryc. 5.** Sieci interakcji białko-białko (PPI) i walidacja międzykohortowa, (A-B) sieci PPI dla białek związanych z krótkowzrocznością i PM, ilustrujące kluczowe partnerów interakcji i moduły funkcjonalne. (C-D) Diagramy Venna pokazujące nakładanie się istotnych powiązań między białkami a cechami w różnych zestawach danych pQTL dotyczących krótkowzroczności i PM.

potencjalna rola metabolizmu lipidów w patogenezie PM. W analizie ścieżek HMDB (rysunek S3D) najważniejsze znacząco wzbogacone szlaki

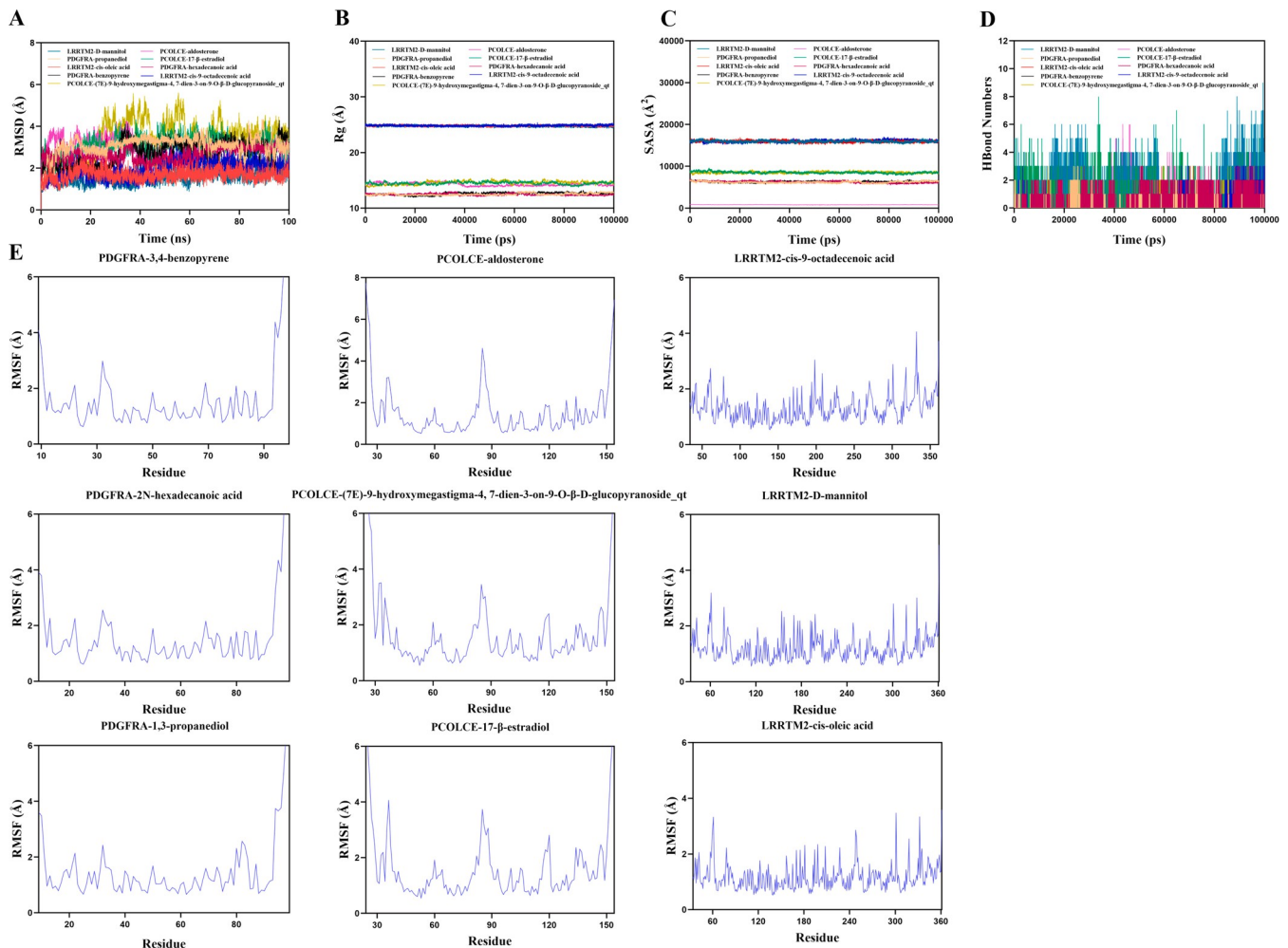
objęowały biosyntezy triacylogliceroli de novo, transport fosforanu glicerolu, biosyntezy kardiolipiny, metabolizm ciał ketonowych, metabolizm maślanu, mitochondrialny łańcuch transportu elektronów, metabolizm glicerolipidów, biosyntezy fosfolipidów oraz metabolizm androgenów i estrogenów. Odkrycia te wskazują na potencjalny udział metabolizmu energetycznego, funkcji mitochondriów i metabolizmu lipidów w PM. Ogólnie rzecz biorąc, nasze odkrycia sugerują, że metabolizm węglowodanów (skrobia, sacharoza, fruktoza i mannoza), metabolizm poliamin oraz metabolizm kofeiny są istotnie związane z krótkowzrocznością, podczas gdy metabolizm lipidów, funkcja mitochondriów i metabolizm ciał ketonowych wydają się mieć kluczowe znaczenie dla PM.

