

**INTEGRACIÓN DE BIOMARCADORES
ASTROGLIALES Y ARQUITECTURA DE SUEÑO
EN LA CARACTERIZACIÓN MULTIMODAL
DE LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS**

Nuole Zhu

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

UAB

Universitat Autònoma de Barcelona

Programa de Doctorado en Medicina

Departamento de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

TESIS DOCTORAL

**INTEGRACIÓN DE BIOMARCADORES
ASTROGLIALES Y ARQUITECTURA DE SUEÑO
EN LA CARACTERIZACIÓN MULTIMODAL
DE LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS**

Autora

NUOLE ZHU

Directores

ALBERTO LLEÓ BISA

DANIEL ALCOLEA RODRÍGUEZ

Tutor académico

ALBERTO LLEÓ BISA

Barcelona, 2026

Programa de Doctorado en Medicina
Departamento de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona

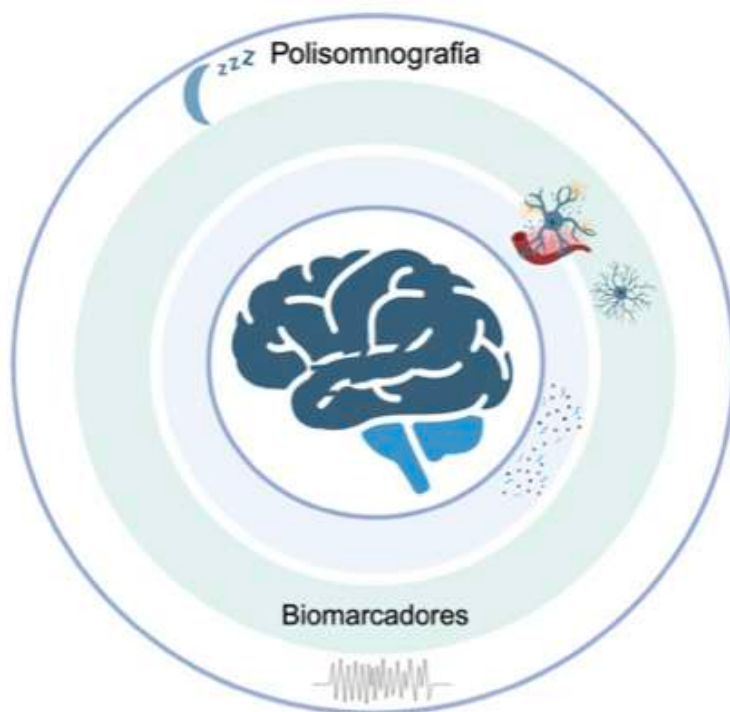
TESIS DOCTORAL

INTEGRACIÓN DE BIOMARCADORES ASTROGLIALES Y ARQUITECTURA DE SUEÑO EN LA CARACTERIZACIÓN MULTIMODAL DE LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Autora: **NUOLE ZHU**

Directores: **ALBERTO LLEÓ BISA** y **DANIEL ALCOLEA RODRÍGUEZ**

Tutor académico: **ALBERTO LLEÓ BISA**



Barcelona, 2026

Concerning the role of glial cells, a variety of mechanisms will probably emerge. Obvious gaps in our knowledge which prevent the formulation of more precise hypotheses relate to detailed information about the biochemical properties of various glial cells and the mechanisms of neuron-glia interactions.

— **Stephen W. Kuffler**, 1967

Neuroglial cells: physiological properties and a potassium mediated effect of neuronal activity on the glial membrane potential

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis doctoral es el resultado de un trabajo prolongado desarrollado en la Unidad de Memoria y en la Unidad Alzheimer-Down del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. En este entorno privilegiado he tenido la oportunidad de formarme y trabajar junto a profesionales de distintas disciplinas, excelentes en lo científico y extraordinarios en lo humano. Su cercanía, disponibilidad y apoyo constante han sido fundamentales, no solo para mi crecimiento profesional, sino también sentirme acompañada en cada etapa y contar siempre con el respaldo necesario.

Quiero expresar un agradecimiento muy especial a mis directores de tesis, Alberto Lleó y Daniel Alcolea, por haberme acogido desde el inicio y por su acompañamiento cercano y continuo. Su orientación ha sido clave en mi formación como neuróloga en el ámbito de los trastornos cognitivos y conductuales, así como para la interpretación de los biomarcadores en fluido. Agradezco especialmente la confianza depositada en mis capacidades investigadoras y el apoyo recibido para desarrollarme con autonomía, espíritu crítico y rigor científico.

Quiero agradecer de manera especial a Sandra Giménez por su contribución fundamental a la parte de sueño en esta tesis y por su generosidad al transmitirme su experiencia en la interpretación de los trastornos del sueño en las enfermedades neurodegenerativas. A Juan Fortea, por su valiosa labor docente, su ambición científica y su capacidad de inspiración, que me han animado a explorar nuevos territorios, plantear preguntas ambiciosas y pensar a largo plazo.

Mi agradecimiento más profundo es para mi familia. A mis abuelos, por su profundo aprecio por el conocimiento y por haber sembrado en mí la primera semilla del deseo de comprender y aprender. A mis padres, por permitirme siempre tomar mis propias decisiones y por apoyarme incondicionalmente en el camino elegido. A mi hermano, por su confianza constante en mí. A mi marido y a mis suegros, por su comprensión y sacrificio compartido. Y, especialmente, a mis hijos, por entender mi vocación. Deseo que nunca pierdan la curiosidad, el amor por el conocimiento y la valentía de perseguir sus propios sueños.

LISTADO DE ABREVIACIONES

Aβ	β -amiloide
AOS	apnea obstructiva de sueño
AQP4	acuaporina 4
APP	proteína precursora de amiloide
APOE	apolipoproteína E
DCB	degeneración corticobasal
DCL	deterioro cognitivo leve
DFT	demenia frontotemporal
DLFT	degeneración lobar frontotemporal
DLFT-tau	degeneración lobar frontotemporal asociada a tau
EA	enfermedad de Alzheimer
ELA	esclerosis lateral amiotrófica
EP	enfermedad de Parkinson
EWS	Ewing sarcoma protein
FET	familia FET (compuesta por FUS [fused in sarcoma], EWS [proteína del sarcoma de Ewing] y TAF15 [factor 2N asociado a la proteína de unión a TATA])
FUS	fused in sarcoma
GFAP	proteína ácida fibrilar glial (<i>Glial Fibrillar Acidic Protein</i>)
LCR	líquido cefalorraquídeo
MAPT	proteína tau asociada a microtúbulos
MTBR	región de la unión al microtúbulo
NREM	sueño no REM (<i>non-rapid eye movement</i>)
PET	tomografía por emisión de positrones
REM	movimientos oculares rápidos (<i>rapid eye movements</i>)
RM	resonancia magnética

SD	síndrome de Down
SCB	síndrome corticobasal
S-DLFT	síndromes relacionados con degeneración lobar frontotemporal
SNC	sistema nervioso central
S100B	proteína S100B
SWA	sueño de ondas lentas (<i>slow-wave activity</i>)
TAF15	<i>TATA-binding protein-associated factor 15</i>
TCSR	trastorno de conducta del sueño REM
TDP-43	proteína de unión al ADN TAR de 43kDa (<i>TAR-binding protein 43</i>)
YKL-40	proteína 1 similar a la quitinasa-3 (<i>chitinase-3-like protein 1</i>)

ÍNDICE

RESUMEN	15
ABSTRACT.....	19
1. INTRODUCCIÓN	23
1.1. Cambio de paradigma en las enfermedades neurodegenerativas: de la definición clínica a la caracterización biológica <i>in vivo</i>	23
1.2. Papel de los astrocitos en condiciones fisiológicas y en enfermedades neurodegenerativas	26
1.2.1. Papel fisiológico de los astrocitos en el sistema nervioso central.....	26
1.2.2. Astrogliosis reactiva y respuesta astrocitaria al daño	28
1.2.3. Biomarcadores de origen astrocitario en fluido	29
1.3. Implicación de los astrocitos en la enfermedad de Alzheimer y en los síndromes relacionados con la degeneración lobar frontotemporal.....	31
1.3.1. Enfermedad de Alzheimer	32
1.3.2. Síndromes relacionados con la degeneración lobar frontotemporal y el papel de los biomarcadores de origen astrocitario	41
1.4. Sueño, astrocitos y mecanismos de aclaramiento cerebral	47
1.4.1. Sueño en condiciones fisiológicas y métodos de evaluación	47
1.4.2. Papel de los astrocitos en la regulación del sueño y del sistema glinfático	48
1.4.3. Trastornos del sueño y enfermedades neurodegenerativas: una relación bidireccional y potencialmente mediada por neuroinflamación.....	50
1.4.4. Síndrome de Down como paradigma biológico para explorar la interacción entre sueño y enfermedad de Alzheimer	51
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	55

3. HIPÓTESIS	59
3.1. Hipótesis general.....	59
3.2. Hipótesis específicas.....	59
4. OBJETIVOS	63
4.1. Objetivo principal	63
4.2. Objetivos secundarios	63
5. COMPENDIO DE PUBLICACIONES	67
5.1. Artículo 1.....	67
5.2. Artículo 2.....	81
5.3. Artículo 3.....	99
6. RESUMEN GLOBAL DE RESULTADOS	117
6.1. Biomarcadores de origen astrocitario en el diagnóstico diferencial y pronóstico de la demencia frontotemporal y la enfermedad de Alzheimer.....	117
6.2. Arquitectura del sueño y biomarcadores de origen astrocitario en adultos cognitivamente sanos	118
6.3. Caracterización objetiva del patrón de sueño a lo largo del continuo de la enfermedad de Alzheimer en adultos con síndrome de Down	118
7. RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN	123
7.1. Valor de GFAP plasmático en el diagnóstico y la estratificación de riesgo en enfermedades neurodegenerativas	123
7.2. Interacción entre arquitectura del sueño, biomarcadores de origen astrocitario y biomarcadores centrales de la enfermedad de Alzheimer	127
7.3. Caracterización del patrón de sueño en cohortes clínico- biológicamente definidas	132
7.4. Limitaciones	136
8. CONCLUSIONES	141

9. FUTURAS DIRECCIONES.....	145
10. BIBLIOGRAFÍA.....	149
11. ANEXOS	171
11.1. Anexo 1: Material suplementario artículo nº1: Proteína glial fibrilar ácida y neurofilamento de cadena ligera en plasma para la evaluación diagnóstica y pronóstica de demencia frontotemporal	171
11.2. Anexo 2: Material suplementario artículo nº 2: Los cambios en biomarcadores de origen astrocitario relacionados con el sueño son modulados por el alelo <i>APOE</i> ε4 en personas cognitivamente sanas	173
11.3. Anexo 3: Material suplementario artículo nº 3: El impacto de la enfermedad de Alzheimer en el sueño en pacientes con síndrome de Down	181

RESUMEN

El desarrollo y la validación de biomarcadores moleculares han permitido el diagnóstico *in vivo* de las enfermedades neurodegenerativas y su caracterización clínico-biológica. Su uso en la práctica clínica y en la investigación ha permitido avanzar en el diagnóstico precoz y en la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos subyacentes. Sin embargo, las enfermedades neurodegenerativas no se explican únicamente por el depósito de proteínas patológicas. Se trata de procesos complejos que resultan de la interacción entre la carga de la proteinopatía subyacente, la neuroinflamación, la neurodegeneración y la disfunción de redes neuronales, modulados por factores genéticos, ambientales y por otros procesos fisiológicos, lo que contribuye a la variabilidad clínica observada entre individuos. Por ello, su estudio requiere la integración de aproximaciones multimodales, con el objetivo de mejorar la estratificación de riesgo, la predicción de evolución y, en el futuro, el diseño de estrategias terapéuticas más personalizadas.

Los astrocitos han ganado una creciente atención como elementos claves tanto en el funcionamiento normal del sistema nervioso central como en la patología neurodegenerativa. Participan activamente en procesos implicados en el mantenimiento de la homeostasis cerebral y en la respuesta neuroinflamatoria. Además, evidencias recientes sugieren que pueden participar de forma activa en la regulación del sueño, un proceso fisiológico esencial para mantener el bienestar físico, mental y cognitivo. Adicionalmente, se han relacionado de forma bidireccional los trastornos del sueño con las enfermedades neurodegenerativas. No obstante, la integración de los biomarcadores de origen astrocitario y de parámetros objetivos del sueño en la caracterización del continuo fisiopatológico de las enfermedades neurodegenerativas ha sido escasamente explorada de forma sistémica en humanos.

El objetivo de esta tesis doctoral es abordar las enfermedades neurodegenerativas desde un enfoque multimodal que integra (i) biomarcadores de origen astrocitario y daño axonal en plasma y líquido cefalorraquídeo (LCR), (ii) biomarcadores centrales de la enfermedad de Alzheimer (EA) en plasma y LCR, y (iii) medidas objetivas de la arquitectura del sueño obtenidas mediante polisomnografía, con el fin de mejorar su caracterización a lo largo de su continuo fisiopatológico.

Los resultados muestran que los biomarcadores de origen astrocitario plasmáticos, en particular la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), junto con el neurofilamento de cadena ligera (NfL), presentan patrones diferentes entre entidades neurodegenerativas. GFAP muestran niveles más elevados en la EA, intermedios en la demencia frontotemporal (DFT) y más bajos en individuos cognitivamente normales (CN), mientras que NfL muestran tendencia a valores más altos en DFT, aunque sin diferencias significativas respecto a la EA. La combinación de GFAP y NfL mejora la discriminación diagnóstica entre EA, DFT y CN. Además, concentraciones más elevadas de GFAP se asocian con biomarcadores de daño neuronal y atrofia cerebral, así como peor rendimiento cognitivo y funcional y mayor riesgo de progresión clínica, lo que respalda su valor como biomarcador de estratificación de riesgo y estimación pronóstica.

De forma complementaria, se observa una relación estrecha entre la arquitectura del sueño y los biomarcadores de origen astrocitario, de daño axonal y biomarcadores centrales de la EA en condiciones fisiológicas. Un sueño más ligero y fragmentado se asocia con concentraciones más elevadas de tau y de biomarcadores de origen astrocitario, mientras que un sueño más profundo y consolidado se relaciona con niveles más bajos. Estas asociaciones están moduladas por la edad y por la presencia del alelo apolipoproteína E (APOE) $\epsilon 4$. Estos resultados sugieren una relación consistente entre parámetros de sueño y biomarcadores en condiciones fisiológicas, y contribuyen a fundamentar la generación de hipótesis sobre su posible implicación en fases patológicas.

Adicionalmente, la caracterización del patrón de sueño mediante polisomnografía en adultos con síndrome de Down (SD), una forma genética de EA, revela alteraciones detectables desde fases tempranas, incluyendo un sueño más fragmentado, una reducción marcada del sueño REM (movimientos oculares rápidos, [rapid eye movements]) y una elevada prevalencia de apnea obstructiva del sueño (AOS). Estas alteraciones son más pronunciadas en estadios más avanzados de la enfermedad. Este estudio ha permitido caracterizar el patrón de sueño en los distintos estadios de la EA en adultos con SD, contribuyendo a una mejor comprensión de su comportamiento a lo largo del curso de la enfermedad. Además, identifica el sueño REM y AOS como parámetros particularmente sensibles, con potencial relevancia para futuros estudios y para el diseño de intervenciones dirigidas al sueño.

Los resultados de esta tesis muestran que la incorporación de biomarcadores de origen astrocitario y de parámetros objetivos del sueño mejora la caracterización biológica de las enfermedades neurodegenerativas. Los resultados apoyan una interrelación entre la regulación astrocitaria, el sueño y la fisiopatología de estas entidades, y sugieren que la activación astrocitaria podría desempeñar un papel potencialmente mediador en la relación bidireccional entre el sueño y la EA. Estos datos refuerzan la necesidad de un enfoque multimodal para comprender la complejidad e interacción de los procesos fisiopatológicos implicados.

ABSTRACT

The development and validation of molecular biomarkers have enabled the *in vivo* diagnosis of neurodegenerative diseases and their clinical-biological characterization. Their use in both clinical practice and research has advanced early diagnosis and improved understanding of the underlying pathophysiological mechanisms. However, these conditions cannot be explained solely by the deposition of pathological proteins. Rather, they represent complex processes arising from the interaction between the burden of abnormal protein deposition, neuroinflammation, neurodegeneration, and neuronal network dysfunction, which are further modulated by genetic and environmental factors as well as by other physiological processes, ultimately contributing to the clinical variability observed among individuals. Therefore, their study requires the integration of multimodal approaches to improve risk stratification, predict disease progression, and support the development of more personalized therapeutic strategies.

Astrocytes have gained increasing attention as key components of both the normal functioning of the central nervous system and neurodegenerative diseases. They actively participate in mechanisms involved in maintaining brain homeostasis and in the neuroinflammatory response. In addition, recent evidence suggests that they may play an active role in the regulation of sleep, a physiological process essential for maintaining physical, mental, and cognitive well-being. Furthermore, sleep disturbances have been bidirectionally associated with neurodegenerative diseases. However, the integration of astrocytic biomarkers and objective sleep parameters in the systematic characterization of the disease continuum remains poorly explored in humans.

The aim of this doctoral thesis is to investigate neurodegenerative diseases using a multimodal approach integrating (i) astrocyte-derived and axonal injury biomarkers in plasma and cerebrospinal fluid (CSF), (ii) core biomarkers of AD in plasma and CSF, and (iii) objective measures of sleep architecture obtained through polysomnography, in order to improve their characterization across the neurodegenerative disease continuum.

The results show that plasma astrocytic biomarkers, particularly glial fibrillary acidic protein (GFAP), together with neurofilament light chain (NfL), exhibit different patterns across neurodegenerative diseases. GFAP concentrations are higher in AD, intermediate in frontotemporal dementia (FTD), and lower in cognitively normal (CN) individuals,

whereas NfL concentrations tend to be higher in FTD, although without significant differences compared with AD. The combination of GFAP and NfL improves the diagnostic performance in distinguishing between AD, FTD, and CN individuals. In addition, higher GFAP concentrations are associated with axonal injury biomarkers and brain atrophy, as well as with poorer cognitive and functional performance and an increased risk of clinical progression, supporting its value for risk stratification and prognostic assessment.

Furthermore, in CN individuals without AD pathophysiology, objective sleep architecture parameters are associated with astrocytic biomarkers, axonal injury biomarkers, and core AD-related proteins. Lighter and more fragmented sleep is associated with higher concentrations of tau and astrocytic biomarkers, whereas deeper and more consolidated sleep is associated with lower concentrations. These associations are modulated by age and by the presence of the apolipoprotein (APOE) ϵ 4 allele. These findings suggest a consistent relationship between physiological sleep architecture parameters and AD-related biomarkers and contribute to generating hypotheses regarding their potential involvement in pathological stages.

Additionally, the characterization of sleep patterns using polysomnography in adults with Down syndrome (DS), a genetic form of AD, reveals detectable changes from early stages, including more fragmented sleep, a marked reduction in rapid eye movement (REM) sleep, and a high prevalence of obstructive sleep apnea (OSA). These disturbances are more pronounced in later stages of the disease. This study characterizes sleep patterns across the different stages of AD in adults with DS, contributing to a better understanding of their evolution across the disease continuum. Moreover, it identifies REM sleep and OSA as particularly sensitive parameters, with potential relevance for future studies and for the design of sleep-targeted interventions.

The results of this thesis show that integrating astrocytic biomarkers and objective sleep study improves the biological characterization of neurodegenerative diseases. These findings support an interrelationship between astrocytic activation, sleep, and the underlying disease pathophysiology, and suggest that astrocytic activation could play a potentially mediating role in the bidirectional relationship between sleep and AD. These findings highlight the need for a multimodal approach to understand the complexity and interaction of the pathophysiological processes involved in neurodegenerative diseases.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Cambio de paradigma en las enfermedades neurodegenerativas: de la definición clínica a la caracterización biológica *in vivo*

Las enfermedades neurodegenerativas constituyen un conjunto de trastornos caracterizados por la acumulación de proteínas mal plegadas en el tejido cerebral y la consiguiente disfunción neuronal. Como resultado, se produce un deterioro progresivo de las funciones cognitivas, conductuales, motoras y funcionales, con una repercusión creciente en los sistemas sanitario y social. Se estima que actualmente más de cincuenta millones de personas viven con algún tipo de demencia, y las proyecciones internacionales anticipan que esta cifra podría triplicarse en 2050. Este escenario sitúa a las enfermedades neurodegenerativas entre los retos de salud pública de mayor magnitud del siglo XXI (1).

El diagnóstico tradicional de estos trastornos se ha basado en la identificación de patrones clínicos predominantes, de modo que entidades como la enfermedad de Alzheimer (EA), la demencia frontotemporal (DFT), la enfermedad de Parkinson (EP) o la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) se han definido según el dominio cognitivo, conductual o motor inicialmente afectado. Sin embargo, este enfoque presenta limitaciones importantes. Con frecuencia, distintos procesos neurodegenerativos producen manifestaciones clínicas similares, lo que dificulta un diagnóstico preciso apoyado exclusivamente en la sintomatología. Del mismo modo, es habitual que personas con una misma alteración molecular puedan desarrollar fenotipos clínicos muy diferentes, mientras que individuos con presentaciones clínicas casi idénticas pueden albergar etiologías biológicas divergentes. Estudios con correlación clínico-neuropatológica han demostrado que aproximadamente un 25-30% de los pacientes con diagnósticos clínicos de EA presentan una etiología biológica discordante incluso en centros especializados, siendo esta proporción aún mayor en otras enfermedades neurodegenerativas y en ámbitos no especializados (2,3). Esta heterogeneidad refleja la complejidad intrínseca de estos procesos y cuestiona la utilidad de las clasificaciones sindrómicas como herramienta diagnóstica única (4,5).

En los últimos años, el desarrollo y la validación de biomarcadores en fluido y de técnicas de neuroimagen han permitido evaluar *in vivo* los procesos celulares y moleculares subyacentes que, de otro modo, sólo serían accesibles mediante estudios post mortem. Entre los ejemplos más relevantes se incluyen la detección *in vivo* de amiloide y tau mediante neuroimagen molecular, como la tomografía por emisión de positrones (PET), y la cuantificación de proteínas patológicas o la identificación de α -sinucleína mediante ensayos específicos en líquido cefalorraquídeo (LCR). Estos avances han impulsado la transición en el campo desde un modelo diagnóstico basado predominantemente en la observación clínica hacia una aproximación clínico-biológica, en la que los biomarcadores desempeñan un papel central en la definición de la enfermedad. En consecuencia, estas entidades han dejado de concebirse exclusivamente como síndromes clínicos definidos por el estadio de demencia para entenderse como procesos biológicos crónicos que se desarrollan a lo largo de años o décadas, con una fase preclínica caracterizada por alteraciones de biomarcadores detectables previa a la aparición de los síntomas (6–9). La incorporación de estos biomarcadores en la práctica clínica ha permitido mejorar de forma sustancial la precisión diagnóstica y la estimación pronóstica, así como orientar el desarrollo de terapias dirigidas a mecanismos específicos, como la patología amiloide, tau o α -sinucleína (10,11).

Sin embargo, esta caracterización biológica basada exclusivamente en la detección de patología molecular subyacente no es suficiente para reflejar la variabilidad interindividual observada. La evidencia acumulada apunta a la naturaleza multifactorial de estas enfermedades, en las que el curso clínico se ve modulado por la interacción entre distintos mecanismos (Figura 1). Aunque la investigación se ha centrado tradicionalmente en la neurona, hoy se conoce que la degeneración neuronal no puede comprenderse sin considerar la contribución de otras poblaciones celulares, entre ellas los astrocitos. Estas células gliales, las más abundantes del sistema nervioso central (SNC), desempeñan funciones esenciales en el mantenimiento de la homeostasis cerebral. Participan activamente en la regulación del entorno neural, la comunicación intercelular y la respuesta frente a estímulos internos y externos, incluyendo la regulación del ciclo sueño-vigilia (12–14). Por otro lado, el sueño se ha propuesto como un proceso fisiológico fundamental para el mantenimiento de la homeostasis cerebral y de la función cognitiva. Estudios que emplean medidas objetivas mediante polisomnografía han demostrado que sus alteraciones pueden aparecer de forma precoz en diversas enfermedades neurodegenerativas. Asimismo, los trastornos del

sueño se han asociado con un riesgo de deterioro cognitivo y demencia, lo que sugiere una relación bidireccional (15–17). Por este motivo, la incorporación de biomarcadores de origen astrocitario y el estudio del sueño en enfermedades neurodegenerativas ha despertado un creciente interés en el campo.

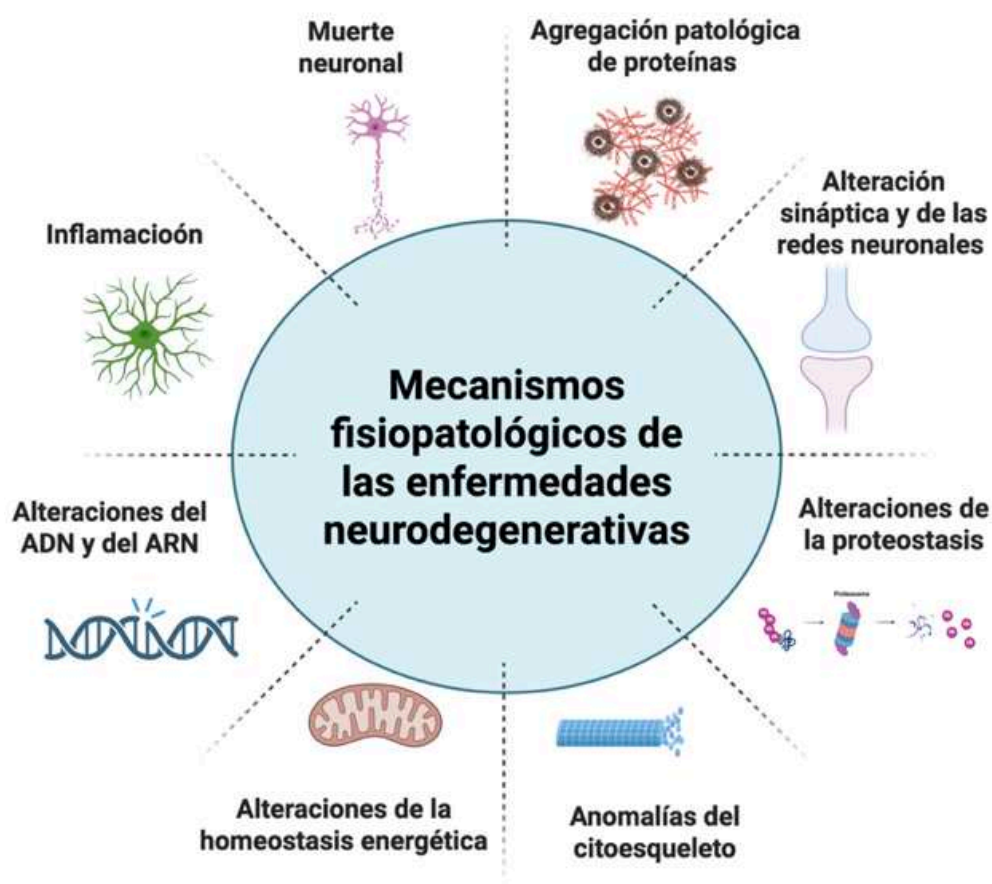


Figura 1. Principales mecanismos fisiopatológicos implicados en las enfermedades neurodegenerativas (Figura adaptada de Wilson DM, III et al., *Cell*, 2023).

La figura ilustra los principales mecanismos fisiopatológicos descritos de forma transversal en las enfermedades neurodegenerativas, derivados de décadas de investigación básica, traslacional y clínica. Entre ellos se incluye la agregación patológica de proteínas, la disfunción sináptica y de las redes neuronales, las alteraciones de la proteostasis, las anomalías del citoesqueleto, la disrupción de la homeostasis energética, los defectos en el ADN y ARN, los procesos inflamatorios y la muerte neuronal.

1.2. Papel de los astrocitos en condiciones fisiológicas y en enfermedades neurodegenerativas

1.2.1. Papel fisiológico de los astrocitos en el sistema nervioso central

Los astrocitos desempeñan funciones esenciales para mantener la actividad neuronal y la integridad del tejido cerebral (Figura 2). A continuación, se detallan las funciones más destacables:

- **Control del medio extracelular:** los astrocitos regulan la concentración de iones, contribuyen al equilibrio ácido-base y participan en la depuración de neurotransmisores. También intervienen en la eliminación de especies reactivas de oxígeno y proporcionan soporte metabólico a las neuronas mediante la producción de lactato y la síntesis de glucógeno, asegurando así la disponibilidad energética necesaria para la actividad sináptica (12,18).
- **Sinaptogénesis y remodelación sináptica:** a nivel sináptico, establecen contactos directos con las sinapsis a través de prolongaciones finas denominadas *leaflets* o *appendages*, que conforman la denominada «cuna sináptica». Desde estas estructuras modulan la transmisión neuronal mediante el control de la concentración extracelular de neurotransmisores y la liberación de factores que regulan la sinaptogénesis, la maduración y la eliminación selectiva de conexiones sinápticas. Aunque estos procesos son especialmente relevantes durante el desarrollo del sistema nervioso, permanecen activos a lo largo de la vida adulta (12,18).
- **Control de la barrera hematoencefálica:** los astrocitos también forman parte fundamental de la barrera hematoencefálica. Sus pies terminales envuelven los capilares y, junto con las células endoteliales y los pericitos, contribuyen a preservar la integridad de esta barrera. Refuerzan las uniones endoteliales y modulan el flujo sanguíneo cerebral en función de la actividad neuronal mediante la secreción de moléculas como el factor derivado de la línea celular glial (GDNF) y el factor de crecimiento transformante β (TGF β). Asimismo, ejercen funciones inmunorreguladoras al limitar la migración de células inflamatorias hacia el parénquima cerebral y preservar la estabilidad del microambiente neural (12,18).

- **Regulación del sistema glinfático:** otro componente esencial de su función es su participación en el sistema glinfático, un mecanismo de intercambio de fluidos que facilita la eliminación de desechos metabólicos y la distribución de nutrientes en el SNC (12,18).
- **Regulación de procesos sistémicos:** además de sus funciones locales, estudios recientes han mostrado que los astrocitos participan en procesos integradores de orden superior. Entre ellos se incluyen la regulación del ciclo sueño-vigilia, el control del balance energético sistémico y la modulación de funciones neuroendocrinas y reproductivas (12,18).

El avance en la caracterización funcional de los astrocitos, impulsados principalmente por estudios celulares y modelos animales, ha transformado la concepción tradicional de estas células. Lejos de considerarse meros elementos de soporte estructural, los astrocitos se reconocen hoy como células dinámicas, activamente implicadas en la modulación de la actividad neuronal, el mantenimiento de la homeostasis tisular, la regulación vascular y la integración de procesos sistémicos. Este cambio de paradigma ha despertado un creciente interés por comprender su implicación en condiciones patológicas en humanos.

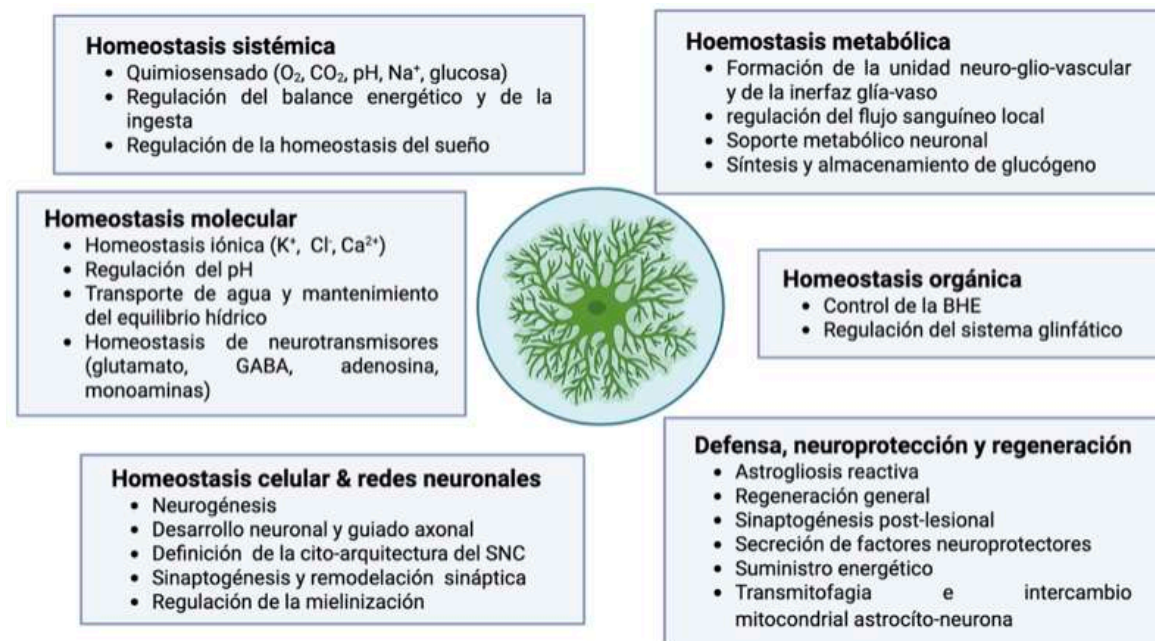


Figura 2. El papel fisiológico de los astrocitos (Figura adaptada de Verkhratsky A et al., *Signal Transduct Target Ther*, 2023).

Abreviaturas: SNC, sistema nervioso central; BHE, barrera hematoencefálica.

1.2.2. Astrogliosis reactiva y respuesta astrocitaria al daño

Ante una agresión del SNC, los astrocitos ponen en marcha un programa coordinado de cambios moleculares, estructurales y funcionales conocido como astrogliosis reactiva. Esta respuesta constituye un mecanismo adaptativo altamente conservado, orientado a preservar la homeostasis tisular y a limitar la extensión del daño. A diferencia de la activación fisiológica transitoria, la astrogliosis implica modificaciones profundas del fenotipo astrocitario, que incluyen hipertrofia celular, reorganización de las prolongaciones y un aumento de la expresión de proteínas del citoesqueleto, particularmente la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) (12,18,19).

La reactividad astrocitaria no representa un estado uniforme, sino un continuo de respuestas cuya magnitud y características dependen de la naturaleza, intensidad y duración del estímulo patológico. En situaciones de daño leve o transitorio, los astrocitos pueden adoptar una forma de activación no proliferativa en la que preservan su organización territorial y mantienen funciones homeostáticas esenciales. En esta fase inicial, la respuesta astrocitaria contribuye a contener el daño, proporcionar soporte metabólico a las neuronas vulnerables y restaurar el equilibrio del microambiente extracelular (13,18,19).

En cambio, cuando la agresión persiste o se intensifica, la activación astrocitaria puede volverse desadaptativa. Los astrocitos muestran una alteración progresiva de sus funciones fisiológicas, acompañada de una activación sostenida de vías proinflamatorias y de cambios en su perfil secretor. La liberación crónica de citoquinas, quimioquinas y otras moléculas señalizadoras puede contribuir a la disfunción sináptica, a la alteración del metabolismo neuronal y al establecimiento de un entorno inflamatorio persistente que favorece la progresión del daño tisular (13,18,19).

La respuesta astrocitaria se integra además en una red de interacciones celulares complejas. Los astrocitos mantienen un diálogo bidireccional con la microglía, las principales células inmunitarias del SNC, modulando tanto la activación como la resolución de la respuesta inflamatoria. A su vez, las señales derivadas de la microglía pueden inducir cambios fenotípicos en los astrocitos, amplificando o perpetuando estados reactivos. En situaciones de alteración de la barrera hematoencefálica, los astrocitos también interactúan con células del sistema inmune periférico, reforzando su papel como intermediario entre la inmunidad sistémica y la respuesta inflamatoria del SNC (20,21).

En fases crónicas de enfermedad, se han descrito además alteraciones estructurales profundas de los astrocitos, incluyendo la pérdida de dominio territorial, la atrofia celular y fenómenos degenerativos caracterizados por la fragmentación de prolongaciones, vacuolización y edema celular, conocidos como clasmotodendrosis. Estos cambios reflejan un agotamiento funcional progresivo y se asocian a una pérdida de la capacidad homeostática, favoreciendo un estado de mayor susceptibilidad neuronal y contribuyendo a la progresión de los procesos neurodegenerativos (13,18,19).

En conjunto, la astrogliosis reactiva constituye un componente fundamental de la fisiopatología de las enfermedades neurológicas, con un papel dinámico que oscila entre mecanismos inicialmente protectores y respuestas crónicamente disfuncionales. La caracterización de los estados funcionales de los astrocitos resulta clave para comprender su implicación en la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas, ya sea como moduladores del daño neuronal o como mediadores de respuestas neuroprotectoras, lo que sustenta el creciente interés por biomarcadores que reflejen su actividad *in vivo*.

1.2.3. Biomarcadores de origen astrocitario en fluido

Los biomarcadores de origen astrocitario ofrecen una perspectiva especialmente valiosa sobre la dinámica glial en el SNC y aportan información sobre las modificaciones del microambiente cerebral que acompañan a la progresión del proceso neurodegenerativo o que se producen en respuesta a intervenciones terapéuticas. A continuación, se describen de forma general los principales biomarcadores de origen astrocitario, mientras que su comportamiento diferencial y su utilidad en procesos fisiológicos y patológicos específicos se abordarán más adelante en el contexto de cada entidad clínica.

Entre los biomarcadores de origen astrocitario más ampliamente estudiados se encuentra el GFAP, una proteína estructural que forma parte del citoesqueleto intermedio de los astrocitos y cuya expresión aumenta de forma significativa en respuesta a la activación glial (22). La elevación de GFAP en LCR o en plasma se ha asociado tanto a procesos de reactividad astrocitaria como fenómenos de daño estructural, y sus concentraciones se han correlacionado con la gravedad y la extensión del proceso neurodegenerativo en enfermedades como la EA y la DFT (23–27).

Un hallazgo relevante es que las concentraciones de GFAP en plasma y en LCR muestra una concordancia parcial, lo que sugiere que capturan aspectos biológicos distintos de la fisiopatológicos de la enfermedad. La evidencia disponible indica que el GFAP plasmático aumenta en fases más tempranas, discrimina con mayor precisión entre individuos con y sin patología amiloide y se asocia con el riesgo de progresión clínica (28–30). En cambio, los niveles de GFAP en LCR tienden a incrementar de forma más consistente en estadios más avanzados donde coexisten patología amiloide y tau (29).

Se han propuesto diversos mecanismos para explicar esta disociación entre compartimentos. Entre ellos, se han descrito diferencias en la estabilidad preanalítica, dado que el GFAP plasmático muestra una mayor resistencia a ciclos de congelación y descongelación en comparación con el GFAP en LCR (31). Sin embargo, otros estudios sugieren que los mecanismos de liberación y aclaramiento del GFAP también pueden contribuir a esta diferencia, ya que la proteína puede alcanzar la circulación periférica a través de la barrera hematoencefálica, la barrera sangre-LCR y el sistema linfático (32,33). No obstante, el impacto de estas vías en la dinámica de los biomarcadores entre compartimentos biológicos, así como su significado fisiopatológico en el contexto de las enfermedades neurodegenerativas, no se encuentran completamente esclarecidos.

Otro biomarcador de interés es la proteína 1 similar a la quitinasa-3, también conocido como *Chitinase-3-like protein 1* (YKL-40), una glicoproteína altamente conservada cuya función exacta no se conoce con precisión. Fuera del SNC, YKL-40 es secretada por diversas poblaciones celulares periféricas, incluyendo macrófagos, neutrófilos, células sinoviales, condrocitos, células lisas vasculares o células estrelladas hepáticas, y actúa como un marcador inespecífico de inflamación y remodelado tisular, habiéndose descrito niveles elevados a nivel periférico en enfermedades inflamatorias y degenerativas articulares, así como en diversos procesos neoplásicos (34). En el SNC, YKL-40 se expresa predominantemente en astrocitos reactivos (35), y su expresión se ha relacionado con señales proinflamatorias asociadas a la activación microglial (36). En pacientes con enfermedades neurodegenerativas, los niveles de YKL-40 en LCR están consistentemente más elevados y se asocian con marcadores pronósticos en neuroimagen y con la progresión cognitiva, lo que refuerza su potencial utilidad como biomarcador de la respuesta glial en este contexto (28,37–42).

Otros biomarcadores de origen astrocitario, como la proteína S100B y la acuaporina 4 (AQP4), también han mostrado una posible implicación en diversas enfermedades neurodegenerativas. S100B se ha asociado con neuroinflamación y daño neuronal, aunque su especificidad es limitada debido a su expresión en múltiples tipos celulares y a su susceptibilidad a factores metabólicos y comorbilidades sistémicas (43). Por su parte, AQP4 participa en la regulación de la homeostasis hídrica cerebral y se ha relacionado con alteraciones en enfermedades como la EA y la ELA (44). No obstante, el uso de AQP4 como biomarcador en humanos sigue siendo metodológicamente limitado, ya que no existen técnicas clínicas no invasivas capaces de discriminar de forma directa su distribución perivascular frente a la parenquimatosa. Dado que la evidencia disponible sobre estos biomarcadores es todavía preliminar y controvertida, su análisis detallado no se contempla dentro del objetivo de la presente tesis.

1.3. Implicación de los astrocitos en la enfermedad de Alzheimer y en los síndromes relacionados con la degeneración lobar frontotemporal

Las enfermedades neurodegenerativas se han conceptualizado tradicionalmente como procesos caracterizados por la disfunción progresiva y la pérdida neuronal asociadas al depósito de proteínas patológicamente alteradas, con una afectación jerárquica y estereotipada de distintas regiones cerebrales. En este marco clásico, los astrocitos y los oligodendrocitos fueron considerados durante décadas como elementos pasivos o mero acompañantes del proceso neurodegenerativo.

Sin embargo, en los últimos años se ha reconocido un espectro funcional mucho más amplio, revelando funciones previamente infravaloradas que pueden contribuir de forma activa al desarrollo de la disfunción y degeneración neuronal. Paralelamente, el reconocimiento de que la mayoría de estas enfermedades se caracterizan no solo por la acumulación, sino también por la propagación transcelular de proteínas patológicas, ha ampliado el foco más allá de las neuronas. Además de albergar inclusiones proteicas, los astrocitos pueden internalizar proteínas asociadas a la enfermedad y participar potencialmente en su diseminación, lo que refuerza su papel como mediadores activos tanto de proceso neuroprotector como neurodegenerativo. Estas observaciones han situado las respuestas astrocitarias como componentes relevantes de los mecanismos fisiopatológicos

implicados en diversas enfermedades neurodegenerativas y en el envejecimiento cerebral, cuestionando la visión exclusivamente centrada en la neurona de estos trastornos (45).

En este escenario, el papel de los astrocitos y los biomarcadores de origen astrocitario derivados de su activación ha sido explorado con mayor profundidad en la EA y en la DLFT. En este último grupo, especialmente en entidades asociadas al depósito anómalo de proteína tau (DLFT-tau), se ha descrito una afectación astrocitaria extensa y morfológicamente característica, lo que subraya la implicación directa de estas células en la patología (46). Así, el estudio de la reactividad astrocitaria y de sus correlatos en biofluidos emerge como una aproximación clave para comprender la heterogeneidad biológica de las enfermedades neurodegenerativas e identificar biomarcadores capaces de reflejar procesos fisiopatológicos no capturados por los marcadores clásicos, una necesidad particularmente relevante en la DLFT, donde aún no se dispone de biomarcadores fisiopatológicos específicos.

En los apartados siguientes se revisan de forma sintética la EA y la DLFT, abordando sus principales características clínicas, los hallazgos neuropatológicos más relevantes, el diagnóstico y la implicación de los astrocitos, así como el papel de los biomarcadores de origen astrocitario en cada contexto.

1.3.1. Enfermedad de Alzheimer

Epidemiología y presentación clínica

La EA constituye la causa más frecuente de demencia a nivel mundial y representan aproximadamente el 50-70% de los casos. Su incidencia aumenta de forma exponencial con la edad, duplicándose aproximadamente cada cinco años entre los 65 y los 95 años. Clínicamente, se manifiesta como un deterioro progresivo de las funciones cognitivas, con afectación inicial de la memoria episódica en la forma amnésica, que constituye la presentación más frecuente. A medida que progresa la enfermedad, aparecen alteraciones en otros dominios cognitivos y se produce una pérdida progresiva de la autonomía funcional, hasta alcanzar el estadio de demencia (8,47,48).

La EA presenta una marcada heterogeneidad clínica. Además de la forma amnésica, se han descrito múltiples variantes clínicas no amnésicas, entre ellas destacan la variante logopénica de la afasia progresiva primaria, la atrofia cortical posterior y la forma disejecutiva o conductual (8,49–51). Cabe destacar que aproximadamente el 5-6% de los casos presentan la enfermedad de inicio precoz, definida por la aparición de síntomas antes de los 65 años. En estos pacientes, la afectación de la memoria puede no ser el síntoma predominante, siendo frecuentes los trastornos de lenguaje, las alteraciones visoespaciales o los cambios conductuales, lo que dificulta el diagnóstico diferencial clínico respecto a otras enfermedades neurodegenerativas y trastornos psiquiátricos primarios.

Factores de riesgo genético y biológico

La mayoría de los casos de EA son esporádicos y se consideran el resultado de una interacción compleja entre factores genéticos y ambientales a lo largo del curso vital. Menos de 1% de los casos se deben a mutaciones autosómicas dominantes en los genes de la proteína precursora de amiloide (APP), presenilina 1 (*PSEN1*) o presenilina 2 (*PSEN2*), que cursan a una producción aumentada de β -amiloide y a un inicio temprano de la enfermedad (47,48,52,53).

El síndrome de Down (SD) representa una forma genética singular de EA, ya que la triplicación del gen APP en el cromosoma 21 provoca una sobreproducción de β -amiloide y una progresión prácticamente universal de la patología, con cambios neuropatológicos desde edades tempranas y una elevada prevalencia de la demencia en la edad adulta (54).

Por otro lado, el alelo APOE ϵ 4 se considera el principal factor de riesgo genético de la EA esporádica y se asocia tanto a un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad como a una edad de inicio más temprana (55,56). En el caso de homocigosis para APOE ϵ 4, las trayectorias biológicas observadas comparten similitudes con las descritas en las formas autosómicas dominantes y en el SD, lo que ha llevado a proponer esta condición como una forma genética de EA (57).

Base biológica y neuropatología

Desde el punto de vista neuropatológico, la EA se caracteriza por la acumulación de placas de β -amiloide en el espacio extracelular y ovillos neurofibrilares de proteína tau hiperfosforilada a nivel intracelular. Estas lesiones se acompañan de pérdida sináptica progresiva, astrogliosis, activación microglial, angiopatía amiloide cerebral y atrofia cerebral (Figura 3) (58–61).

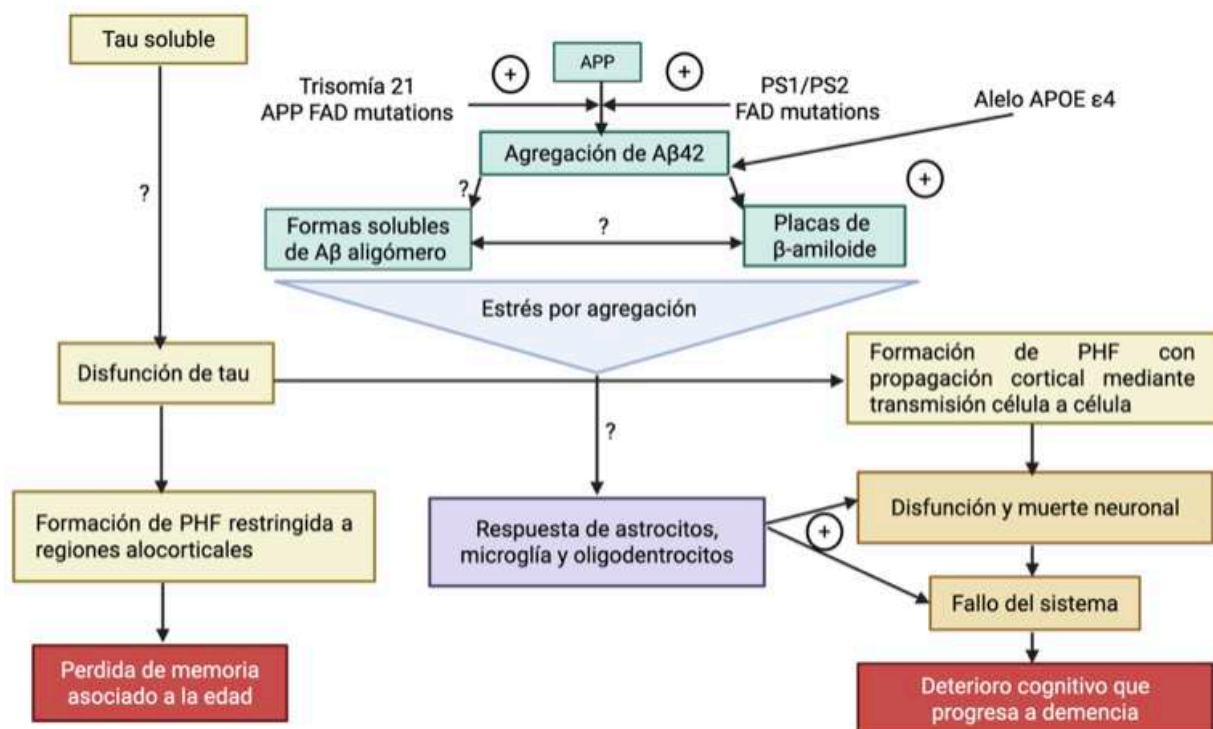


Figura 3. Hipótesis modificada de la cascada amiloide de la enfermedad de Alzheimer (Figura adaptada de Karran et al, *J Neurochem.*, 2016).

El esquema muestra la hipótesis de la cascada amiloide, una de las hipótesis más ampliamente aceptadas para explicar la fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer, según la cual la agregación del péptido β -amiloide constituye un evento clave que progresa en paralelo a la disfunción de tau. En un determinado momento, el depósito de placas amiloides favorece un aumento de la patología de tau, que se propaga a lo largo del cerebro. Este proceso se ve acelerado por la respuesta de distintas poblaciones celulares cerebrales, lo que conduce a un deterioro progresivo del sistema nervioso y, en fases avanzadas, a la demencia.

Abreviaturas: APP, proteína precursora de amiloide; $A\beta$, péptido β -amiloide; $A\beta_{42}$, péptido β -amiloide de 42 aminoácidos; PHF, filamentos helicoidales pareados; APOE $\epsilon 4$, alelo $\epsilon 4$ de la apolipoproteína E; EA, enfermedad de Alzheimer.

Aunque el depósito de β -amiloide tiende a estabilizarse en fases tempranas, la progresión clínica se correlaciona más estrechamente con la extensión de la patología tau. Además, las copatologías neuropatológicas son frecuentes, particularmente en edades avanzadas, e incluyen cuerpos de Lewy, enfermedad cerebrovascular y depósitos de proteína de unión al ADN TAR de 43kDa (TDP-43, *TAR DNA-binding protein 43*), entre otras, que contribuyen de manera significativa a la heterogeneidad clínica y diagnóstica (47,48,55,62).

Diagnóstico biológico

La incorporación de biomarcadores que reflejan la fisiopatología subyacente ha permitido establecer un diagnóstico *in vivo* de la EA basado en evidencia biológica. Los criterios diagnósticos y de estadiaje de la EA según la actualización NIA-AA 2024 proponen un enfoque diagnóstico basado en la demostración de patología amiloide (A) y tau (T), facilitando la detección temprana y una clasificación más precisa de los distintos fenotipos clínicos (8). Los biomarcadores que reflejan los componentes A y T se denominan biomarcadores centrales o core, al representar las lesiones neuropatológicas características de la enfermedad.

Los biomarcadores amiloides incluyen la reducción de β -amiloide 42 ($A\beta_{42}$) y del cociente β -amiloide 42 / β -amiloide 40 ($A\beta_{42}/A\beta_{40}$) en LCR, así como la captación positiva en PET con trazadores de amiloide. En cuanto a la patología tau, los biomarcadores se organizan en dos categorías con implicaciones diagnósticas y pronósticas diferenciadas. Los biomarcadores de cambio temprano (T1), que incluyen isoformas solubles de tau fosforilada (p-tau) que se alteran de forma precoz y reflejan la presencia de patología Alzheimer en estadios tempranos del continuo biológico. Entre ellas, destacan las isoformas 181 (p-tau181), 217 (p-tau217) y 231 (p-tau231), medibles tanto en LCR como en plasma. No obstante, existen diferencias en sensibilidad y especificidad diagnóstica según el analito, y aún persisten retos relacionados con su estandarización y validación clínica, especialmente en el caso de los biomarcadores plasmáticos (63–67), cuestiones que se analizarán en mayor profundidad en apartados posteriores. Por el contrario, los biomarcadores de cambio más tardío (T2), que comprenden fragmentos específicos de tau, como MTBR-tau243 y fragmentos de tau de región media no fosforilados, así como la captación patológica en PET de tau, se asocian a una mayor carga de tau agregada y emergen más cerca del inicio de la sintomatología clínica, aportando información relevante sobre la gravedad biológica de la enfermedad y su pronóstico.

La Tabla 1 resume la categorización de los biomarcadores en fluido y de neuroimagen utilizado para la caracterización biológica de la enfermedad, organizados según el proceso fisiopatológico que reflejan, de acuerdo con los criterios NIA-AA actualizados (8).

Tabla 1. Categorización de los biomarcadores en fluido y de neuroimagen para la caracterización biológica de la enfermedad de Alzheimer.

Categoría de biomarcador	Analitos en LCR o plasma	Imagen
Biomarcadores centrales (Core)		
Core 1		
A (patología β -amiloide)	A β 42	PET amiloide
T ₁ (Tau fosforilada y liberada asociada a la EA)	p-tau217, p-tau181, p-tau231	
Core 2		
T ₂ (patología tau de la EA)	MTBR-tau243, otras formas de tau fosforilada (p.ej., p-tau205), fragmentos de tau de región media no fosforilado*	PET tau
Biomarcadores de procesos no específicos implicados en la fisiopatología de la EA		
N (lesión, disfunción o degeneración neuronal)	NfL	RM anatómica, PET-FDG
I (inflamación; activación astrocitaria)	GFAP	
Biomarcadores de copatología no relacionada con EA		
V (lesión cerebral vascular)		Infarto en RM o TC, HSB
S (α -sinucleína)	α Syn-SAA**	

Notas: Tabla adaptada de Jack et al., *Alzheimers & Dement*, 2024. Los biomarcadores se categorizan según cuatro criterios. Primero, se identifican tres grandes agrupaciones mecanísticas. Segundo, los biomarcadores se subclasifican en función de la proteinopatía o vía fisiopatológica que miden (p. ej., A, T₁, T₂, etc.). Tercero, dentro de la categoría central se distinguen los biomarcadores Core 1 y Core 2. Cuatro, los biomarcadores de imagen y los analitos en biofluido se enumeran por separado dentro de cada categoría.

Abreviaturas: A β , beta-amiloide; EA, enfermedad de Alzheimer; α Syn-SAA, ensayo de amplificación de semillas de alfa-sinucleína; LCR, líquido cefalorraquídeo; TC, tomografía computarizada; FDG, fluorodesoxiglucosa; GFAP, proteína ácida fibrilar glial; RM, resonancia magnética; MTBR, región de unión a microtúbulos; NfL, neurofilamento de cadena ligera; PET, tomografía por emisión de positrones; HSB, hiperintensidades de sustancia blanca

*p-tau213, p-tau205, MTBR-tau243 y los fragmentos de tau no fosforilados se incluyen en esta tabla, pero no han alcanzado el mismo nivel de validación que otros biomarcadores centrales.

** Analito en biofluido que actualmente es informativo únicamente cuando se mide en LCR.

Con este enfoque, la EA se define como un proceso biológico continuo que se inicia con la aparición de cambios neuropatológicos característicos, en un momento en el que los individuos pueden permanecer clínicamente asintomáticos. Los biomarcadores centrales de cambio temprano (*Core 1*) permiten identificar la presencia de patología Alzheimer a lo largo del continuo y son suficientes para establecer su diagnóstico biológico. Por su parte, los biomarcadores de cambio más tardío (*Core 2*) aportan información pronóstica relevante y aumentan la probabilidad de que los síntomas clínicos observados estén directamente relacionados con la enfermedad. La integración de estos biomarcadores en la evaluación clínica ha permitido definir con mayor precisión el estadiaje de la enfermedad a lo largo de su continuo biológico.

La Tabla 2 resume el estadiaje clínico de los individuos en el continuo de la enfermedad de Alzheimer propuestos por los criterios de NIA-AA actualizados (8).

Tabla 2. Estadiaje clínico de los individuos a lo largo del continuo de la enfermedad de Alzheimer.

Estadio 0. Asintomático, gen determinista^a

Ausencia de cambios clínicos. Biomarcadores dentro de los valores normales.

Estadio 1. Asintomático, evidencia positividad biomarcador solo

Rendimiento dentro del rango esperado en pruebas cognitivas objetivas.

Sin evidencia de deterioro cognitivo reciente o de aparición de nuevos síntomas.

Estadio 2. Deterioro transicional, cambios leves detectables, con impacto mínimo en la función diaria

Rendimiento dentro del rango esperado en pruebas cognitivas objetivas.

Deterioro del funcionamiento cognitivo o neuroconductuales respecto a la situación basal individual, ocurrido en los últimos 1 a 3 años y persiste durante al menos 6 meses.

Puede documentarse mediante evidencia de un deterioro sutil en evaluaciones cognitivas longitudinales, que puede afectar a la memoria u otros dominios cognitivos, con un rendimiento que permanece dentro del rango normal.

Puede documentarse a través de informes subjetivos de deterioro cognitivo.

Puede documentarse mediante la aparición reciente de cambios en el estado de ánimo, ansiedad o motivación no explicados por acontecimientos vitales.

Mantiene plena independencia funcional, con ausencia de impacto o impacto mínimo en las actividades de la vida diaria (AVD).

Tabla 2. Estadiaje clínico de los individuos a lo largo del continuo de la enfermedad de Alzheimer. *Continuación*

Estadio 3. Deterioro cognitivo con impacto funcional temprano

Rendimiento alterado o patológico en pruebas cognitivas objetivas.

Evidencia de deterioro respecto a la situación basal, documentada por el propio individuo, por un informante o mediante cambios en evaluaciones cognitivas longitudinales o valoraciones neuroconductuales.

Realiza las actividades de la vida diaria de forma independiente, pero las dificultades cognitivas pueden dar lugar a un impacto funcional detectable en las AVD complejas (p.ej., mayor lentitud o menor eficiencia, aunque conserva la capacidad para completarlas, según autoinformado o corroborado por un observador).

Estadio 4. Demencia con deterioro funcional leve

Deterioro cognitivo progresivo y afectación funcional leve en las AVD instrumentales, con preservación de la independencia en las actividades básicas.

Estadio 5. Demencia con deterioro funcional moderado

Deterioro cognitivo progresivo y afectación funcional moderada en las AVD básicas que requiere asistencia.

Estadio 6. Demencia con deterioro funcional grave

Deterioro cognitivo y funcional progresivo, con dependencia completa para las AVD.

^a**Nota:** *Tabla adaptada de Jack et al., Alzheimers & Dement, 2024. Las personas con síndrome de Down pueden no ser completamente independientes incluso en el estadio 0 debido a la discapacidad intelectual de base. En estos individuos, el deterioro de la independencia funcional respecto a la situación basal puede constituir un indicador más apropiado del estudio clínico.*

Este nuevo marco diagnóstico ha modificado de forma sustancial el abordaje de la enfermedad tanto en investigación como en el ámbito clínico. Sin embargo, la extrapolación de un diagnóstico biológico de EA a individuos cognitivamente no afectados, basándose exclusivamente en la presencia de biomarcadores centrales, sigue siendo objeto de debate. A diferencia de la EA autosómica dominante o del SD, donde la progresión clínica es prácticamente inevitable, en la EA esporádica la tasa de conversión clínica de individuos CN con biomarcadores patológicos es menor y altamente variable, incluso tras seguimiento prolongado. Esta heterogeneidad cuestiona el concepto de EA presintomática en población esporádica y plantea implicaciones clínicas, éticas y sociales relevantes, derivadas de la incertidumbre pronóstica y del impacto del diagnóstico en ausencia de síntomas (9). Estos datos indican que el significado clínico de los biomarcadores centrales depende del contexto clínico y de investigación en el que se utilicen, y que su presencia aislada no basta para explicar las trayectorias individuales de la enfermedad. Profundizar en los

mecanismos que determinan por qué algunos individuos con biomarcadores centrales desarrollan síntomas de forma temprana, mientras que otros permanecen estables durante años o no llegan a manifestarlos, constituye un reto prioritario para la investigación futura.

El papel de los astrocitos en la enfermedad de Alzheimer

En el curso de la EA, los astrocitos sufren una profunda reprogramación transcriptómica que se acompaña de cambios morfológicos y funcionales y contribuye a múltiples procesos fisiopatológicos. Estos astrocitos reactivos muestran un aumento en la expresión de genes inflamatorios y una reducción de aquellos implicados en el soporte neuronal y el metabolismo del colesterol, junto con disfunción mitocondrial y un marcado estrés oxidativo tras la exposición a b-amiloide. Asimismo, presentan alteraciones en la liberación de neurotransmisores y neuromoduladores que perturban la homeostasis sináptica, favorecen una inhibición aberrante de las redes neuronales y contribuyen al estrés oxidativo (68,69).

Además de las funciones descritas en el apartado 1.2.1., en el contexto de la EA, los astrocitos pueden estar implicados en la síntesis, captación y acumulación de b-amiloide. En cerebros envejecidos, en individuos con SD y en EA se han descrito depósitos intracelulares de b-amiloide en astrocitos, frecuentemente localizados en proximidad a placas amiloide y colocalizados con marcadores de reactividad astrocitaria. Estos hallazgos sugieren que los astrocitos podrían intervenir en la captación y el procesamiento del péptido, posiblemente a través de vías lisosomales, aunque el significado funcional de estos hallazgos no está completamente establecido (45). De forma concordante, se ha propuesto que los procesos astrocitarios interactúan con los depósitos de amiloides extracelulares, contribuyendo a su fragmentación o remodelado (18,45). Además de su implicación en la patología amiloide, podrían contribuir a la propagación de tau, actuando como receptores de tau patológica transferida desde las neuronas a través de vesículas extracelulares (70). La disfunción astrocitaria puede además comprometer los mecanismos de aclaramiento cerebral, incluyendo el funcionamiento del sistema glinfático y la regulación del sueño, lo que favorece la acumulación y agregación tanto de b-amiloide como de tau y contribuye a la aceleración de los procesos neurodegenerativos (71,72). El papel de los astrocitos en la regulación del sueño y en la dinámica del sistema glinfático se abordará con mayor detalle en apartados posteriores.

El GFAP se ha consolidado como uno de los biomarcadores de reactividad astrocitaria mejor establecidos en la EA. Estudios neuropatológicos han mostrado que sus concentraciones se correlacionan con la presencia de astrocitos reactivos en proximidad a placas de β -amiloide y ovillos neurofibrilares (73). Asimismo, diversos estudios han demostrado que sus niveles se elevan en fases muy tempranas de la patología amiloide, pudiendo detectarse hasta una década antes del inicio del deterioro cognitivo. Además, muestra una capacidad discriminativa prometedora para la detección de la patología amiloide, lo que apoya su potencial como biomarcador sensible en fases tempranas de la enfermedad (26,27,30,74). En otros estudios basados en biomarcadores plasmáticos y neuroimagen indican que la elevación de GFAP identifica un subgrupo de individuos en los que la patología amiloide se acompaña de una mayor fosforilación de tau y de una mayor progresión clínica, sugiriendo que GFAP podría capturar la reactividad astrocitaria implicada en la interacción entre amiloide, tau y neurodegeneración (75,76).

En individuos con SD, estudios multicéntricos han mostrado que los niveles plasmáticos de GFAP comienzan a elevarse en paralelo al descenso de β -amiloide en LCR aproximadamente diez años antes de la positividad en PET amiloide. Además, se asocia estrechamente con la carga de patología amiloide cerebral, con marcadores estructurales y funcionales de neuroimagen, como el adelgazamiento cortical y el hipometabolismo de glucosa medido mediante PET con fluorodesoxiglucosa (PET-FDG), así como con la progresión clínica. Además, su rendimiento diagnóstico para discriminar entre pacientes con EA sintomáticos e individuos asintomáticos es elevado, con un área bajo la curva superior al de otros biomarcadores plasmáticos como NfL y p-tau181, lo que apoya su potencial utilidad tanto en la práctica clínica como en ensayos clínicos en adultos con SD (77).

Por su parte, YKL-40 se ha relacionado con la respuesta astrocitaria asociada a la activación microglial. En la EA, se ha descrito sobreexpresión de YKL-40 en astrocitos reactivos localizados en proximidades a las placas β -amiloide, y sus niveles en LCR se correlacionan positivamente con la carga tau (35). Además, se han observado concentraciones más elevadas en fases tempranas de la enfermedad, así como asociaciones con marcadores estructurales de neuroimagen y con la progresión del deterioro cognitivo, lo que refuerza su potencial utilidad como biomarcador en estadios iniciales de la EA (35,78,79).

1.3.2. Síndromes relacionados con la degeneración lobar frontotemporal y el papel de los biomarcadores de origen astrocitario

Epidemiología y presentación clínica

La degeneración lobular frontotemporal (DLFT) engloba un grupo de trastornos neurodegenerativos caracterizados por una marcada heterogeneidad clínica y neuropatológica, que se manifiesta mediante alteraciones predominantemente del comportamiento, del lenguaje, de otros dominios cognitivos o de la función motora. Estas manifestaciones clínicas se agrupan bajo el término de síndromes relacionados con la DLFT (S-DLFT), que reflejan la diversidad de los procesos neuropatológicos subyacentes (Figura 4) (80,81).

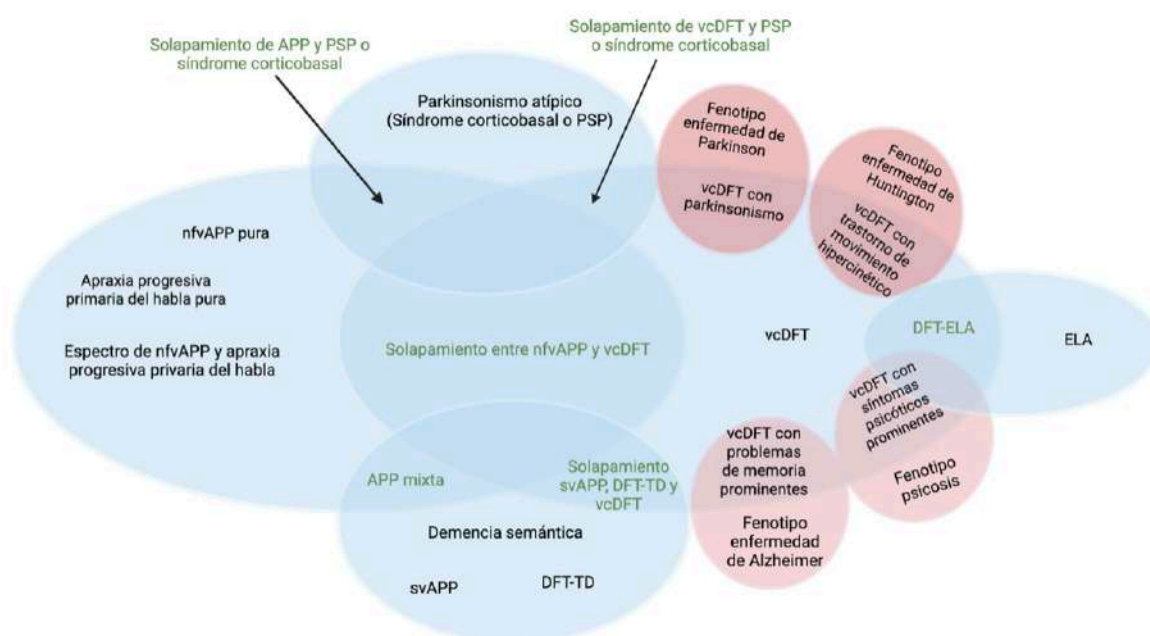


Figura 4. Heterogeneidad y solapamiento de las presentaciones clínicas en el espectro de la degeneración lobular frontotemporal (adaptada de Boeve et al., *Lancet Neurol.* 2022).

La figura muestra la heterogeneidad clínica y el solapamiento entre las distintas presentaciones asociadas al espectro neuropatológico de la degeneración lobular frontotemporal (DLFT). Los síndromes principales del espectro DLFT se representan en tonos azules y los síndromes representados en rosa corresponden a presentaciones clínicas típicamente situadas fuera del espectro clásico de la DFT, pero que han sido descritas en pacientes con DLFT confirmada neuropatológicamente.

Abreviaturas: APP, Afasia progresiva primaria; DFT, demencia frontotemporal; DFT-TD, demencia frontotemporal variante temporal derecha; ELA, esclerosis lateral amiotrófica, nfvAPP, afasia progresiva primaria variante no fluente; PSP, parálisis supranuclear progresiva; svAPP, afasia progresiva primaria variante semántica; vcDFT, demencia frontotemporal variante conductual.

Aunque menos prevalente que la EA, la DLFT constituye la segunda causa más frecuente de demencia de inicio precoz, con una incidencia entre 2 y 3 casos por cada 100.000 personas-año. Es probable que su prevalencia esté infravalorada, dado que los síntomas de los S-DLFT pueden solaparse con los de otros síndromes neurodegenerativos o con trastornos psiquiátricos, lo que dificulta su reconocimiento en la práctica clínica (82,83).

Dentro de este espectro, el término clínico demencia frontotemporal (DFT) se reserva habitualmente para las principales presentaciones cognitivas asociadas a la DLFT: la variante conductual de la demencia frontotemporal (bvFTD) y las variantes no fluente/agramatical y semántica de la afasia progresiva primaria (APP) (50,80,81,84).

Además, el espectro clínico de la DLFT incluye síndromes motores extrapiramidales, como el síndrome de Richardson de la parálisis supranuclear progresiva (PSP-RS) y el síndrome corticobasal (SCB), así como trastornos motores piramidales, como la ELA. Aunque estos cuadros presentan fenotipos clínicos diferenciados, comparten hallazgos neuropatológicos comunes. Asimismo, se han descrito presentaciones atípicas, incluyendo cuadros con síntomas neuropsiquiátricos iniciales o con afectación amnésica predominante, que puede simular otras enfermedades neurodegenerativas y dificultar el reconocimiento diagnóstico precoz (80,81,85,86).

Bases biológicas y neuropatología

Desde el punto de vista neuropatológico, la DLFT se define por la acumulación de proteínas anómalas en neuronas y en células gliales, dando lugar a distintos subtipos moleculares con correlatos clínicos variables. Se distinguen tres grandes grupos: DLFT-tau, DLFT-TDP y DLFT-FET, cada uno con variantes histopatológicas específicas (87).

El subtipo DLFT-tau, más frecuente en casos de inicio tardío, incluye entidades como la parálisis supranuclear progresiva (PSP) y la degeneración corticobasal (DCB), habitualmente asociadas a síndromes motores y a deterioro cognitivo. El grupo DLFT-TDP es el más prevalente (≈50% de los casos), puede presentarse como vcDFT, determinadas formas de APP y/o ELA. Por último, el subtipo DLFT-FET, menos frecuente, se caracteriza por inclusiones compuestas por proteínas de la familia FET, como FUS (*fused in sarcoma*), EWS (*Ewing sarcoma protein*) y TAF15 (*TATA-binding protein-associated factor 15*). A pesar de que existen asociaciones relativamente consistentes entre subtipo molecular y fenotipo

clínico, estas no son exclusivas y existe una considerable superposición clínico-patológica que refleja la complejidad biológica de la enfermedad (87–89).

La DLFT presenta una elevada carga genética: hasta un 50% de los casos con S-DLFT presentan antecedentes familiares de trastornos neurodegenerativos y/o psiquiátricos. La identificación de una mutación genética causal permite establecer un diagnóstico definitivo y, en muchos casos, anticipar la patología subyacente, dado que los genes implicados se asocia de forma consistente con subtipos neuropatológico específico (90).

Los principales subgrupos, proteínas implicadas y genes causales se resumen en la Tabla 3 (87).

Tabla 3. Subtipos neuropatológicos de la degeneración lobular frontotemporal.

Subgrupo molecular	Proteína implicada	Genes causantes	Subtipos patológicos característicos
DLFT-tau (40%)	Tau	MAPT	PiD (enfermedad de Pick) DCB (degeneración corticobasal) PSP parálisis supranuclear progresiva) TGG (taupatía globular glial) AGD (degeneración argirofílica)
DLFT-TDP (50%)	TDP-43	GRN; C9orf72; VCP; (TARDBP); (TBK1)	Subtipos A-D (clasificación por patrón de afectación y morfología de inclusiones)
DLFT-FET (5-10%)	FUS EWS TAF15	(FUS)	aDLFT-U (DLFT con inclusiones atípicas FUS-positivas) BIBD (demencia con inclusiones basófilas) NIFID (demencia con inclusiones filamentosas intermedias)
DLFT-UPS (<1%)	Desconocida	No definido con precisión	CHMP2B

Tabla adaptada de Neumann & Mackenzie, Neuropathol Appl Neurobiol, 2019.

Abreviaturas: DLFT: degeneración lobular frontotemporal; DLFT-tau, degeneración lobular frontotemporal asociada a tau; DLFT-TDP: degeneración lobular frontotemporal asociada a TDP-43; DLFT-FET, degeneración degeneración lobular frontotemporal asociada a proteínas de la familia FET, DLFT-UPS, degeneración lobular frontotemporal asociada al sistema ubiquitina-proteasoma; TDP-43, proteína de unión a TAR de 43 kDa.

Diagnóstico clínico y herramientas complementarias

El diagnóstico de los S-DLFT continúa siendo fundamentalmente clínico, basado en la identificación de los patrones de afectación conductual, de lenguaje o motora. No obstante, el solapamiento de síntomas con otros trastornos neurodegenerativos, especialmente con formas atípicas de EA, y con determinados trastornos psiquiátricos, puede retrasar el reconocimiento diagnóstico.

La neuroimagen estructural mediante resonancia magnética (RM) y la neuroimagen funcional mediante PET-FDG puede mostrar patrones de atrofia o hipometabolismo frontotemporal orientativos del diagnóstico o del subtipo neuropatológico. No obstante, la ausencia de hallazgos evidentes no excluye la enfermedad, y los resultados de imagen deben interpretarse siempre en el contexto clínico (81,91).

Los criterios diagnósticos vigentes de los S-DLFT se presentan en la Tabla 4. A diferencia de la EA, en los S-DLFT no existen actualmente biomarcadores fisiopatológicos validados que permitan identificar de forma precisa el subtipo molecular responsable. En la práctica clínica, los biomarcadores desarrollados para la EA se utilizan principalmente con fines de diagnóstico diferencial. Un cociente elevado de t-tau o p-tau respecto a A β 42 (tau/A β 42) es altamente sugestivo de EA y permite distinguirla de DLFT con alta precisión diagnóstica. Por el contrario, incluso los subtipos de DLFT asociados a tau no presentan las elevaciones de tau observadas en EA (81,91,92).

Tabla 4. Criterios diagnósticos vigentes de los síndromes relacionados con la degeneración lobular frontotemporal.

Sintomatología dominante	Síndrome clínico	Criterios diagnósticos
Cambios de personalidad	Variante conductual de la demencia frontotemporal (vcDFT)	Rascovsky et al., Brain 2011 (84)
	Variante temporal derecha de la demencia frontotemporal (DFT-TD)	Ulughut et al., Brain 2020 (93,94)
Alteración en el habla y/o lenguaje	Variante no fluente/agramatical de la afasia primaria progresiva (nfvAPP)	Gorno-Tempini et al., Neurology 2011 (50)
	Variante semántica de la afasia primaria progresiva (svAPP)	Gorno-Tempini et al., Neurology 2011 (50)
	Variante lopopénica de la afasia primaria progresiva (lgAPP)	Gorno-Tempini et al., Neurology 2011 (50)

Tabla 4. Criterios diagnósticos vigentes de los síndromes relacionados con la degeneración lobular frontotemporal. *Continuación*

Sintomatología dominante	Síndrome clínico	Criterios diagnósticos
Combinación de elementos cognitivos, conductuales y motores	Parálisis Supranuclear Progresiva (PSP)	Hoglinger et al., Mov Disorders 2017 (95,96)
	Degeneración Corticobasal (DCB)	Armstrong et al., Neurology 2013 (85)
	Esclerosis Lateral Amiotrófica con demencia frontotemporal (ELA-DFT)	Strong et al., Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener 2017 (97)

En los últimos años se han desarrollado técnicas dirigidas a la detección directa de las proteinopatías específicas. Las concentraciones reducidas de progranulina (GRN) en LCR y plasma permiten identificar de forma fiable a los portadores de mutación en *GRN*, y técnicas como RT-QuIC han mostrado resultados preliminares prometedores para la detección de TDP-43 en LCR. Más recientemente, el desarrollo de técnicas de cuantificación de proteínas en vesículas extracelulares plasmáticas ha permitido una caracterización más precisa de proteínas patológicas como la tau, que presentan una rápida fragmentación en espacios extracelulares. Estas nanopartículas, secretadas por la mayoría de los tipos celulares, participan en la comunicación intracelular y tienen capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica. La cuantificación de TDP-43 y de las isoformas de tau de tres repeticiones (3R) y de cuatro repeticiones (4R) en vesículas extracelulares plasmáticas ha mostrado buen rendimiento para diferenciar las distintas proteínas patológicas subyacentes. Asimismo, estos biomarcadores se han asociado además con otros marcadores de gravedad de la enfermedad, lo que sugiere un elevado potencial para el diagnóstico molecular en S-DLFT esporádica. No obstante, estos resultados proceden de un único estudio y los métodos requieren aún validación adicional antes de su aplicación clínica generalizada (91,92,98).

El neurofilamento de cadena ligera (NfL) constituye un marcador sensible de lesión axonal y neurodegeneración. Aunque carece de especificidad, sus niveles suelen ser más elevados en los síndromes del espectro de la DLFT que en la EA, lo que lo convierte en una herramienta útil en el diagnóstico diferencial frente a trastornos psiquiátricos cuando los biomarcadores para la EA son negativos (8,91,92,99).

Papel de los astrocitos en la DLFT

En la DLFT, la afectación astrocitaria constituye un rasgo neuropatológico frecuente y distintivo, particularmente en las taupatías. A diferencia de la EA, donde la patología astrocitaria se asocia de forma más difusa a la carga amiloide, en la DLFT-tau se observan inclusiones de tau con morfologías específicas y reproducibles, que forman parte de los criterios diagnósticos neuropatológicos. Entre ellas destacan los tufted astrocytes, característicos de la PSP, definidos por acumulaciones de tau fosforilada en los segmentos proximales de los procesos astrocitarios, así como las placas astrocitarias observadas en la DCB, formadas por depósitos de tau en las porciones distales de los procesos. Otras taupatías del espectro DLFT muestran patrones astrocitarios diferenciados, como inclusiones globulares o astrocitos ramificados. Esta diversidad morfológica y topográfica subraya que los astrocitos participan de manera directa en la patología de la DLFT y refuerza el interés por explorar biomarcadores capaces de reflejar estas alteraciones gliales *in vivo* (45).

En este contexto, se han descrito concentraciones elevadas de GFAP en LCR y en plasma en distintos subtipos de S-DLFT, lo que sugiere su potencial utilidad como biomarcador en el diagnóstico diferencial frente a otras entidades (23,100–102) prognosis, and the underlying causative pathology. Blood glial fibrillary acidic protein (GFAP. Asimismo, se han reportado incrementos de YKL-40 en LCR, especialmente en pacientes con mayor progresión clínica o en formas genéticas asociadas a mutaciones en GRN (37,38,102–104). En estudios multicéntricos, YKL-40 también se ha asociado a un mayor deterioro funcional y un perfil inflamatorio más intenso, apoyando su valor como marcador de activación glial en este contexto (105).

Aunque la implicación de los astrocitos en las enfermedades neurodegenerativas adopta manifestaciones heterogéneas según la entidad clínica y la proteína patológica subyacente, un elemento común que emerge de forma consistente es su participación en la regulación del microambiente cerebral y en los mecanismos de aclaramiento de proteínas y metabolitos (18). El sueño actúa como un modulador de estos procesos, al regular diversos mecanismos implicados en la homeostasis cerebral, entre ellos el sistema glinfático, cuya actividad aumenta durante el sueño profundo.

1.4. Sueño, astrocitos y mecanismos de aclaramiento cerebral

1.4.1. Sueño en condiciones fisiológicas y métodos de evaluación

El sueño es un proceso biológico esencial para la supervivencia y el adecuado funcionamiento cerebral. Una calidad y duración apropiadas favorecen la consolidación de memoria, función cognitiva, estabilidad emocional y regulación hormonal, además de contribuir al correcto funcionamiento de sistemas inmune, cardiovascular y metabólico (106).

El ciclo de sueño-vigilia está regulado por la interacción de dos procesos fisiológicos complementarios. Por un lado, el sistema circadiano, un reloj biológico endógeno con una periodicidad cercana a 24 horas, sincroniza los estados de alerta y sueño con señales ambientales. Por otro, el proceso homeostático del sueño refleja la necesidad creciente de dormir cuanto mayor es el tiempo de vigilia previo, lo que se conoce como *presión del sueño*, y se asocia a la acumulación progresiva de adenosina en el cerebro, que reduce la excitabilidad neuronal y favorece la iniciación y el mantenimiento del sueño. Ambos procesos están regulados por múltiples estructuras cerebrales, incluyendo regiones corticales, núcleos hipotalámicos y estructuras del tronco encefálico (107).

El sueño ocupa cerca de un tercio de la vida humana y se caracteriza por una actividad cerebral cíclica y altamente organizada. Se distinguen dos estados principales: el sueño no REM (NREM, *Non-Rapid Eye Movement*) y el sueño REM (REM, *Rapid Eye Movement*), caracterizado por movimientos oculares rápidos y atonía muscular generalizada. El sueño NREM se subdividen en tres fases: la fase N1, correspondiente al sueño más ligero; N2, de profundidad intermedia; y N3, que representa la fase más profunda. La fase N3 también se denomina fase de sueño de ondas lentas, debido a su actividad electroencefalográfica de baja frecuencia y de alta amplitud. La actividad de ondas lentas (SWA, *slow-wave activity*) cuantifica esta actividad y se ha relacionado con la presión del sueño, la consolidación de la memoria y la activación del sistema glinfático, entre otros procesos. A lo largo de una noche habitual, estas fases se alternan en ciclos de aproximadamente 90 minutos (106).

La evaluación clínica del sueño puede realizarse mediante herramientas subjetivas u objetivas. Entre los métodos de cribado más utilizados se incluyen cuestionarios estructurados como el *Pittsburgh Sleep Quality Index* (PSQI), que evalúa la calidad percibida del sueño; la *Epworth Sleepiness Scale* (ESS), orientada a la somnolencia diurna excesiva; y el cuestionario STOP-BANG, empleado para la detección de apnea obstructiva del sueño (AOS). La actigrafía, una técnica no invasiva para evaluar los ciclos de actividad y reposo, permite estimar los patrones de sueño-vigilia durante varios días mediante el registro continuo de la actividad motora en el entorno habitual del individuo. La polisomnografía constituye el método de referencia, al proporcionar información detallada sobre la arquitectura del sueño, la actividad eléctrica cerebral, los movimientos oculares, el tono muscular y la función respiratoria, permitiendo el diagnóstico preciso de múltiples trastornos del sueño (108).

1.4.2. Papel de los astrocitos en la regulación del sueño y del sistema glinfático

Los astrocitos participan activamente en la regulación del ciclo sueño-vigilia. La evidencia derivada de estudios experimentales sugiere que la relación entre la actividad astrocitaria y el ciclo sueño-vigilia es recíproca. Los astrocitos pueden modular la excitabilidad neuronal y la dinámica de las redes mediante señalización intracelular y la liberación de gliotransmisores, con efectos sobre la sincronización neuronal y sobre patrones electrofisiológicos característicos del sueño NREM, como la SWA (12,109). Por otro lado, otros estudios han sugerido que la disrupción del sueño puede desencadenar una activación astrocitaria y contribuye a la respuesta inflamatoria local y sistémica (110–113).

Estas células ejercen también un control esencial sobre el funcionamiento del sistema glinfático, mecanismo análogo del sistema linfático periférico que facilita la eliminación de desechos metabólicos acumulados en el espacio intersticial a través de vías perivasculares (114). Este sistema se encuentra especialmente activo durante el sueño profundo NREM, fase en la que se optimiza la depuración de sustancias potencialmente neurotóxicas (72,114). Tal como se describió previamente al abordar las funciones de los astrocitos, estas células constituyen un componente estructural del sistema glinfático. A través de la expresión del canal de agua AQP4 en sus pies terminales, los astrocitos facilitan el intercambio de fluido entre el espacio perivascular de los vasos sanguíneos y el líquido intersticial (Figura 5). Esta organización permite tanto la distribución de nutrientes a las neuronas más distantes de la microvasculatura como la eliminación eficiente de productos de

desecho (12,18,72,114). En el contexto de enfermedades neurodegenerativas, este sistema es particularmente relevante al participar en la eliminación de proteínas neurotóxicas como β -amiloide, tau y α -sinucleína (114,115). En la EA, se estima que aproximadamente el 65% de los péptidos β -amiloide se eliminan a través de este sistema, y la reducción de la expresión de AQP4 descrita en estos pacientes podría comprometer su capacidad de aclaramiento y favorecer su acumulación (114,115).

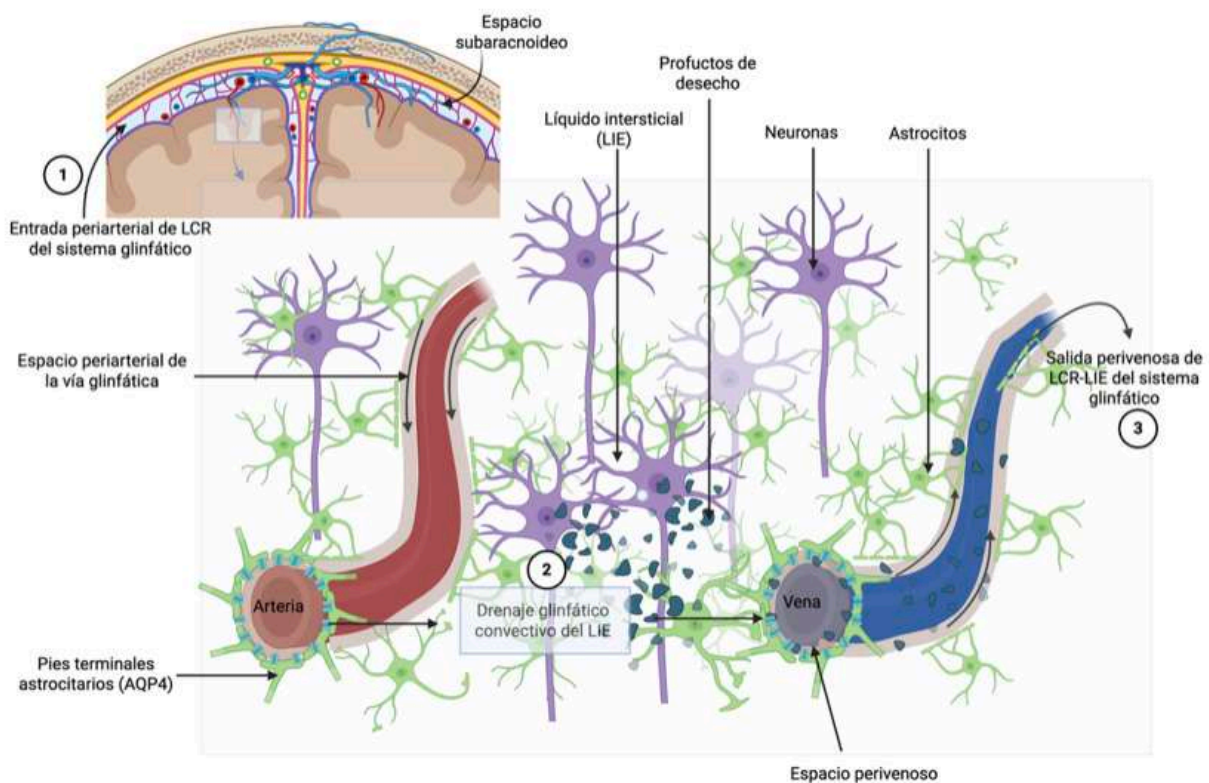


Figura 5. Esquema del sistema glinfático cerebral (Figura adaptada de Tarasoff et al., *Nature Review Neurology*, 2015).

La figura muestra los principales mecanismos implicados en la vía glinfática. La vía glinfática elimina productos desechos del líquido intersticial (LIE) a través del parénquima cerebral y comprende tres componentes funcionales principales: (1) la entrada periarterial de líquido cefalorraquídeo (LCR), de forma unidireccional y en el mismo sentido que el flujo sanguíneo, hacia el espacio periarterial, desde donde el componente acuoso del LCR atraviesa los canales de aquaporina-4 (AQP4) localizados en los pies terminales astrocitarios para acceder al parénquima cerebral; (2) el intercambio LCR-LIE dentro del parénquima cerebral; y (3) el desplazamiento LCR-LIE hacia el espacio perivenoso de las venas de drenaje profundo. Los productos de desecho eliminados pueden recircular posteriormente con el LCR o ser finalmente absorbidos por el sistema linfático. Las flechas indican la dirección del flujo.

Abreviaturas: AQP4, aquaporina-4; LCR, líquido cefalorraquídeo; LIE, líquido intersticial

1.4.3. Trastornos del sueño y enfermedades neurodegenerativas: una relación bidireccional y potencialmente mediada por neuroinflamación

La evidencia acumulada en las últimas décadas apoya la existencia de una relación bidireccional entre el sueño y las enfermedades neurodegenerativas. La edad, principal factor de riesgo biológico para las enfermedades neurodegenerativas esporádicas, también se asocia a cambios sustanciales en la arquitectura del sueño, caracterizados por mayor fragmentación del descanso nocturno y reducción progresiva del sueño profundo (N3) y del sueño REM (116,117). Se ha visto que estas alteraciones, y en particular la reducción del sueño de ondas lentas y la fragmentación del descanso nocturno, pueden contribuir al desarrollo y progresión de la EA al interferir con los mecanismos de producción y eliminación de proteínas patológicas (118–123).

Adicionalmente, los eventos respiratorios durante el sueño, particularmente las apneas obstructivas del sueño (AOS), son altamente prevalentes en el envejecimiento y en las enfermedades neurodegenerativas. La AOS se caracteriza por episodios repetidos de obstrucción parcial o completa de la vía aérea superior que inducen hipoxia intermitente, fragmentación del sueño y oscilaciones en la presión intratorácica. Estas alteraciones se asocian con somnolencia diurna excesiva, mayor riesgo cardiovascular, activación inflamatoria sistémica y deterioro del rendimiento cognitivo (124,125). De forma consistente, la AOS se ha asociado con un mayor riesgo de EA, posiblemente debido a que la fragmentación del sueño y la hipoxia intermitente que alteran los mecanismos de depuración cerebral y favorece la acumulación de β -amiloide y tau, acelerando la fisiopatología de la enfermedad (123,125–127).

Por otro lado, la propia patología de la EA puede alterar secundariamente la arquitectura del sueño. El depósito progresivo de β -amiloide y tau en regiones implicadas en la regulación del sueño puede favorecer la fragmentación del sueño y la pérdida de sueño de ondas lentas, cambios que se han asociado con un peor rendimiento cognitivo, una mayor carga de síntomas neuropsiquiátricos y un deterioro funcional más acentuado (128–130).

Más allá de los mecanismos de producción y aclaramiento de proteínas patológicas, la neuroinflamación emerge como un posible mediador clave en la relación bidireccional entre el sueño y la EA. Diversos estudios sugieren que la disrupción crónica del sueño puede inducir la activación astrocitaria y favorecer un entorno proinflamatorio cerebral, con potencial impacto sobre la homeostasis sináptica y la progresión neurodegenerativa

(131–133). En este sentido, se han descrito concentraciones elevadas de GFAP en suero de individuos con insomnio crónico, correlacionando con su gravedad, sugiriendo que la alteración persistente del sueño puede asociarse a una mayor reactividad astrocitaria (134). De forma complementaria, concentraciones aumentadas de YKL-40 en LCR se han relacionado con una peor calidad del sueño tanto en personas con EA como en individuos CN, apoyando la existencia de un vínculo entre activación glial, inflamación y arquitectura del sueño (17,112,131).

1.4.4. Síndrome de Down como paradigma biológico para explorar la interacción entre sueño y enfermedad de Alzheimer

En el SD, las alteraciones del sueño son notablemente más frecuentes que en la población general y están presentes a lo largo de todo el ciclo vital. Desde la infancia, se describen dificultades para conciliar y mantener sueño, despertares nocturnos frecuentes y otros trastornos conductuales, así como una mayor prevalencia de parasomnias y movimientos anormales durante el sueño. