



**Δράση «Εμβληματικές δράσεις σε διαθεματικές επιστημονικές περιοχές με ειδικό ενδιαφέρον για την σύνδεση με τον παραγωγικό ιστό» ID 16618**

Εθνικό δίκτυο έρευνας για την ανάδειξη της γενετικής βάσης των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer και Parkinson, την ανίχνευση αξιόπιστων βιοδεικτών και την ανάπτυξη καινοτόμων υπολογιστικών τεχνολογιών και θεραπευτικών στρατηγικών στη βάση της ιατρικής ακριβείας (BRAIN PRECISION, TAEDR-0535850)

**ΤΙΤΛΟΣ ΠΑΡΑΔΟΤΕΟΥ:** Παράγοντες τρόπου ζωής σε σχέση με τις νόσους Alzheimer και Parkinson

**ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 3:** Βιοχημικός και μοριακός χαρακτηρισμός του βιολογικού υλικού με στόχο την ανάδειξη της γενετικής βάσης των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer και Parkinson.

**ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ):** ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΔΕΔΟΥΣΗΣ (ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ)



### ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 3

Έκθεση με τίτλο: “Παράγοντες τρόπου ζωής σε σχέση με τις νόσους Alzheimer και Parkinson”

Ερευνητική ομάδα:

Γ. Δεδούσης, Ι.-Π. Καλαφάτη, Δ. Μπρέκου, Β. Καρακλή, Ε. Γρηγορίου, Μ.-Χ. Σπυροπούλου

#### 1. Εισαγωγή

Οι νευροεκφυλιστικές νόσοι Alzheimer (AD) και Parkinson (PD) αποτελούν από τις συχνότερες αιτίες απώλειας λειτουργικότητας σε μεγαλύτερες ηλικίες, με σημαντικό κοινωνικό και οικονομικό αντίκτυπο. Παρότι η ηλικία και η γενετική προδιάθεση είναι ισχυροί καθοριστικοί παράγοντες κινδύνου, η αιτιολογία τους είναι πολυπαραγοντική και περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση βιολογικών μηχανισμών με περιβαλλοντικές εκθέσεις και συμπεριφορές που συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της ζωής. Σε αυτό το πλαίσιο, οι παράγοντες τρόπου ζωής αποκτούν ιδιαίτερη σημασία, καθώς αποτελούν δυνητικά τροποποιήσιμους στόχους που μπορούν να επηρεάσουν την πορεία του κινδύνου πριν την κλινική εκδήλωση της νόσου.

Η βιβλιογραφία υποστηρίζει ότι πρότυπα διατροφής υψηλής ποιότητας όπως η Μεσογειακή Δίαιτα, η επαρκής φυσική δραστηριότητα, η υγιής διάρκεια/ποιότητα ύπνου και η αποφυγή του καπνίσματος σχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο γνωστικής έκπτωσης και νευροεκφυλιστικών εκβάσεων, μέσω μηχανισμών όπως η μείωση της χρόνιας φλεγμονής, η βελτίωση της αγγειακής λειτουργίας, η ρύθμιση του μεταβολισμού και η υποστήριξη της νευρωνικής πλαστικότητας. Ωστόσο, επειδή οι συμπεριφορές αυτές συνυπάρχουν και αλληλεπιδρούν, η αξιολόγηση του συνολικού «προφίλ τρόπου ζωής» μέσω συνδυαστικών δεικτών κινδύνου (Lifestyle Risk Scores) μπορεί να είναι πιο αντιπροσωπευτική από την μελέτη μεμονωμένων παραγόντων. Το Παραδοτέο

3.3 αξιοποιεί αυτή τη λογική, αναπτύσσοντας σταθμισμένα σκορ τρόπου ζωής (wLRS) για AD και PD σε μεγάλο πληθυσμό (UK Biobank) και εξετάζοντας την εφαρμογή/επαλήθευσή τους σε ελληνικές προοπτικές μελέτες, με στόχο να αποτιμηθεί κατά πόσο ένα συνολικό, προφίλ τροποποιήσιμων συμπεριφορών μπορεί να συμβάλει στην κατανόηση και την εκτίμηση του κινδύνου για νευροεκφυλιστικές νόσους.

## 2. Μεθοδολογία

Πραγματοποιήθηκαν προοπτικές μελέτες (επανελέγχου/follow-up) για τις μελέτες THISEAS, HELIC, NAFLD και OSTEOS. Οι επανελέγχοι διεξάχθηκαν εν μέρει μέσω τηλεφωνικής επικοινωνίας με τους εθελοντές, κατά την οποία συλλέχθηκαν δεδομένα σχετικά με το ιατρικό ιστορικό, τον τρόπο ζωής (διατροφικές συνήθειες, φυσική δραστηριότητα, κάπνισμα, ποιότητα ζωής) και τη γνωστική λειτουργία, τα οποία καταγράφηκαν με τη χρήση ψηφιακής πλατφόρμας. Επιπλέον, για μέρος των εθελοντών που συλλέχθηκαν δεδομένα μέσω τηλεφώνου πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες και διεξαγωγή συνεντεύξεων δια ζώσης ως εξής: i) με εθελοντές των μελετών THISEAS, NAFLD και OSTEOS στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, ii) με εθελοντές της μελέτης HELIC-MANOLIS στο Κέντρο Υγείας Ανωγείων και το Περιφερειακό Ιατρείο στις Γωνιές Μαλεβιζίου, στα πλαίσια του follow-up της μελέτης HELIC-MANOLIS και iii) με εθελοντές της μελέτης HELIC-POMAK στο Κέντρο Υγείας Εχίνου και Περιφερειακά του Ιατρείου στον Κένταυρο και τη Γλαύκη.

### 2.1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ ΚΑΙ ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΕΤΗΣ

Οι μελέτες THISEAS, HELIC, NAFLD και OSTEOS αποτελούν μελέτες παρατήρησης κατά τις οποίες συλλέχθηκαν δεδομένα σχετικά με το ιατρικό ιστορικό και οικογενειακό ιστορικό, τις συνήθειες του τρόπου ζωής (διατροφή, φυσική δραστηριότητα, κάπνισμα, ύπνος κ.α.) δημογραφικά και ανθρωπομετρικά. Επιπλέον συλλέχθηκαν δείγματα αίματος και πραγματοποιήθηκαν βιοχημικές αναλύσεις, απομόνωση DNA και γονοτύπηση. Παρακάτω περιγράφονται πιο αναλυτικά οι πληθυσμοί των ελληνικών προοπτικών μελετών.

Αντικείμενο της μελέτης Hellenic Isolated Cohorts | HELIC (<http://www.helic.org/>), αποτελεί ο πληθυσμός του Ορεινού Μυλοπόταμου της Κρήτης (HELIC-MANOLIS) και ο πληθυσμός των Πομάκων από τα χωριά του Νομού Ξάνθης (HELIC-POMAK). Κατά την αρχική φάση της μελέτης, στα τοπικά κέντρα υγείας Ανωγείων Κρήτης και Εχίνου Ξάνθης και περιφερειακά τους ιατρεία μεταξύ 2010 και 2013, συμμετείχαν συνολικά 1553 και 2.076 εθελοντές, αντίστοιχα.

Η αρχική μελέτη THISEAS ήταν επιδημιολογική μελέτη ασθενών-μαρτύρων που διεξάχθηκε με τρεις σκοπούς: την εύρεση νέων πολυμορφισμών που συμβάλλουν στον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, τον προσδιορισμό διατροφικών προτύπων που επηρεάζουν αυτόν τον κίνδυνο και τη διερεύνηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ των δύο αυτών παραγόντων κινδύνου. Οι ασθενείς της μελέτης THISEAS προήλθαν από καρδιολογικές κλινικές της Αθήνας, ενώ οι μάρτυρες από εξωτερικά ιατρεία και από δήμους και ΚΑΠΗ της Αθήνας. Συνολικά συμμετείχαν στη μελέτη 2565 ενήλικες ελληνικής καταγωγής από το 2006 έως το 2010.

Η μελέτη NAFLD ήταν επίσης μελέτη ασθενών-μαρτύρων και είχε σαν στόχο την εκτίμηση της επίδρασης γενετικών παραγόντων, συνηθειών τρόπου ζωής, καθώς και της αλληλεπίδρασής τους στην εμφάνιση NAFLD. Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελούνταν από 351 ενήλικες εθελοντές καυκάσιας καταγωγής που επισκέφτηκαν τα εξωτερικά ιατρεία του ηπατολογικού τμήματος και του τμήματος παχυσαρκίας του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών (Λαϊκό Νοσοκομείο) από το 2012 έως το 2015.

Όσον αφορά τη μελέτη OSTEOS, η δειγματοληψία διήρκησε από τον Ιούνιο του 2010 έως τον Ιούλιο του 2012 με έναν πληθυσμό 970 (830 γυναίκες και 133 άνδρες) ατόμων. Οι συμμετέχοντες ήταν άτομα κυρίως ελληνικής καταγωγής, χωρίς συγγένεια εξ' αίματος για να επιτευχθεί φυλετική ομοιογένεια. Η δειγματοληψία διεξήχθη σχεδόν σε όλη την Ελλάδα και κυρίως σε περιοχές που συμπεριλαμβάνουν τη Στερεά Ελλάδα, Πελοπόννησο, Θεσσαλία, Μακεδονία και κάποια νησιά του Αιγαίου, οι Δήμοι αυτοί ήταν: η Αττική, η Ηλεία, η Πάτμος, η Βοιωτία, η Φωκίδα, η Εύβοια, η Κόρινθος, η Χαλκίδα, η Άμφισσα, η Σαλαμίνα, η Φθιώτιδα, η Πέλλα, η Ελασσόνα, ο Βόλος και η Θεσσαλονίκη. 63 Η επιλογή των συμμετεχόντων έγινε τυχαία σε δραστηριότητες επικεντρωμένες στην προώθηση της καλής υγείας που οργανώθηκαν από το Σύλλογο Υποστήριξης των Ασθενών με Οστεοπόρωση σε συνεργασία με το Δήμο και τις Κοινότητες. Η διάρκεια των εκδηλώσεων ήταν δύο ημέρες κι η συμμετοχή ήταν εθελοντική και δωρεάν.

## 2.2 ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Κατά την διάρκεια της μελέτης μετρήθηκε το σωματικό βάρος με την χρήση ζυγαριάς ακριβείας -τις πρωινές ώρες και σε φάση νηστείας για καλύτερα αποτελέσματα- καθώς και το ύψος -χωρίς υποδήματα για μεγαλύτερη ακρίβεια- με την χρήση αναστημόμετρου. Στη συνέχεια, υπολογίστηκε ο ΔΜΣ (kg/m<sup>2</sup>) και χρησιμοποιήθηκε ως διαγνωστικό κριτήριο της κατάστασης του σωματικού βάρους των εθελοντών, κυρίως για την εύρεση του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας. Επιπλέον ανθρωπομετρικοί δείκτες αποτέλεσαν η μέτρηση της περιφέρειας μέσης

(ΠΜ) και της περιφέρειας ισχίου (ΠΙ), με την χρήση μεζούρας έτσι ώστε να προκύψει η αναλογία μέσης-ισχίου (WHR), λόγος που σε συνδυασμό με τον ΔΜΣ και την ΠΜ δείχνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιομεταβολικών συμπτωμάτων, όπως ΣΔΠ και καρδιαγγειακά νοσήματα (World Health Organisation (WHO), 2008).

### 2.3 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ

Η διατροφική πρόσληψη αξιολογήθηκε με το Mediterranean Diet Score (MedDiet score), έναν διατροφικό δείκτη που εκτιμά την ομοιότητα των διατροφικών συνηθειών ενός ατόμου με το πρότυπο της Μεσογειακής Δίαιτας (Panagiotakos, et al., 2007). Η βαθμολογία βασίζεται στην εβδομαδιαία κατανάλωση των ακόλουθων 9 ομάδων τροφίμων: μη επεξεργασμένα δημητριακά (ψωμί και ζυμαρικά ολικής αλέσεως, καστανό ρύζι κ.α), φρούτα, λαχανικά, όσπρια, πατάτες, ψάρια, κρέας και προϊόντα με βάση το κρέας, πουλερικά, πλήρη σε λιπαρά γαλακτοκομικά προϊόντα (όπως τυρί, γιαούρτι και γάλα), καθώς και πρόσληψη ελαιολάδου και αλκοόλ.

### 2.4 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΦΥΣΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

Η φυσική δραστηριότητα (ΦΔ) αξιολογήθηκε με το ερωτηματολόγιο Athens Physical Activity Questionnaire (APAQ), το οποίο περιέχει πληροφορίες για τις ώρες εργασίας, ύπνου, ανάπαυσης, διαβάσματος, αναψυχής, άσκησης και άλλων δραστηριοτήτων του εθελοντή (Kavouras, et al., 2016). Καταγράφεται επίσης το μέσο μεταφοράς που χρησιμοποιεί ο εθελοντής κατά κύριο λόγο. Η ποσοτικοποίηση της έντασης της ΦΔ πραγματοποιήθηκε με τον υπολογισμό του Επιπέδου ΦΔ (PAL | Physical Activity Level). Σε ότι αφορά τον τρόπο ζωής, συλλέχθηκαν και δεδομένα σχετικά με τις καπνιστικές συνήθειες των εθελοντών. Όσον αφορά το κάπνισμα, οι εθελοντές κατηγοριοποιήθηκαν σε μη καπνιστές, καπνιστές και πρώην καπνιστές κι επιπλέον προσδιορίστηκαν τα χρόνια καπνίσματος, τα χρόνια αποχής από το κάπνισμα και η ποσότητα των τσιγάρων, προκειμένου να υπολογιστεί ο δείκτης pack-years ή πακετοέτη, δηλαδή ο αριθμός τσιγάρων που καπνίζει κάποιος ημερησίως διαιρεμένος με το 20 επί τα χρόνια που καπνίζει).

### 2.5 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΓΝΩΣΤΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Το ερωτηματολόγιο που χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της γνωστικής λειτουργίας είναι το Telephone Interview for Cognitive Status (TICS) (Georgakis, et al., 2017). Το TICS είναι ένα σύντομο και εύκολα εφαρμόσιμο εργαλείο αξιολόγησης της γνωστικής λειτουργίας. Σε ελληνικό πληθυσμό. Χαρακτηρίζεται από υψηλή επαναληψιμότητα (συντελεστής συσχέτισης μεταξύ δοκιμής-επανεξέτασης 0,93), ειδικότητα (82%) και ευαισθησία (86%). Η διακριτική του ικανότητα για ανίχνευση άνοιας ήταν υψηλή (εμβαδόν κάτω από την καμπύλη, AUC: 0,85) με

κατώφλι την βαθμολογία 24/25. Το πιο ενδιαφέρον είναι ότι το TICS έχει επίσης έχει επαληθευτεί σε ελληνικό αγροτικό πληθυσμό με πρωτοβάθμια εκπαίδευση. Αποτελείται από 11 ερωτήσεις που εξετάζουν: τον προσανατολισμό, την προσοχή, τη μνήμη, τη γλώσσα, την εννοιολογική γνώση και την πράξη. Πριν από τις ερωτήσεις του ερωτηματολογίου δίνονταν οδηγίες στον επιτηρητή και στον εξεταζόμενο. Σύμφωνα με τους Jason Brandt και Marshal F. Folstein, η προτεινόμενη ποιοτική ερμηνεία για τη συνολική βαθμολογία του TICS είναι: 33-41 Χωρίς έκπτωση, 26-32 Διφορούμενο, 21-25 Ήπια έκπτωση,  $\leq 20$  Μέτρια έως σοβαρή έκπτωση. Τέλος, τα δημοσιευμένα ευρήματα στο Journal of Alzheimer's Disease, των Robinson, et al., (2021) δείχνουν ότι το TICS θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί όχι μόνο για τον έλεγχο της γνωστικής εξασθένησης, αλλά και για τον εντοπισμό ατόμων που κινδυνεύουν να αναπτύξουν νευροεκφυλιστικά νοσήματα, πολλά χρόνια πριν εκδηλωθούν εμφανή συμπτώματα.

## 2.6 Στατιστικές αναλύσεις δεδομένων UKBB

### 2.6.1 Δεδομένα και ορισμός νόσων

Όσον αφορά στην UK Biobank (UKBB), συμπεριλήφθηκαν δεδομένα από ~370.000 συμμετέχοντες με πλήρη δεδομένα τρόπου ζωής. Η νόσος Alzheimer ορίστηκε βάσει κωδικών ICD-10 (G30.\*) και algorithmic outcomes της UKBB. Στο αναλυτικό δείγμα περιλήφθηκαν περίπου 3.500 περιστατικά AD και >360.000 μάρτυρες. Η νόσος Parkinson ορίστηκε βάσει κωδικών ICD-10 (G20). Στο αναλυτικό δείγμα περιλήφθηκαν περίπου 2.100 περιστατικά PD και >365.000 μάρτυρες.

### 2.6.2 Παράγοντες τρόπου ζωής

Οι παράγοντες τρόπου ζωής που συμπεριλήφθηκαν στα σκορ που κατασκευάστηκαν ήταν:

- Φυσική δραστηριότητα (κατηγοριοποιημένη σε επίπεδα κινδύνου)
- Ποιότητα διατροφής, μέσω του δείκτη προσκόλλησης στο πρότυπο της Μεσογειακής Δίαιτας PYRAMID Mediterranean Diet Score (Shannon OM, Ranson JM, Gregory S, et al. *BMC Med.* 2023)
- Διάρκεια ύπνου (κατηγοριοποιημένη σε επίπεδα κινδύνου)
- Κάπνισμα (ιστορικό καπνίσματος)

### Ανάπτυξη σταθμισμένου σκορ τρόπου ζωής (wLRS)

Για κάθε νόσο αναπτύχθηκε σταθμισμένο σκορ τρόπου ζωής (wLRS) με χρήση λογιστικής παλινδρόμησης και δεδομένων baseline της UKBB. Η εκτίμηση των συντελεστών πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο διαδικασίας cross-validation (10-fold), ώστε να περιοριστεί η υπερπροσαρμογή και να διασφαλιστεί η γενικευσιμότητα του σκορ.

#### 2.6.3 Out-of-fold υπολογισμός και τυποποίηση

Για κάθε συμμετέχοντα, το wLRS υπολογίστηκε ως out-of-fold πρόβλεψη, δηλαδή από μοντέλο που είχε εκπαιδευτεί σε ανεξάρτητο υποσύνολο δεδομένων και δεν περιλάμβανε το ίδιο άτομο. Με τον τρόπο αυτό αποφεύχθηκε η διαρροή πληροφορίας (data leakage) και ο αισιόδοξος μεροληπτικός υπολογισμός του κινδύνου. Το out-of-fold σκορ τυποποιήθηκε (z-score), επιτρέποντας την ερμηνεία των αποτελεσμάτων ανά μία τυπική απόκλιση αύξησης του σκορ. Οι συντελεστές των επιμέρους παραμέτρων τρόπου ζωής εκτιμήθηκαν σε κάθε fold της διαδικασίας cross-validation. Οι μέσες τιμές των συντελεστών μεταξύ των folds παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα, αποκλειστικά για την περιγραφή της σχετικής συνεισφοράς των παραγόντων στο συνολικό σκορ, και χρησιμοποιούνται μόνο για την επαλήθευση των σκορ στις ελληνικές μελέτες.

Παράμετρος τρόπου ζωής	Mean weight – AD	Mean weight – PD
ΦΔ	-0.059	0.045
PYRAMID risk	0.453	0.320
Διάρκεια ύπνου	0.132	0.095
Κάπνισμα	0.099	-0.075

Η συσχέτιση του σκορ τρόπου ζωής με τον κίνδυνο εμφάνισης νόσου εκτιμήθηκε με λογιστική παλινδρόμηση, χρησιμοποιώντας αποκλειστικά το wLRS ως συνεχόμενη μεταβλητή. Όλα τα μοντέλα προσαρμόστηκαν για ηλικία, φύλο και δείκτη μάζας σώματος στο baseline (ΔΜΣ).

$$\text{Νόσος} \sim \text{wLRS} + \text{ηλικία} + \text{φύλο} + \text{ΔΜΣ}$$

### 3. Αποτελέσματα

#### 3.1 Περιγραφικά Χαρακτηριστικά Ελληνικών Μελετών

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων των ελληνικών μελετών.

Μεταβλητή	n	min	mean	sd	max
Ηλικία στο baseline	907	17	50.57	15.78	92
ΔΜΣ στο baseline	833	16.85	28.36	5.93	98
PYRAMID risk	622	-12.1	-8.01	1.25	-4.57
PyrMDS Score	622	4.57	8.01	1.25	12.1
Βάρος στο recruitment	859	41	77.36	16.7	150
WHR στο recruitment	758	0	1.14	6.58	180
TICS score	894	0	31.19	5.61	43
wLRS-PD	528	-1.1	-0.44	0.25	0.23
wLRS-AD	528	-5.26	-3.62	0.59	-1.82
VEGF score	329	-2.71	0.3	0.73	1.83
wLRS-AD κανονικοποιημένο	528	-2.79	0	1	3.07
VEGF score κανονικοποιημένο	329	-4.12	0	1	2.1
wLRS-PD κανονικοποιημένο	528	-2.57	0	1	2.63

ημένο					
VEGF score	329	-2.71	0.3	0.73	1.83
PGS000903	331	23.48	27.35	1.64	32.22
CD33 (ng/mL)	137	0.01	1.28	1.98	10.79
CD200 (pg/mL)	125	1.77	914.06	1124.89	5034.65
DPEP1 (ng/mL)	102	0.72	4.79	4.71	30.27
log(CD33)	137	0.01	0.6	0.59	2.47
log(CD200)	125	1.02	6.13	1.27	8.52
log(DPEP1)	102	0.54	1.56	0.58	3.44

Μεταβλητή	Κατηγορία	N	Συχνότητα
AD στο follow-up	Υγιείς	798	84.7%
	Ασθενείς	144	15.3%
PD στο follow-up	Υγιείς	804	85.4%
	Ασθενείς	138	14.6%
Φύλο	Γυναίκες	589	62.5%
	Άνδρες	353	37.5%
PA_category_risk	MET-min/week < 600	62	7.5%
	MET-min/week 600-3000	182	22%
	MET-min/week ≥3000	583	70.5%
Διάρκεια Ύπνου	<6 ή >9 ώρες/ημέρα	452	57.7%
	6 ή 9 ώρες/ημέρα	216	27.6%
	7-8 ώρες/ημέρα	115	14.7%

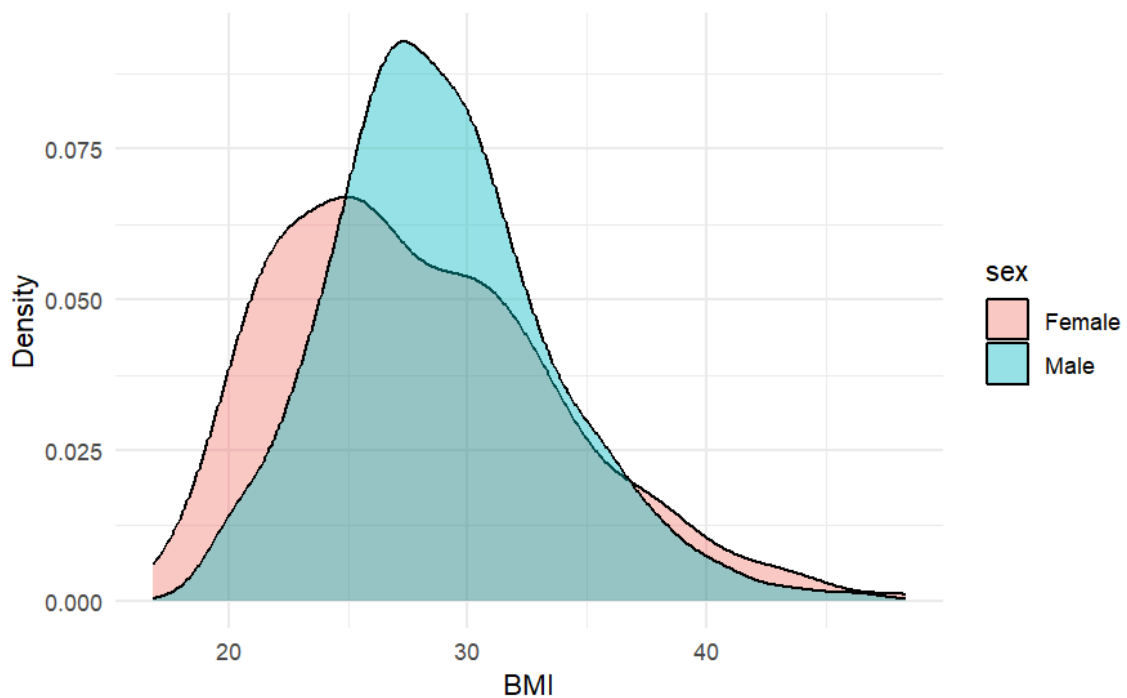
Κάπνισμα	Ποτέ καπνιστής/στρια	494	53%
	Νυν/πρώην καπνιστής/στρια	438	47%
MART	Ανιχνεύσιμα επίπεδα	7	0.7%
	Μη ανιχνεύσιμα επίπεδα	151	16%
GPNMB	Ανιχνεύσιμα επίπεδα	9	1%
	Μη ανιχνεύσιμα επίπεδα	150	15.9%

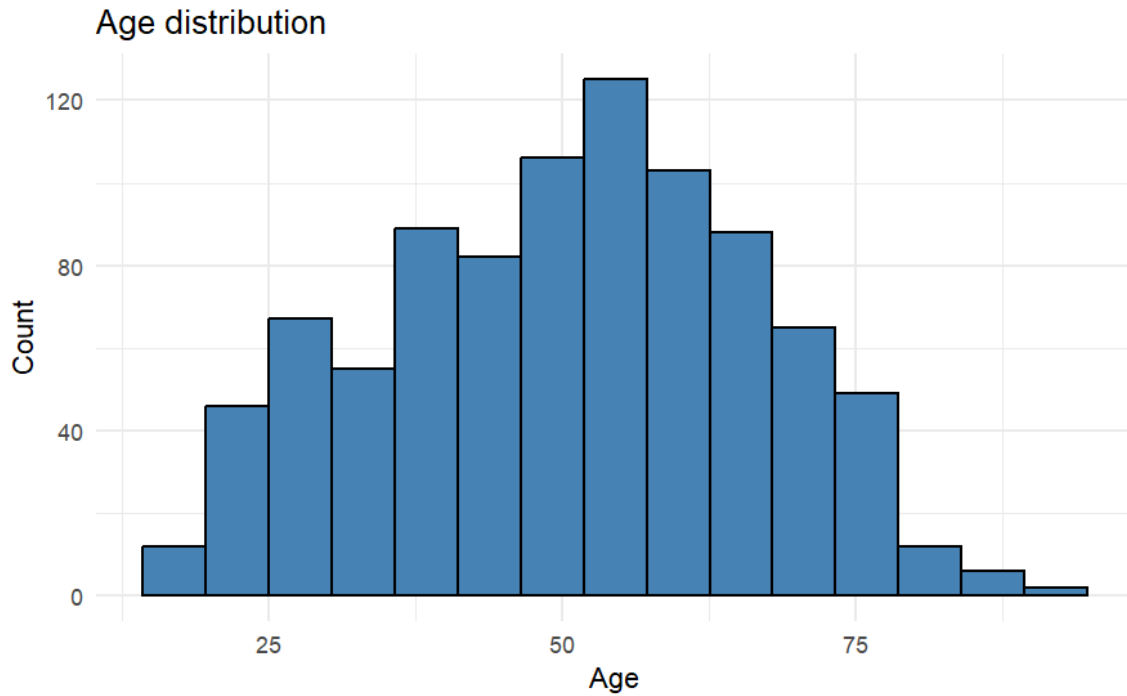
Στο ελληνικό δείγμα, οι συμμετέχοντες είχαν μέση ηλικία κατά την ένταξη στη μελέτη  $50.6 \pm 15.8$  έτη (εύρος 17–92,  $n=907$ ). Ο μέσος ΔΜΣ στο baseline ήταν  $28.4 \pm 5.9$  kg/m<sup>2</sup> ( $n=833$ , εύρος 16.9–98), ενώ το μέσο σωματικό βάρος ήταν  $77.4 \pm 16.7$  kg ( $n=859$ , εύρος 41–150). Ο λόγος μέσης περιφέρειας μέσης/ισχίων (WHR) ήταν διαθέσιμος για  $n=758$ , με μέση τιμή  $1.14 \pm 6.58$  (τιμές με πολύ μεγάλο εύρος, που πιθανόν υποδηλώνουν ακραίες/μη ρεαλιστικές καταγραφές και ανάγκη επιπλέον ελέγχου ποιότητας). Ο δείκτης γνωστική λειτουργία TICS, είχε μέση τιμή  $31.2 \pm 5.6$  ( $n=894$ , εύρος 0–43).

Όσον αφορά τη διατροφή, ο δείκτης PYRAMID risk ήταν διαθέσιμος για  $n=622$  (μέση τιμή  $-8.01 \pm 1.25$ , εύρος  $-12.1$  έως  $-4.57$ ), ενώ ο αντίστοιχος δείκτης προσκόλλησης PygMDS score είχε μέση τιμή  $8.01 \pm 1.25$  (εύρος  $4.57$ – $12.1$ ,  $n=622$ ), αντανακλώντας συνολικά μέτρια προς καλή προσκόλληση στο Μεσογειακό πρότυπο. Αναφορικά με τους παράγοντες τρόπου ζωής, για την πλειοψηφία του δείγματος η εκτίμηση της ΦΔ βρισκόταν στα υψηλότερα επίπεδα  $\geq 3000$  MET-min/week (70.5%), με μικρότερα ποσοστά στις κατηγορίες στα μέτρια (22%) και χαμηλά επίπεδα (7.5%). Επιπλέον, οι γυναίκες αποτελούσαν το 62.5% του δείγματος, ενώ οι άνδρες το 37.5%. Όσον αφορά τη διάρκεια ύπνου η πλειονότητα βρισκόταν στην κατηγορία της υπερβολικά χαμηλής (<6 ώρες/ημέρα) ή υψηλής (>9 ώρες/ημέρα) διάρκειας (57.7%), ακολουθούμενη από την κατηγορία με διάρκεια ίση με 6 ή 9 ώρες (27.6%) και έπειτα την κατηγορία με τη βέλτιστη διάρκεια των 7-8 ωρών (14.7%). Τέλος, ιστορικό καπνίσματος αναφέρθηκε στο 47% του δείγματος, ενώ το 53% δεν ήταν ενεργοί καπνιστές ποτέ στη ζωή τους.

Σε επίπεδο εκβάσεων, για τη νόσο Alzheimer (AD) καταγράφηκαν 144 περιστατικά (15.3%) και 798 μάρτυρες (84.7%), ενώ για τη νόσο Parkinson (PD) 138 περιστατικά (14.6%) και 804 μάρτυρες (85.4%). Τα σκορ κινδύνου ήταν διαθέσιμα σε υποσύνολα του δείγματος: το VEGF score για την AD ( $n=329$ , μέση τιμή  $0.30 \pm 0.73$ ) και το τυποποιημένο VEGF score (z) ( $n=329$ ,

μέση τιμή  $0 \pm 1$ , εύρος  $-4.12$  έως  $2.10$ ), ενώ το PGS000903 για την PD ήταν διαθέσιμο για  $n=331$  (μέση τιμή  $27.35 \pm 1.64$ , εύρος  $23.48-32.22$ ). Τα σταθμισμένα σκορ τρόπου ζωής ήταν διαθέσιμα για  $n=528$ , με μέση τιμή  $wLRS-PD = -0.44 \pm 0.25$  και  $wLRS-AD = -3.62 \pm 0.59$ , ενώ τα αντίστοιχα τυποποιημένα σκορ είχαν αναμενόμενη κατανομή (μέση τιμή  $0$ , SD  $1$ ). Τέλος, οι πρωτεϊνικοί βιοδείκτες ορού μετρήθηκαν σε μικρότερο υποσύνολο (περίπου  $n=102-163$  ανά πρωτεΐνη) και μετά από λογαριθμικό μετασχηματισμό, παρουσίασαν πιο ομαλές κατανομές [π.χ.  $\log(CD200)$  μέση τιμή  $6.13 \pm 1.27$ ,  $\log(CD33)$   $0.60 \pm 0.59$ ], υποστηρίζοντας την αξία της χρήσης τους σε επόμενες συσχετιστικές/διερευνητικές αναλύσεις.

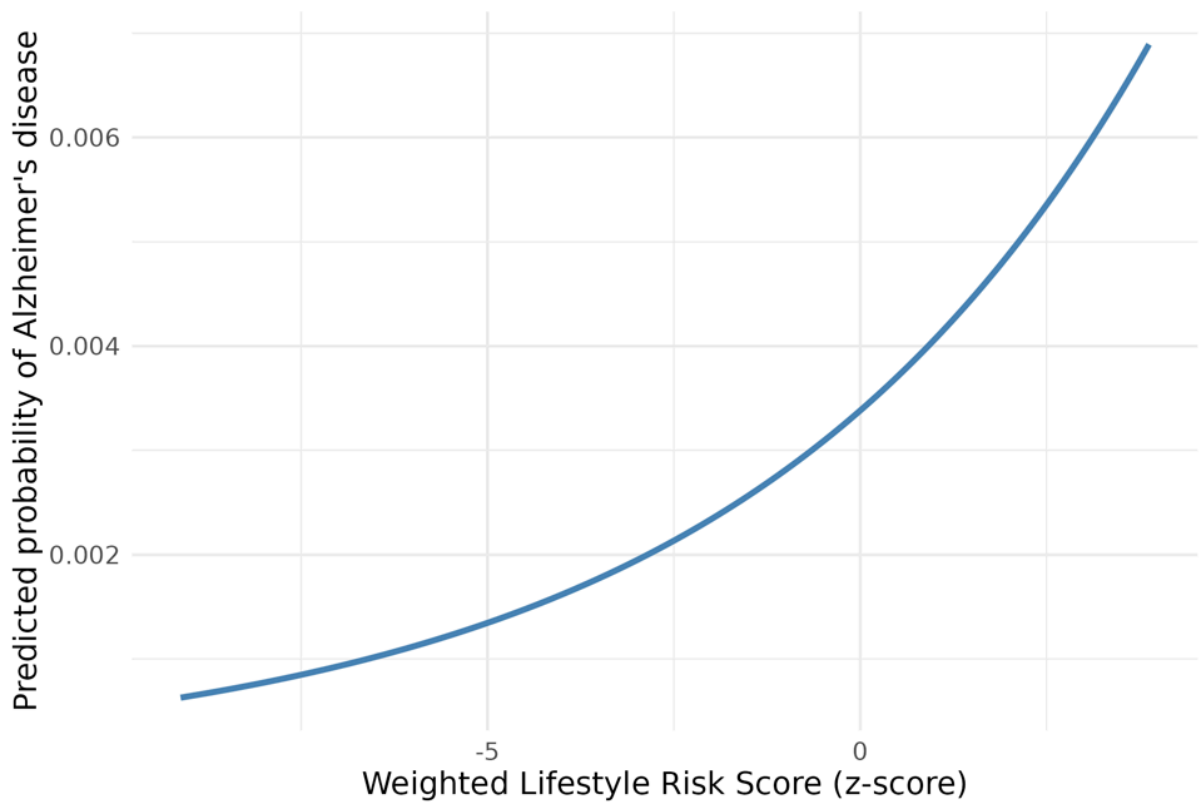
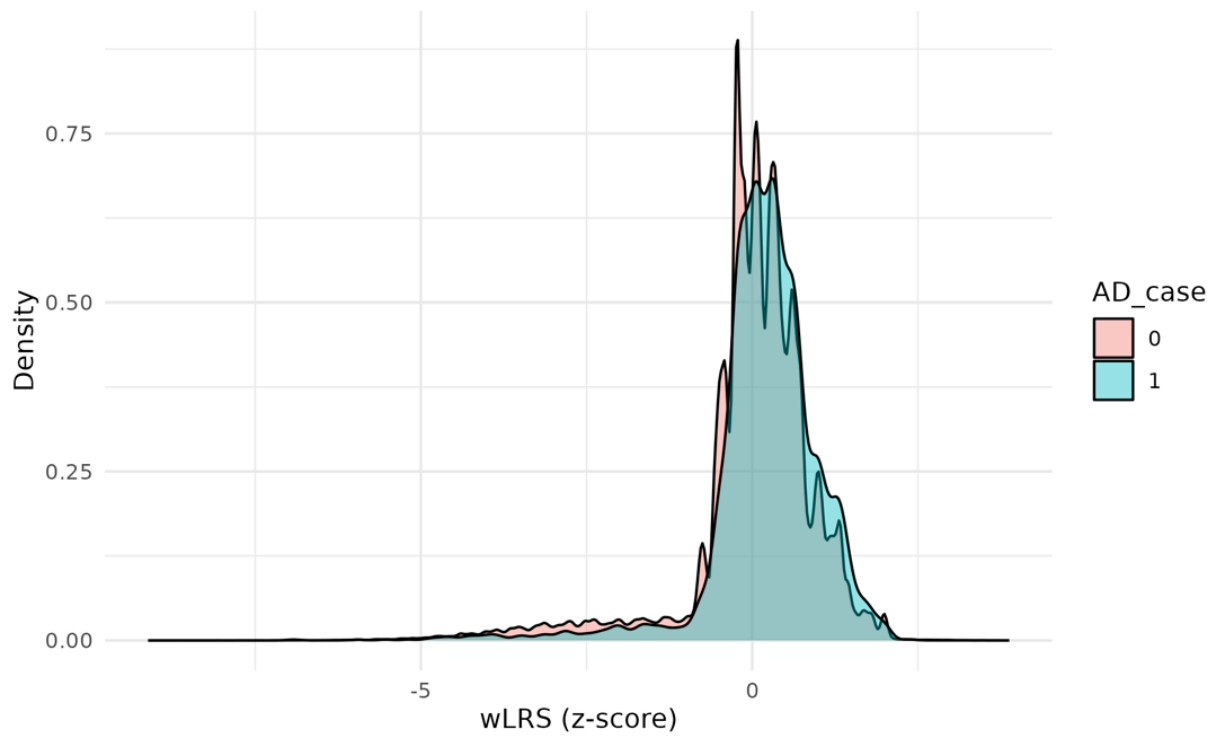


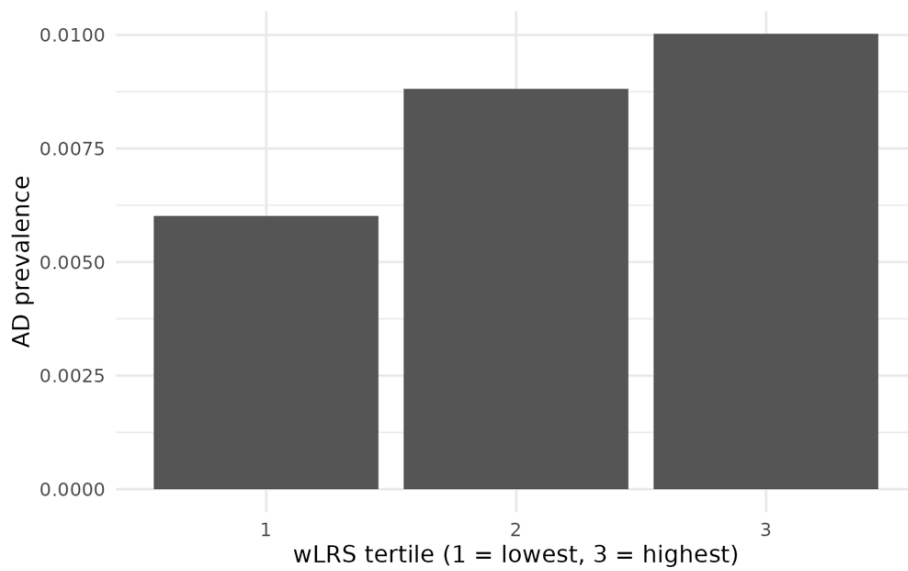


### 3.2 Τρόπος ζωής – Νόσος Alzheimer (UKBB)

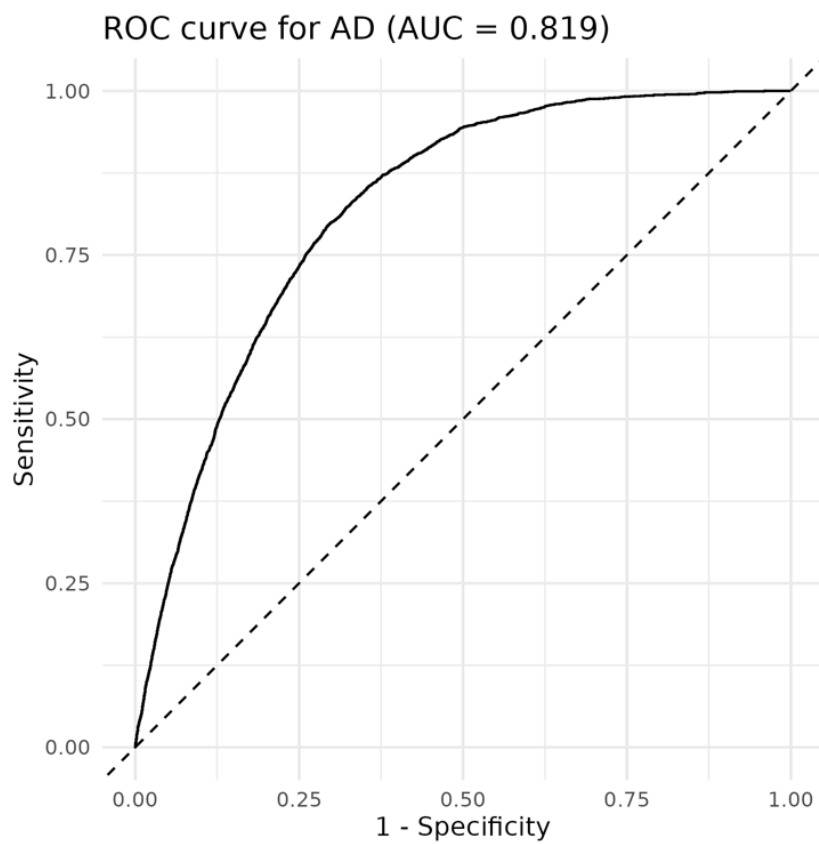
Το wLRS συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με τον κίνδυνο εμφάνισης AD στην UKBB, με αυξανόμενο επιπολασμό της νόσου ανά τριτημόριο του σκορ. Η κατανομή του wLRS ήταν μετατοπισμένη προς υψηλότερες τιμές στα περιστατικά AD σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Συγκεκριμένα, ανά μία τυπική απόκλιση αύξησης του wLRS παρατηρήθηκε OR = 1.20 (95% CI: 1.16–1.24),  $p < 1 \times 10^{-16}$ . Επιπλέον, η λογιστική καμπύλη δείχνει μονοτονική αύξηση του προβλεπόμενου κινδύνου με την αύξηση του σκορ. Οι αναλύσεις έχουν διορθωθεί για την ηλικία, το φύλο και τον ΔΜΣ των συμμετεχόντων.

Τα παρακάτω γραφήματα αποτυπώνουν τα προαναφερθέντα αποτελέσματα:



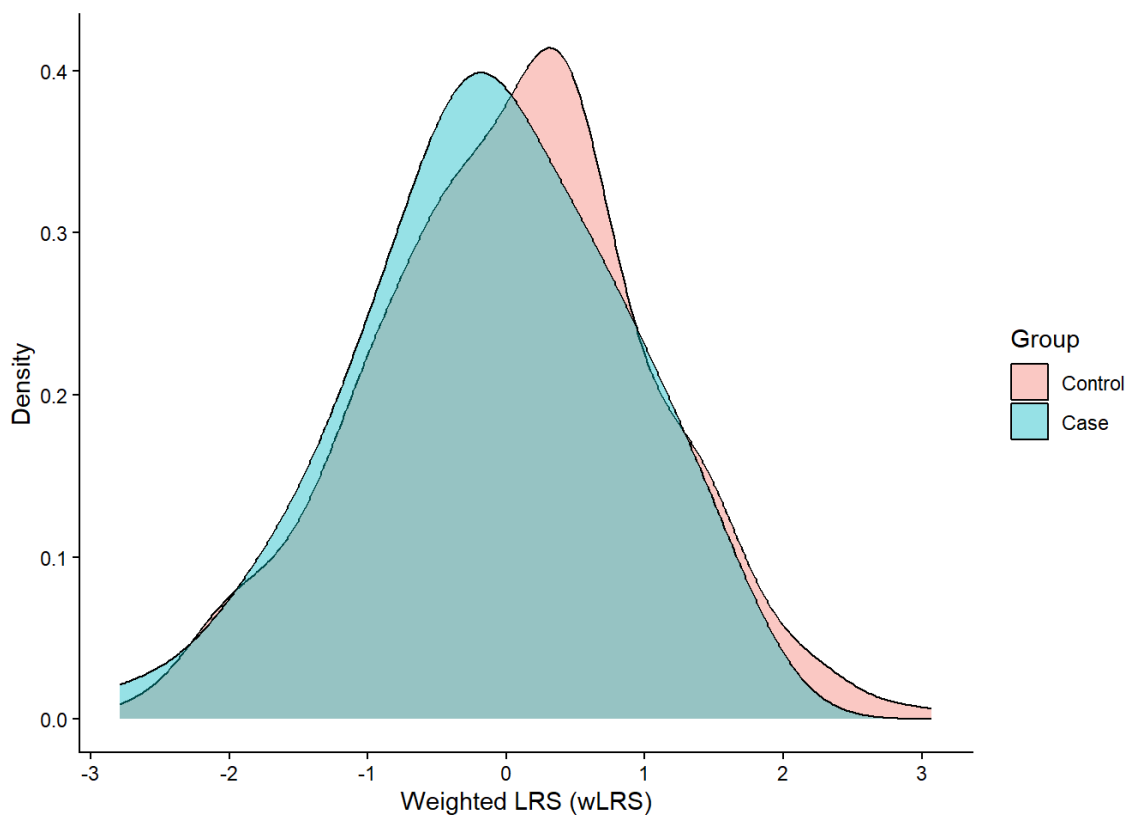


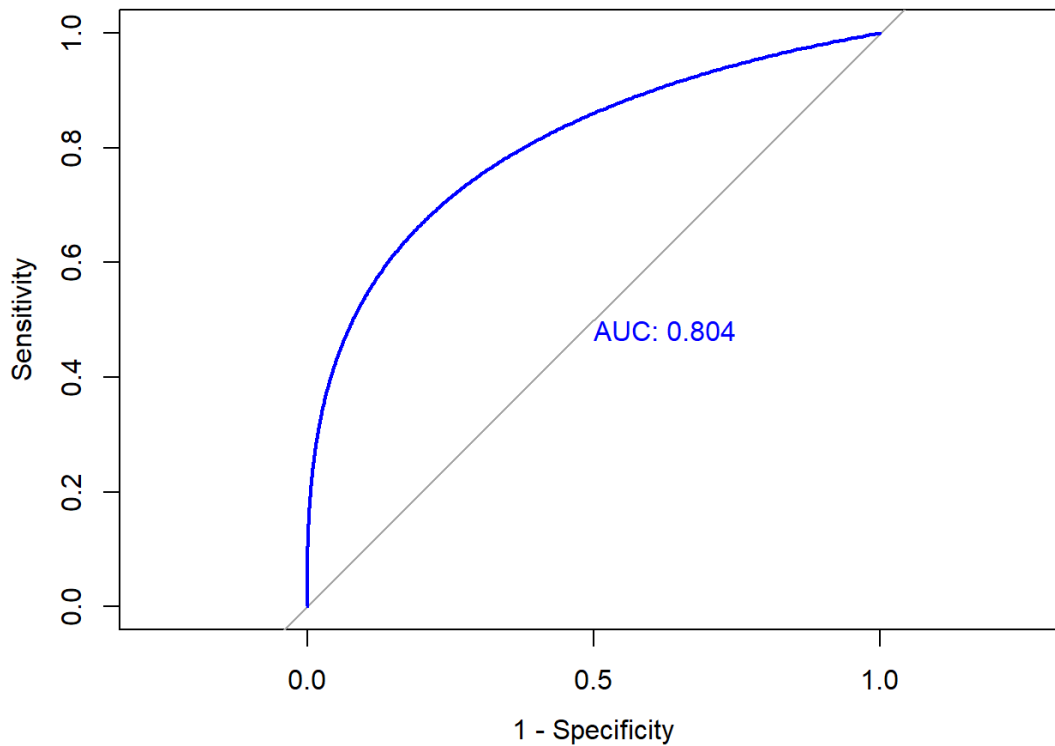
Η προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου ήταν ικανοποιητική, όπως φάνηκε από την καμπύλη ROC:



### 3.3 Επαλήθευση στις ελληνικές μελέτες – wLRS-AD

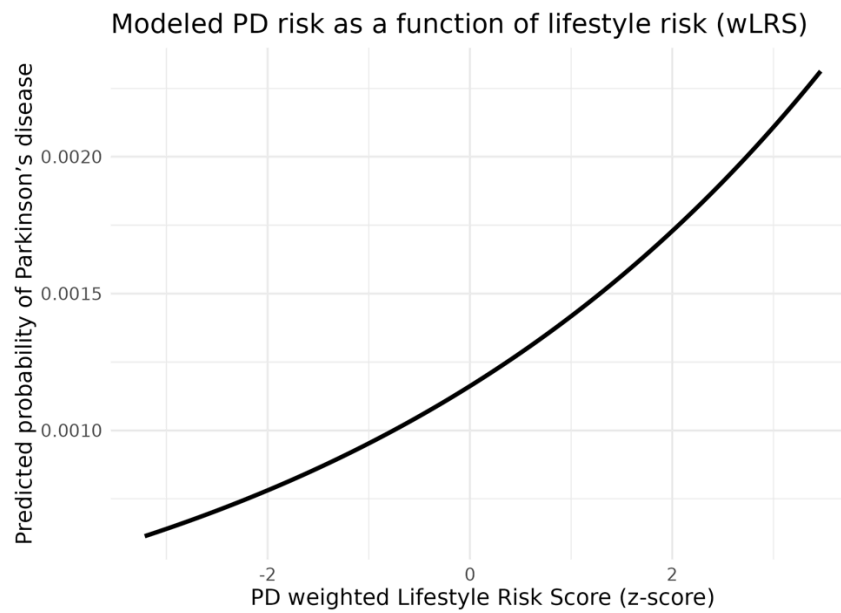
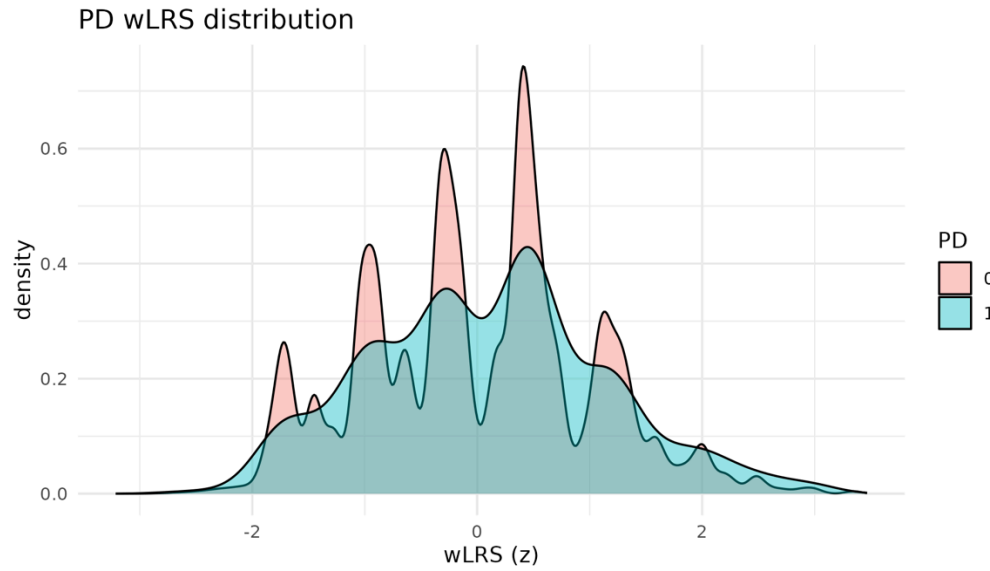
Το wLRS για το AD εφαρμόστηκε στα baseline δεδομένα τρόπου ζωής των ελληνικών μελετών και ελέγχθηκε η προβλεπτική του ικανότητα για την παρουσία AD στο follow-up χρονικό σημείο. Συνολικά, οι ασθενείς δεν εμφανίζουν στατιστικά διαφορετικές τιμές τους wLRS συγκριτικά με τους υγιείς, ενώ επιπλέον το wLRS δε σχετίστηκε σημαντικά στο ελληνικό δείγμα με την παρουσία της νόσου, κατόπιν διόρθωσης για ηλικία, φύλο και ΔΜΣ ( $p \gg 0.05$ ). Όσον αφορά τη συσχέτιση του wLRS με τις πρωτεΐνες ορού, καμία δεν ήταν στατιστικά σημαντική ( $p \gg 0.05$ ).



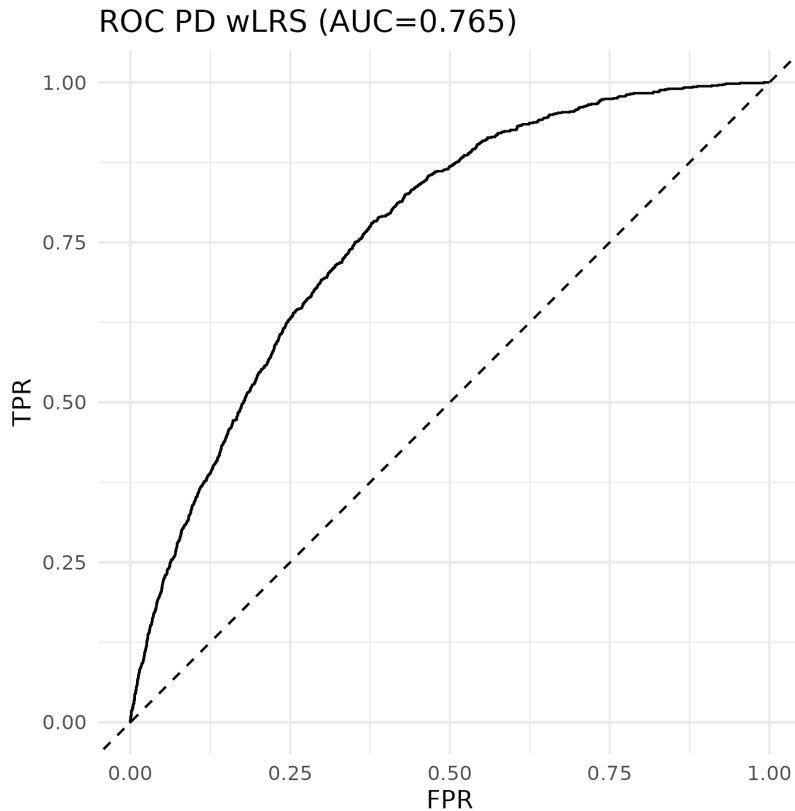


### 3.4 Τρόπος ζωής – Νόσος Parkinson (UKBB)

Για τη νόσο Parkinson εφαρμόστηκε αντίστοιχη μεθοδολογική προσέγγιση και κατασκευάστηκε ένα wLRS ειδικά για τη PD. Η κατανομή του wLRS στους ασθενείς με PD παρουσίασε ήπια μετατόπιση προς υψηλότερες τιμές σε σχέση με τους μάρτυρες. Ανά μία τυπική απόκλιση αύξησης του wLRS παρατηρήθηκε  $OR = 1.22$  (95% CI: 1.15–1.30),  $p < 1 \times 10^{-1}$ . Επιπλέον, η λογιστική καμπύλη υποδεικνύει σταδιακή αύξηση του κινδύνου χωρίς έντονα μη-γραμμικά φαινόμενα.

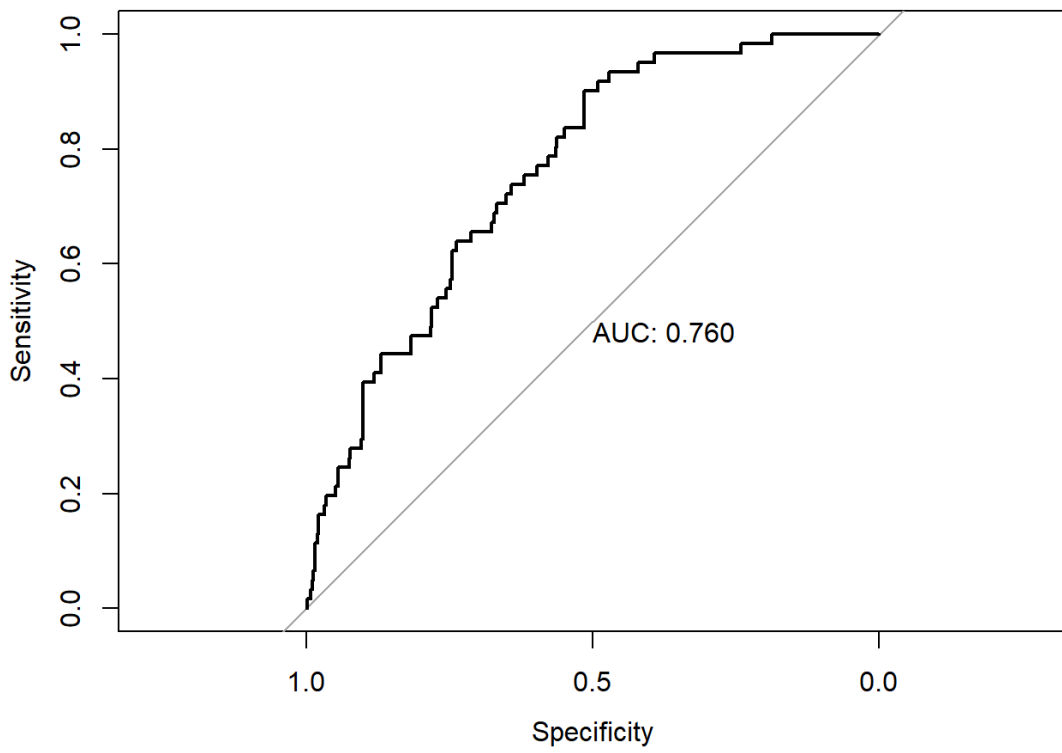
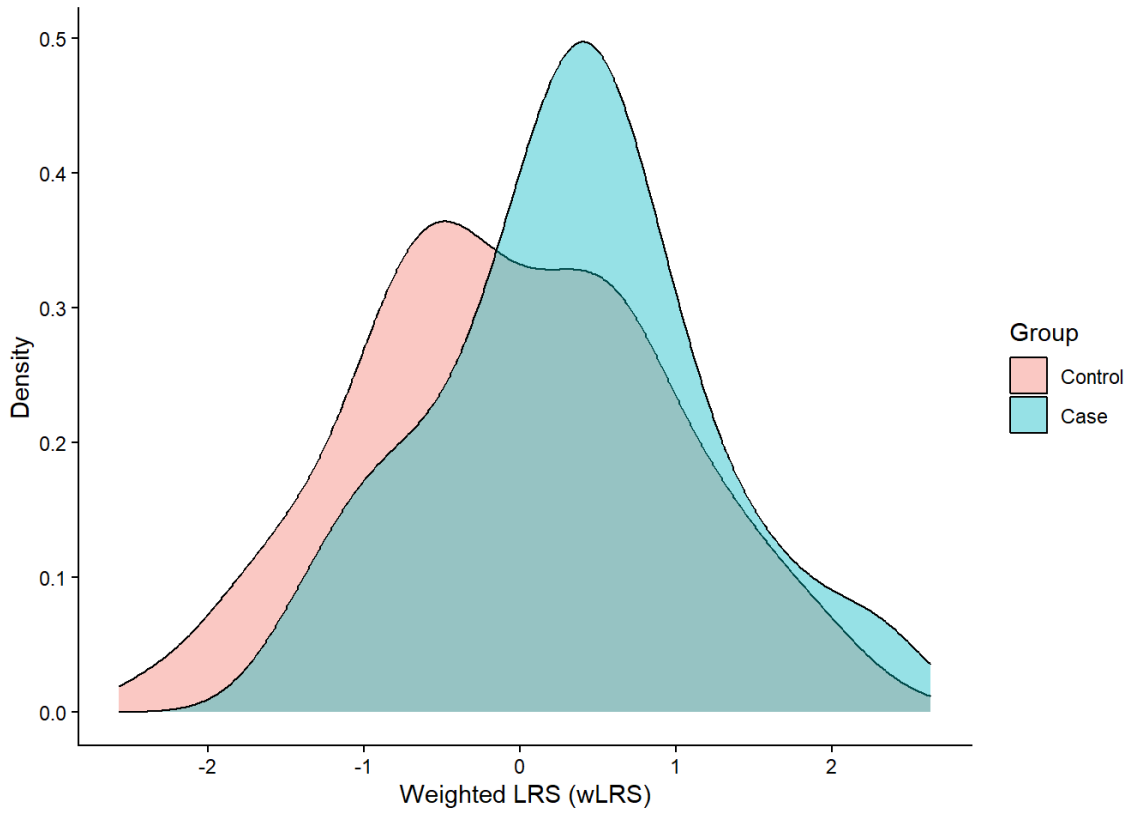


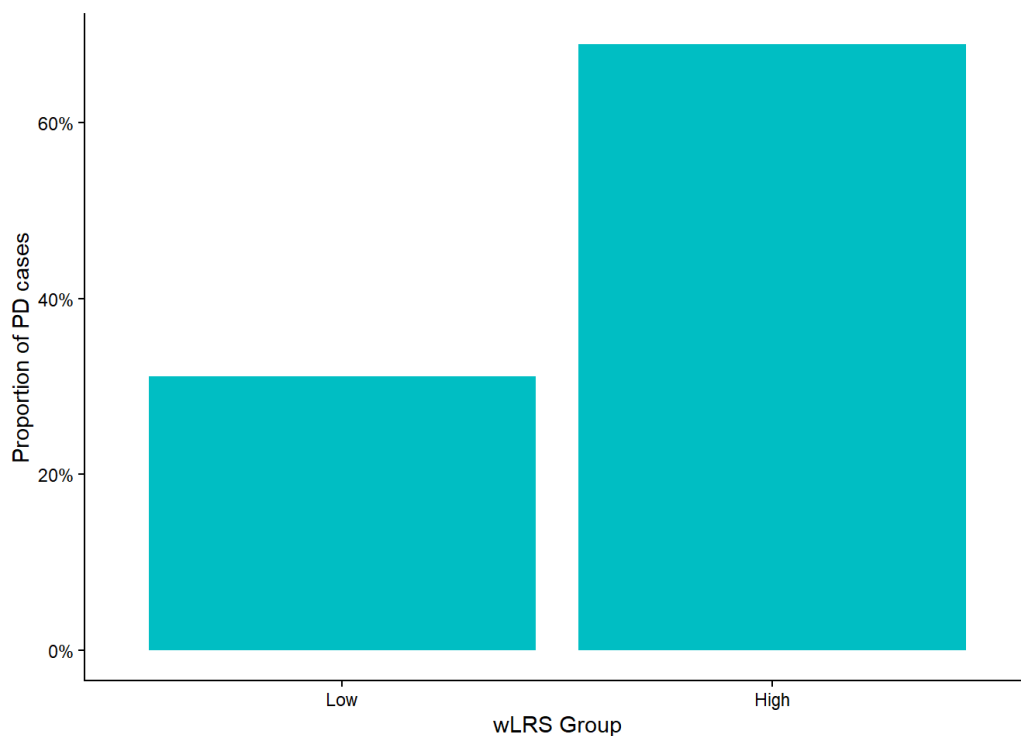
Η προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου ήταν ικανοποιητική, όπως φάνηκε από την καμπύλη ROC:



### 3.5 Επαλήθευση στις ελληνικές μελέτες – wLRS-PD

Το wLRS για το PD εφαρμόστηκε στα baseline δεδομένα τρόπου ζωής των ελληνικών μελετών και ελέγχθηκε η προβλεπτική του ικανότητα για την παρουσία PD στο follow-up χρονικό σημείο. Συνολικά, οι ασθενείς εμφάνιζαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές τους wLRS συγκριτικά με τους υγιείς, ενώ παρατηρήθηκε διαφοροποίηση σε σχέση με την κατηγορία του wLRS που ανήκουν (Low - High). Επιπλέον το wLRS σχετίστηκε σημαντικά στο ελληνικό δείγμα με την παρουσία της PD ( $\beta=0.39$ ,  $p=0.005$ ), καθώς και κατόπιν διόρθωσης για ηλικία, φύλο και ΔΜΣ ( $\beta=0.34$ ,  $p=0.024$ ). Τα αποτελέσματα αυτά απεικονίζονται στα παρακάτω γραφήματα. Όσον αφορά τη συσχέτιση του wLRS με τις πρωτεΐνες ορού, καμία δεν ήταν στατιστικά σημαντική ( $p \gg 0.05$ ), παρά τη συσχέτιση του σκορ με τη νόσο.





#### 4. Συμπεράσματα:

Στο παρόν Παραδοτέο διερευνήθηκε συστηματικά ο ρόλος βασικών παραγόντων τρόπου ζωής στον κίνδυνο εμφάνισης των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer (AD) και Parkinson (PD), μέσω της ανάπτυξης και επαλήθευσης σταθμισμένων σκορ κινδύνου τρόπου ζωής (weighted Lifestyle Risk Scores, wLRS). Η προσέγγιση βασίστηκε αφενός σε μεγάλο, καλά χαρακτηρισμένο δείγμα της UKBB για την κατασκευή των σκορ με διαδικασία 10-fold cross-validation και out-of-fold υπολογισμό (ώστε να περιοριστεί η υπερπροσαρμογή και η διαρροή πληροφορίας), και αφετέρου σε εφαρμογή των σκορ σε ελληνικές προοπτικές μελέτες με διαθέσιμα baseline δεδομένα τρόπου ζωής και follow-up καταγραφή νευροεκφυλιστικών εκβάσεων.

Τα αποτελέσματα στην UKBB κατέδειξαν ότι ένα πολυπαραγοντικό προφίλ τρόπου ζωής, όπως αποτυπώνεται από το wLRS, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο τόσο για AD όσο και για PD,

ανεξάρτητα από βασικούς συγχυτικούς παράγοντες (ηλικία, φύλο, ΔΜΣ). Ειδικότερα, για τη νόσο Alzheimer παρατηρήθηκε στατιστικά ισχυρή συσχέτιση του wLRS με την πιθανότητα νόσου, με σαφή διαβάθμιση κινδύνου ανά τρίτημριο του σκορ και μετατόπιση της κατανομής του wLRS προς υψηλότερες τιμές στα περιστατικά. Η αύξηση κατά μία τυπική απόκλιση του σκορ συνοδεύτηκε από  $OR = 1.20$  (95% CI 1.16–1.24), υποδεικνύοντας ότι η συνολική «επιβάρυνση» τρόπου ζωής αποτυπώνει με συνέπεια διαφορές κινδύνου σε πληθυσμιακό επίπεδο. Αντίστοιχα, για τη νόσο Parkinson το wLRS συσχετίστηκε επίσης θετικά με την πιθανότητα νόσου ( $OR=1.22$ , 95% CI 1.15–1.30), με πιο ήπια αλλά σταθερή μετατόπιση της κατανομής στους ασθενείς και μονοτονική αύξηση του προβλεπόμενου κινδύνου. Η ικανοποιητική προγνωστική επίδοση των μοντέλων (όπως αποτυπώθηκε και από τις ROC καμπύλες) υποστηρίζει ότι ένα λιτό σύνολο πυλώνων τρόπου ζωής —ΦΔ, ποιότητα διατροφής (PYRAMID Mediterranean diet), διάρκεια ύπνου και ιστορικό καπνίσματος— συνδυαστικά μπορεί να λειτουργήσει ως χρήσιμος δείκτης κινδύνου για νευροεκφυλιστικές εκβάσεις σε μεγάλα δείγματα.

Η επαλήθευση στις ελληνικές προοπτικές μελέτες παρείχε μια πιο σύνθετη εικόνα και ανέδειξε τη σημασία της εξωτερικής γενικευσιμότητας. Για τη νόσο Alzheimer, αν και οι ασθενείς στο follow-up εμφάνιζαν κατά μέσο όρο υψηλότερες τιμές wLRS σε σχέση με τους υγιείς, οι διαφορές δεν έφτασαν σε στατιστική σημαντικότητα και το σκορ δεν συσχετίστηκε ανεξάρτητα με την παρουσία AD μετά από διόρθωση για ηλικία, φύλο και ΔΜΣ. Το εύρημα αυτό είναι συμβατό με «μερική επαλήθευση» και πιθανότατα αντανακλά συνδυασμό παραγόντων όπως: (i) μικρότερο μέγεθος δείγματος και περιορισμένο αριθμό περιστατικών, που μειώνουν την ισχύ, (ii) πιθανές διαφορές στον ορισμό/καταγραφή της έκβασης (διαγνωστικά κριτήρια, υπο-αναφορά, χρονισμός διάγνωσης), (iii) ετερογένεια μεταξύ πληθυσμών (δημογραφική δομή, συννοσηρότητες, κοινωνικο-πολιτισμικά πρότυπα συμπεριφοράς), και (iv) διαφορές στη μέτρηση των εκθέσεων τρόπου ζωής (π.χ. εργαλεία αξιολόγησης, σφάλμα αυτοαναφοράς, μεταβολές τρόπου ζωής κατά τη 10ετία). Με άλλα λόγια, ενώ το wLRS για AD φαίνεται ισχυρό εντός UKBB, η μεταφορά του σε μικρότερα/διαφορετικά δείγματα απαιτεί προσεκτική ερμηνεία και ενδεχομένως αναπροσαρμογή ή εμπλουτισμό των μεταβλητών.

Αντιθέτως, για τη νόσο Parkinson καταγράφηκε σαφέστερη και ουσιαστική εξωτερική επαλήθευση στις ελληνικές μελέτες: οι ασθενείς εμφάνισαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές wLRS, υπήρξε διαφοροποίηση ως προς τις κατηγορίες κινδύνου (Low–High), και το wLRS συσχετίστηκε σημαντικά με την παρουσία PD τόσο στο αδρό μοντέλο ( $\beta \approx 0.39$ ,  $p=0.005$ ) όσο και μετά από διόρθωση για ηλικία, φύλο και ΔΜΣ ( $\beta \approx 0.34$ ,  $p=0.024$ ). Το εύρημα αυτό ενισχύει την άποψη ότι το πολυπαραγοντικό προφίλ τρόπου ζωής που κατασκευάστηκε στην

UKBB αποτυπώνει ένα πιο «μεταφερόμενο» σήμα κινδύνου για PD, τουλάχιστον στα διαθέσιμα ελληνικά δεδομένα. Παράλληλα, η ανάλυση των πρωτεϊνών ορού (CD33, CD200, DPEP1, MART, GPNMB) δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με το wLRS ούτε για AD ούτε για PD, γεγονός που μπορεί να οφείλεται σε περιορισμένη ισχύ/διακύμανση, στη χρονική απόσταση της μέτρησης από την κλινική έκβαση ή στο ότι οι συγκεκριμένοι δείκτες δεν λειτουργούν ως άμεσοι ενδιάμεσοι φαινότυποι για τις υπό μελέτη διαδρομές τρόπου ζωής.

Συνολικά, τα ευρήματα τεκμηριώνουν ότι ο τρόπος ζωής, ως πολυδιάστατο σύνολο συμπεριφορών, συνδέεται με τον κίνδυνο νευροεκφυλιστικών νόσων και μπορεί να αποτυπωθεί αποτελεσματικά μέσω σταθμισμένων σκορ που παράγονται με αυστηρές διαδικασίες εσωτερικής επικύρωσης. Η UKBB παρείχε ισχυρές ενδείξεις συσχέτισης για AD και PD, ενώ η εξωτερική επαλήθευση στις ελληνικές μελέτες υποστήριξε καθαρότερα τη χρησιμότητα του wLRS για PD και ανέδειξε προκλήσεις γενικευσιμότητας για AD. Τα αποτελέσματα αυτά υπογραμμίζουν την ανάγκη για περαιτέρω ενίσχυση της εξωτερικής επικύρωσης με μεγαλύτερα ελληνικά δείγματα/περισσότερα περιστατικά, εναρμόνιση των ορισμών έκβασης και των εργαλείων μέτρησης τρόπου ζωής, καθώς και διερεύνηση επιπλέον παραγόντων (π.χ. εκπαίδευση/SES, συννοσηρότητες, ψυχική υγεία, κοινωνική απομόνωση) που ενδέχεται να βελτιώσουν την προγνωστική αξία-ιδίως για την AD. Παρά τους περιορισμούς, το Παραδοτέο 3.3 καταδεικνύει ότι η στοχευμένη, ποσοτική αξιολόγηση τρόπου ζωής μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο για την κατανόηση και δυνητικά για την πρόληψη/μείωση κινδύνου νευροεκφυλιστικών νόσων, με ιδιαίτερα ενθαρρυντικά δεδομένα για τη νόσο Parkinson στον ελληνικό πληθυσμό.