### 3.7. Dokowanie małych cząsteczek i symulacja dynamiki molekularnej

Przeprowadziliśmy dokowanie molekularne w celu przewidzenia potencjalnych miejsc wiązania PDGFRA, LRRTM2 i PCOLCE, najbardziej obiecujących białek docelowych dla terapii krótkowzroczności i PM, zidentyfikowanych w poprzednich analizach. Następnie obliczyliśmy energie wiązania między przewidywanymi kandydatami na leki a kompleksami białkowymi kodowanymi przez geny docelowe. Wyniki wykazały, że trzy kandydaci na leki dla każdego białka mogły z powodzeniem wiązać się z białkami docelowymi poprzez wiązania wodorowe i oddziaływania elektrostatyczne, zajmując kieszeń wiązania (rys. S4A–I).

Następnie przeprowadziliśmy symulacje MD w celu oceny stabilności wiązania tych cząsteczek leku z trzema białkami. Średni kwadratowy błąd (RMSD) jest podstawowym wskaźnikiem stabilności kompleksów białko-ligand. Jak pokazano na rys. 6A, LRRTM2-D-mannitol,

Kompleksy PDGFRA-propanediol, LRRTM2-cis-kwas oleinowy, PCOLCE-17- $\beta$ -estradiol i LRRTM2-cis-9-kwas oktadekenoowy osiągnęły równowagę po 98 ns, przy wahaniami RMSD wynoszących odpowiednio około 3,8 Å, 3,5 Å, 2,1 Å, 2,5 Å i 2,8 Å. Kompleksy PDGFRA-benzopiren, PCOLCE-(7E)-9-hydroksymegastigma-4,7-dien-3-on-9-O- $\beta$ -D-glukopiranozyd\_qt, PCOLCE-aldosteron i PDGFRA-kwas heksadekanoowy osiągnęły równowagę odpowiednio po 40 ns, 75 ns, 40 ns i 40 ns, przy czym wartości RMSD oscylowały wokół 3,5 Å, 4,0 Å, 2,6 Å i 3,0 Å, co wskazuje, że te małe cząsteczki wiążą się stabilnie z PDGFRA, LRRTM2 i PCOLCE. Dalsze analizy promienia gyracji (Rg) i powierzchni dostępnej dla rozpuszczalnika (SASA) wykazały, że wszystkie układy kompleksowe wykazywały stabilną zwartość strukturalną podczas symulacji (rys. 6B, 6C). Oddziaływania wiązań wodorowych mają kluczowe znaczenie w wiązaniu ligand-białko (rys. 6D). Podczas symulacji LRRTM2-D-mannitol utworzył 0–9 wiązań wodorowych (średnio 4), PDGFRA-propanediol utworzył 0–4 wiązania wodorowe (średnio 2), a PCOLCE-17- $\beta$ -estradiol utworzył 0–8 wiązań wodorowych (średnio 4). Inne kompleksy również utrzymywały 1–3 stabilne wiązania wodorowe, co sugeruje przewidywane interakcje między tymi małymi cząsteczkami a białkami docelowymi. Analiza średniej kwadratowej fluktuacji (RMSF) odzwierciedlała elastyczność reszt białkowych (rys. 6E). Wartości RMSF wszystkich układów kompleksowych były ogólnie niskie (głównie poniżej 3 Å), co wskazuje, że szkielet białka pozostawał stabilny, a regiony wiązania wykazywały sztywne struktury. Podsumowując, D-mannitol, propanediol, kwas cis-oleinowy, 17- $\beta$ -estradiol, kwas cis-9-oktadekenoowy, benzopiren, (7E)-9-hydroksymegastigma-4,7-dien-3-on-9-O- $\beta$ -D-glucopiranozyd\_qt, aldosteron, i kwas heksadekanoowy kwas utworzyły stabilne



**Ryc. 6.** Symulacje dynamiki molekularnej wybranych wariantów białek, wykresy szeregów czasowych odchylenia średniego kwadratowego (RMSD), promienia bezwładności (Rg) oraz analiza wiązań wodorowych dla białek posiadających zidentyfikowane warianty genetyczne, wskazujące stabilność strukturalną i zachowanie dynamiczne białek zmutowanych w porównaniu z białkami typu dzikiego.



metabolizm i szlaki łańcucha transportu elektronów w mitochondriach w krótkowzroczności, co sugeruje, że LRRTM2 może przyczynić się do reakcji na stres oksydacyjny i dysfunkcji synaptycznej poprzez zaburzenia regulacji lipidów. Zakłócenie homeostazy lipidowej w synapsie może upośledzać neurotransmisję, pogłębiając postęp krótkowzroczności.

Nasza analiza dokowania molekularnego zidentyfikowała kwas cis-9-oktadekenoowy jako silny związek wiążący się z LRRTM2, który może mieć potencjalne działanie terapeutyczne w krótkowzroczności.<sup>56</sup> Ten neuroaktywny lipid może przeciwdziałać pro-krótkowzrocznościowym działaniom LRRTM2 poprzez stabilizację synaps glutaminianergicznyc, przywrócenie równowagi neuroprzekazników i wzmocnienie sygnalizacji dopaminergicznej, zapobiegając w ten sposób nadmiernemu wydłużeniu gałki ocznej. Ponadto nasza analiza szlaków metabolicznych wykazała wzbogacenie metabolizmu glicerofosfolipidów w krótkowzroczności, co potwierdza tezę, że sygnalizacja lipidowa wpływa na neurotransmisję i kontrolę wzrostu gałki ocznej. Poprzez modulowanie interakcji lipidów w synapsie kwas cis-9-oktadekenoowy może pomóc w normalizacji funkcji synaptycznej, zmniejszeniu nadmiernej aktywacji szlaku ON i przywróceniu hamowania wydłużania osiowego za pośrednictwem dopaminy, co podkreśla jego potencjał jako nowego środka terapeutycznego w leczeniu krótkowzroczności.

#### 4.4. PCOLCE i biomechanika twardówki w krótkowzroczności

PCOLCE jest głównym regulatorem przetwarzania kolagenu i stabilności biomechanicznej twardówki, które są kluczowymi czynnikami w progresji PM.<sup>57</sup> Nasze odkrycia sugerują, że wyższa ekspresja PCOLCE wiąże się ze zwiększonym ryzykiem PM, co wskazuje na rolę PCOLCE w przebudowie kolagenu twardówki i osłabieniu biomechanicznym. PCOLCE wzmacnia aktywność prokolagenowej proteazy C, ułatwiając dojrzewanie włókien kolagenu typu I.<sup>58</sup> Zwiększona degradacja kolagenu i zmniejszone sieciowanie włókienek w krótkowzroczności prowadzą do ścięnięcia twardówki i niestabilności biomechanicznej, sprzyjając dalszemu wydłużaniu osiowemu.<sup>59</sup> PCOLCE może pośredniczyć w tych efektach poprzez modulowanie organizacji włókienek kolagenowych i sztywności ECM, przyczyniając się do postępującego osłabienia twardówki obserwowanego w wysokiej krótkowzroczności i PM.

Ponadto PCOLCE oddziałuje z sygnalizacją TGF- $\beta$  i MMP, kluczowymi regulatorami przebudowy twardówki w krótkowzroczności.<sup>60</sup> Degradacja ECM indukowana przez TGF- $\beta$  jest dobrze znaną cechą eksperymentalnych modeli krótkowzroczności.<sup>61</sup> Dodatkowo wyniki wzbogacenia KEGG zidentyfikowały interakcję ECM-receptor jako znaczącą ścieżkę związaną z krótkowzrocznością, potwierdzając rolę PCOLCE w przebudowie ECM.

Nasza analiza dokowania molekularnego zidentyfikowała 17-beta-estradiol jako silny związek wiążący się z PCOLCE, co sugeruje jego potencjał wzmacniania struktury kolagenu twardówki.<sup>62</sup> Estrogen jest znany z regulowania homeostazy ECM, funkcji fibroblastów i sieciowania kolagenu, które mają kluczowe znaczenie dla stabilności twardówki.<sup>63</sup> Dodatkowo PCOLCE oddziałuje z sygnalizacją TGF- $\beta$ , głównym regulatorem aktywności fibroblastów twardówki. Zaburzenia regulacji sygnalizacji TGF- $\beta$  są powiązane z krótkowzrocznością, szczególnie w przypadku degradacji ECM.<sup>64</sup> Poprzez modulowanie przetwarzania kolagenu za pośrednictwem TGF- $\beta$ , 17-beta-estradiol może wzmacniać właściwości rozciągliwe twardówki i ograniczać wydłużenie osiowe w PM.

#### 4.5. Kierunki rozwoju: strategie opracowywania i dostarczania leków

Konieczne są dalsze badania w celu potwierdzenia skuteczności tych małych cząsteczek w modelach eksperymentalnych. Przyszłe badania powinny skupiać się na badaniach *in vitro* w hodowlach fibroblastów twardówki i neuronów siatkówki w celu oceny ich wpływu na metabolizm ECM, sygnalizację neuroprzekazników i sieciowanie kolagenu. Ponadto badania *in vivo* na modelach zwierzęcych będą miały zasadnicze znaczenie dla oceny farmakokinetyki, biodostępności i potencjału terapeutycznego. Kolejną ważną kwestią jest opracowanie skutecznych metod podawania leków. Krople do oczu mogą być skuteczne w przypadku związków ukierunkowanych na LRRTM2, które modulują neurotransmisję. Jednak terapie ukierunkowane na twardówkę, takie jak wstrzyknięcia do ciała szklistego lub implanty o przedłużonym uwalnianiu, mogą być bardziej skuteczne w przypadku związków stabilizujących ECM, takich jak inhibitory PDGFRA i PCOLCE. Zamknięcie w systemach podawania leków opartych na nanocząsteczkach może poprawić penetrację oka

i zapewnić długotrwałe efekty terapeutyczne, co czyni je obiecującym podejściem do długoterminowego leczenia krótkowzroczności i PM.

#### 4.6. Mocne strony i ograniczenia badania

W niniejszym badaniu systematycznie zintegrowano MR, analizę kolokalizacji, sieci PPI, wzbogacenie szlaków metabolicznych oraz symulacje dokowania molekularnego w celu zbadania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw krótkowzroczności i PM. Istotną zaletą jest wykorzystanie narzędzi genetycznych z szeroko zakrojonych badań GWAS, co minimalizuje ryzyko wystąpienia czynników zakłócających i odwrotnej przyczynowości. Połączenie danych multiomicznych z analizą wzbogacenia funkcjonalnego i interakcji lekców wzmacnia biologiczne znaczenie zidentyfikowanych białek PDGFRA, LRRTM2 i PCOLCE, podkreślając ich rolę w przebudowie ECM, neurotransmisji i stabilności kolagenu twardówki. Ponadto symulacje dokowania molekularnego i MD potwierdzają potencjalnych kandydatów terapeutycznych, zapewniając perspektywę translacyjną dla przyszłego rozwoju leków.

### 5. Ograniczenia badania

#### 5.1. Specyficzność tkanki ocznej

Nasze instrumenty pochodziły głównie z zasobów pQTL/eQTL krwi pełnej, podczas gdy głównymi tkankami chorobowymi w przypadku krótkowzroczności/PM są twardówka, siatkówka i naczyniówka. Ta niezgodność może osłabiać sygnały istotne dla tkanki. Przyszłe analizy powinny integrować eQTL oparte na sekwencjonowaniu RNA siatkówki/twardówki lub proteomikę oka, wykonywać MR ważone tkanką i weryfikować kolokalizację w obrębie interwałów LD oka. Mapy ekspresji pojedynczych komórek i dostępności chromatyny z tkanek oka pozwolą na dalsze udoskonalenie przypisywania celów do typów komórek związanych z chorobą.

#### 5.2. Pochodzenie populacji i możliwość uogólnienia

Większość statystyk dotyczących ekspozycji i wyników wykorzystanych w niniejszym badaniu pochodzi z kohort o wysokim odsetku pochodzenia europejskiego ze względu na dostępność danych i wielkość próby. Może to osłabiać możliwość przeniesienia szacunków efektów na regiony o wysokiej częstości występowania, takie jak Azja Wschodnia, gdzie struktura LD, częstotliwości alleli i interakcje między genami a środowiskiem są inne. Aby ograniczyć nadmierną interpretację, traktujemy ekstrapolację między pochodzeniami jako generowanie hipotez i nakreślamy następujące priorytety dla przyszłych prac: (i) powtórzenie MR i kolokalizacji w całym proteomie i transkryptomie w kohortach z Azji Wschodniej; (ii) wdrożenie kolokalizacji/dokładnego mapowania międzygenicznego w celu zmniejszenia zjawiska łączenia spowodowanego LD; oraz (iii) porównanie siły instrumentów i wielkości efektów przyczynowych w różnych grupach pochodzenia przy użyciu zharmonizowanych fenotypów. Kroki te są niezbędne przed jakimkolwiek zastosowaniem klinicznym w różnych populacjach.

#### 5.3. Instrumenty pQTL pochodzące od dorosłych i ekstrapolacja na krótkowzroczność u dzieci

Nasze instrumenty pQTL zostały uzyskane głównie z kohort osób dorosłych i starszych. MR szacuje wpływ genetycznej podatności na krótkowzroczność i ryzyko PM w ciągu całego życia i zasadniczo nie zależy od wieku w momencie pomiaru. Jeśli jednak białka docelowe wykazują regulację specyficzną dla wieku lub tkanki, wielkość efektu międzywiekowego może ulec osłabieniu, co ogranicza ekstrapolację na krótkowzroczność dziecięcą. Aby zmniejszyć tę niepewność, nadaliśmy priorytet instrumentom cis pQTL i zastosowaliśmy kolokalizację, a wyniki interpretujemy jako generujące hipotezy. W przyszłych pracach należy powtórzyć wyniki w zestawach danych pediatrycznych lub stratyfikowanych według wieku oraz w zasobach specyficznych dla tkanki ocznej, a także wykorzystać analizy genów według wieku i solidne metody MR w celu oceny spójności.

### 6. Wnioski

Wykorzystując uzupełniające analizy genetyczne i systemowe, niniejsze badanie wskazuje PDGFRA, LRRTM2 i PCOLCE jako kandydatów do dalszych

badania nad krótkowzrocznością i PM. MR i kolokalizacja potwierdzają potencjalną rolę w przebudowie ECM, neurotransmisji siatkówkowej i biomechanice twardówki. Symulacje dokowania i MD sugerują, że chemotypy takie jak 1,3-propanodiol, kwas cis-9-oktadekanoowy i 17-beta-estradiol zasługują na priorytetowe traktowanie, ale wyniki te pozostają hipotezą i nie potwierdzają skuteczności terapeutycznej. Przyszłe prace powinny obejmować walidację opartą na komórkach i in vivo, badanie modulacji docelowej oraz strategię dostarczania w celu oceny potencjału translacyjnego.

### Zatwierdzenie etyczne i zgoda na udział

Badanie zostało zatwierdzone przez Komisję Etyczną Szpitala Okulistycznego w Tianjin (nr KY-2023WJW011).

### Wkład autorów

Pierwotny projekt: Jingwen Hui i Xuehao Cui. Analiza danych: Xuehao Cui i Jingwen Hui. Pomysł: Xuehao Cui i Quanhong Han. Projekt schematu: Xuehao Cui i Quanhong Han. Recenzja manuskryptu: Jingwen Hui i Quanhong Han. Wszyscy autorzy przeczytali i zatwierdzili ostateczną wersję manuskryptu.

### Zgoda na publikację

Wszyscy autorzy przeczytali i zatwierdzili ostateczną wersję niniejszego manuskryptu do przedłożenia i publikacji.

### Świadoma zgoda

Nie dotyczy.

### Źródła danych i adresy URL oprogramowania

FinnGen R12 (<https://r12.finnngen.fi>); UK Biobank (<https://www.ukbiobank.ac.uk>); ARIC (<https://www2.cscce.unc.edu/aric/>); deCODE genetics (<https://www.decode.com>); GTEx Portal (<https://gtexportal.org>); eQTLGen (<https://www.eqtlgen.org>); OpenGWAS (<https://gwas.mrcieu.ac.uk>); STRING (<https://string-db.org>); KEGG (<https://www.kegg.jp>); HMDB (<https://hmdb.ca>); AutoDock Vina/AutoDock Tools (<http://autodock.scripps.edu>);

### Finansowanie

Praca została sfinansowana przez Tianjin Health Research Project (TJWJ2024QN077), Science and Technology Foundation of Tianjin Eye Hospital (YKPY2205) oraz Tianjin Key Medical Discipline Construction Project (TJYXZDXK-016A3-004A-3).

### Konflikt interesów

Wszyscy autorzy oświadczają, że nie występuje między nimi konflikt interesów.

### Podziękowania

Serdecznie dziękujemy konsorcjum FinGen, UK Biobank oraz OpenGwas Project za publiczne udostępnienie wszystkich danych wykorzystanych w niniejszej analizie MR.

### Załącznik A. Informacje uzupełniające

Dane uzupełniające związane z niniejszym artykułem można znaleźć w wersji online pod [adresem doi:10.1016/j.apjo.2026.100277](https://doi.org/10.1016/j.apjo.2026.100277).

### Dostępność danych

Dane przedstawione w niniejszym badaniu są dostępne w tym artykule i

materiałach uzupełniających.

### Referencje

- Baird PN, Saw SM, Lanca C, et al. Myopia. *Nat Rev Dis Prim.* 2020;6:99.
- Bullimore MA, Ritchey ER, Shah S, et al. Ryzyko i korzyści związane z kontrolą krótkowzroczności. *Ophthalmology.* 2021;128:1561–1579.
- Zhang X, Jiang J, Kong K, et al. Neuropatia nerwu wzrokowego w wysokiej krótkowzroczności: jaskra, wysoka krótkowzroczność czy jedno i drugie? *Prog Retin Eye Res.* 2024;99, 101246.
- Morgan IG, French AN, Ashby RS, et al. Epidemia krótkowzroczności: etiologia i profilaktyka. *Prog Retin eye Res.* 2018;62:134–149.
- Ohno-Matsui K, Lai TY, Lai C-C, et al. Aktualności dotyczące krótkowzroczności patologicznej. *Prog Retin eye Res.* 2016;52:156–187.
- Ohno-Matsui K, Wu P-C, Yamashiro K, et al. Patologiczna krótkowzroczność IMI. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2021;62:5, 5.
- Liu X, Yuan Y, Wu Y, et al. Szywność macierzy zewnątrzkomórkowej moduluje przebudowę twardówki w krótkowzroczności poprzez oś integracyjną/F-aktyna/YAP. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2025;66: 22, 22.
- Holden BA, Fricke TR, Wilson DA, et al. Globalna częstość występowania krótkowzroczności i wysokiej krótkowzroczności oraz trendy czasowe w latach 2000–2050. *Ophthalmology.* 2016;123: 1036–1042.
- Liang J, Pu Y, Chen J, et al. Globalna częstość występowania, trendy i prognozy dotyczące krótkowzroczności u dzieci i młodzieży w latach 1990–2050: kompleksowy przegląd systematyczny i metaanaliza. *Br J Ophthalmol.* 2024.
- Wojciechowski R. Natura i wychowanie: złożona genetyka krótkowzroczności i wad refrakcji. *Clin Genet.* 2011;79:301–320.
- National Academies of Sciences E. and Medicine. *Początek i postęp krótkowzroczności. Krótkowzroczność: przyczyny, zapobieganie i leczenie coraz powszechniejszej choroby.* National Academies Press (USA); 2024.
- Stambolian D, Wojciechowski R, Oexle K, et al. Metaanaliza badań asocjacyjnych całego genomu w pięciu kohortach ujawnia wspólne warianty w RBFOX1, regulatorze specyficznego dla tkanki splicingu, związanego z wadą refrakcji. *Hum Mol Genet.* 2013;22: 2754–2764.
- Li Q, Wojciechowski R, Simpson CL, et al. Badanie asocjacyjne całego genomu dotyczące astygmatyzmu refrakcyjnego ujawnia genetyczną współdecydującą rolę sferycznego ekwiwalentu wady refrakcji: konsorcjum CREAM. *Hum Genet.* 2015;134:131–146.
- Zhang Z, Lv L, Chen D, et al. Zmiany molekularne w płynie wewnątrzgałkowym: implikacje dla krótkowzroczności. *Int J Biol Sci.* 2024;20:5330.
- Zhang L, Yi K, Sun Q, et al. Nanokryształy palladu regulują przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej twardówki w postępującej krótkowzroczności poprzez modulowanie szlaku sygnałowego niedotlenienia Nrf-2/Ho-1. *J Control Release.* 2024;373:293–305.
- Naba A. Mechanizmy tworzenia i przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2024;25:865–885.
- Emdin CA, Khera AV, Kathiresan S. Randomizacja mendelowska. *Jama.* 2017;318: 1925–1926.
- Lovegrove CE, Howles SA, Furniss D, et al. Wnioskowanie przyczynowo-skutkowe w zdrowiu i chorobie: przegląd zasad i zastosowań randomizacji mendelowskiej. *J Bone Miner Res.* 2024;39:1539–1552.
- Burgess S, Swanson SA, Labrecque JA. Czy badania oparte na randomizacji mendelowskiej są odporne na błąd wynikający z odwrotnej przyczynowości? *Eur J Epidemiol.* 2021;36:253–257.
- Soleymani F, Paquet E, Viktor H, et al. Przewidywanie interakcji białko-białko za pomocą głębokiego uczenia: kompleksowy przegląd. *Comput Struct Biotechnol J.* 2022;20: 5316–5341.
- Gudjonsson A, Gudmundsdottir V, Axelsson GT, et al. Badanie asocjacyjne całego genomu białek surowicy ujawnia wspólne loci w powszechnymi chorobami. *Nat Commun.* 2022;13:480.
- Ferkingstad E, Sulem P, Atlason BA, et al. Integracja na dużą skalę proteomu osocza z genetyką i chorobami. *Nat Genet.* 2021;53:1712–1721.
- Zhang J, Dutta D, Ko'ttgen A, et al. Analizy proteomu osocza u osób pochodzenia europejskiego i afrykańskiego pozwalają zidentyfikować cis-pQTL i modele do badań asocjacyjnych całego proteomu. *Nat Genet.* 2022;54:593–602.
- Kurki MI, Karjalainen J, Palta P, et al. FinnGen dostarcza informacji genetycznych dotyczących dobrze scharakteryzowanej, izolowanej populacji. *Nature.* 2023;613:508–518.
- Sun BB, Chiou J, Traylor M, et al. Związki proteomiczne osocza z genetyką i zdrowiem w brytyjskim banku danych biologicznych UK Biobank. *Nature.* 2023;622:329–338.
- Projekt Genotype-Tissue Expression (GTEx). *Nat Genet.* 2013;45:580–585.
- Vo'sa U, Claringbould A, Westra HJ, et al. Analizy cis- i trans-eQTL na dużą skalę identyfikują tysiące loci genetycznych i wyników poligenicznych, które regulują ekspresję genów we krwi. *Nat Genet.* 2021;53:1300–1310.
- Chen Y, Lu T, Pettersson-Kymmer U, et al. Atlas genomowy metabolomu osocza nadaje priorytet metabolitom związanym z chorobami człowieka. *Nat Genet.* 2023;55:44–53.
- Lin Z, Deng Y, Pan W. Połączenie zalet ważenia odwrotnej wariancji i regresji Eggera w randomizacji mendelowskiej przy użyciu modelu mieszanego regresji. *PLoS Genet.* 2021;17, e1009922.
- Zhang Y, Li D, Zhu Z, et al. Ocena wpływu celów metforminy na ryzyko wystąpienia choroby zwyrodnieniowej stawów: badanie randomizacji mendelowskiej. *Osteoarthritis Cartil.* 2022;30: 1506–1514.
- Xiang Y, Zhang C, Wang J, et al. Identyfikacja powiązań między genami gospodarza a mikrobiomem u pacjentów z rakiem jelita grubego przy użyciu randomizacji mendelowskiej. *J Transl Med.* 2023;21: 535.
- Yuan S, Titova OE, Zhang K, et al. Białka osocza a zylna choroba zakrzepowo-zatorowa: prospektywna analiza kohortowa i analiza randomizacji mendelowskiej. *Br J Haematol.* 2023;201: 783–792.
- Shi J, Wang Z, Yi M, et al. Dowody oparte na randomizacji mendelowskiej i analizie kolokalizacji wzmacniają związek przyczynowo-skutkowy między zmianami strukturalnymi

- w określonych obszarach mózgu a ryzykiem stwardnienia zanikowego bocznego. *Front Neurosci*. 2024;18, 1333782.
34. Wang D, Rietdijk MH, Kamelia L, et al. Przewidywanie toksyczności rozwojowej benzo[a]pirenu (BaP) u szczurów metodą in vitro-in silico. *Arch Toxicol*. 2021; 95:3323–3340.
  35. Gao Z, Sasaoka T, Fujimori T, et al. Delecja genu PDGFR- $\beta$  wpływa na kluczowe funkcje fibroblastów ważne dla gojenia się ran. *J Biol Chem*. 2005;280: 9375–9389.
  36. Hammer AM, Sizemore GM, Shukla VC, et al. Aktywacja PDGFR- $\alpha$  w zębnie zwiększa sztywność macierzy, utrudnia rozwój przewodów sutkowych i przyspiesza wzrost guza. *Neoplasia*. 2017;19:496–508.
  37. Kumar A, Li X. PDGF-C i PDGF-D w chorobach oczu. *Mol Asp Med*. 2018;62:33–43.
  38. Boote C, Sigal IA, Grytz R, et al. Struktura i biomechanika twardówki. *Prog Retin eye Res*. 2020;74, 100773.
  39. Caban M, Owczarek K, Lewandowska U. Rola metaloproteinaz i ich inhibitorów tkankowych w chorobach oczu: skupienie się na potencjalnych mechanizmach. *Int J Mol Sci*. 2022;23:4256.
  40. Liu Y, Wen XM, Lui ELH, et al. Terapeutyczne ukierunkowanie na szlaki sygnałowe PDGF i TGF- $\beta$  w komórkach gwiaździstych wątroby za pomocą PTK787/ZK22258. *Lab Investig*. 2009;89:1152–1160.
  41. Hachana S, Larrive'e B. Sygnalizacja superrodziny TGF- $\beta$  w oku: implikacje dla patologii oczu. *Cells*. 2022;11:2336.
  42. Zhang H, Bajraszewski N, Wu E, et al. PDGFR mają kluczowe znaczenie dla aktywności PI3K/Akt i są negatywnie regulowane przez mTOR. *J Clin Investig*. 2007;117:730–738.
  43. Zhou L, Sun X, Huang Z, et al. Imatynib łagodził neowaskularyzację siatkówki poprzez hamowanie PDGFR- $\alpha$  i PDGFR- $\beta$ . *Cell Physiol Biochem*. 2018;48:263–273.
  44. Taeger J, Moser C, Hellerbrand C, et al. Ukierunkowanie na FGFR/PDGFR/VEGFR hamuje wzrost guza, angiogenezę i przerzuty poprzez oddziaływanie na komórki nowotworowe, komórki śródbłonka i perycyty w raku trzustki. *Mol Cancer Ther*. 2011;10:2157–2167.
  45. Vieira V, Calhella RC, Barros L, et al. Wgląd w wydajność ekstrakcji alkanodioli i glicerolu: wykorzystanie liści Juglans regia L. jako źródła związków bioaktywnych. *Molecules*. 2020;25:2497.
  46. Jeon K-I, Kumar A, Wozniak KT, et al. Określenie roli podziału mitochondriów w różnicowaniu miofibroblastów rogówki. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2022;63:2, 2.
  47. Richterich R, Moser H, Rossi E. Choroba Refsum (heredopathia atactica polyneuritiformis) Wrodzony błąd metabolizmu lipidów z odkładaniem się kwasu 3, 7, 11, 15-tetrametyloheksadekanowego – przegląd wyników badań klinicznych. *Humangenetik*. 1965; 1:322–332.
  48. De Wit J, Sylwestrak E, O'Sullivan ML i in. LRRTM2 oddziałuje z neureksyną 1 i reguluje tworzenie synaps pobudzających. *Neuron*. 2009;64:799–806.
  49. Liouta K. (2022). Motywy regulacyjne zaangażowane w transport LRRTM2 i stabilizację AMPAR zależną od LRRTM2 w synapsach pobudzających, Université de Bordeaux.
  50. Zhou X, Pardue MT, Iuvone PM, et al. Sygnalizacja dopaminowa a rozwój krótkowzroczności: jakie są kluczowe wyzwania. *Prog Retin eye Res*. 2017;61:60–71.
  51. Huang Y, Chen X, Zhuang J, et al. Rola dysfunkcji siatkówki w rozwoju krótkowzroczności. *Cell Mol Neurobiol*. 2023;43:1905–1930.
  52. Hayer S.N. (2014). Regulacja transkrypcji molekuł adhezyjnych komórek synaptycznych Lrrtm1 i Lrrtm2 zależna od aktywności neuronów.
  53. Kramer SG. Dopamina: neuroprzebieżnik siatkówki: I. Pobieranie, magazynowanie i stymulowane światłem uwalnianie H3-dopaminy w siatkówce in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1971;10: 438–452.
  54. Gonzalez-Calvo L, Dervishi E, Joy M, et al. Profilowanie ekspresji genomowej w mięśniach i tkance tłuszczowej podskórnej jagniąt w odpowiedzi na spożycie koncentratu uzupełnionego witaminą E. *BMC Genom*. 2017;18:1–19.
  55. Gabrielle PH. Metabolizm lipidów a choroby siatkówki. *Wiley Online Libr*. 2022.
  56. Iwahashi M, Yamaguchi Y, Kato T, et al. Zależność temperatury od konformacji molekularnej i struktury cieczy kwasu cis-9-oktadekanoowego. *J Phys Chem*. 1991;95: 445–451.
  57. Naik M. Ekspresja białek wzmacniających proteazę prokolagenu C w komórkach i tkankach beleczkowania naczyniowego oka człowieka. Centrum Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Północnego Teksasu w Fort Worth, 2013.
  58. Lagoutte P, Bettler E, Vadon-Le Goff S, et al. Prokolagen C-proteaza wzmacniająca-1 (PCPE-1), potencjalny biomarker i cel terapeutyczny w leczeniu zwiłknienia. *Matrix Biol*. 2021;11, 100062.
  59. Sun Y, Sha Y, Yang J, et al. Kolagen jest kluczowym białkiem docelowym dla przebudowy twardówki i zmian biomechanicznych w postępie i kontroli krótkowzroczności. *Heliyon*. 2024;10.
  60. Medikare V, Kandukuri LR, Ananthapur V, et al. Podstawy genetyczne mięśniaków macicy; przegląd. *J Reprod Infertil*. 2011;12:181.
  61. Najafi M, Farhood B, Mortezaee K. Sztywność i degradacja macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) jako czynniki sprzyjające rozwojowi nowotworów. *J Cell Biochem*. 2019;120:2782–2790.
  62. Tarnopolsky MA. Różnice między pleciami w metabolizmie wysiłkowym i rola 17-beta estradiolu. *Med Sci Sports Exerc*. 2008;40:648–654.
  63. Piperigkou Z, Karamanos NK. Ukierunkowanie sieci macierzy zewnątrzkomórkowej w nowotworach za pośrednictwem receptora estrogenowego. *Seminaria z biologii nowotworów*. Elsevier; 2020.
  64. Zhu X, Du Y, Li D, et al. Nieprawidłowa aktywacja sygnalizacji TGF- $\beta$ 1 przez MAF leży u podstaw patologicznego wzrostu soczewki w wysokiej krótkowzroczności. *Nat Commun*. 2021;12:2102.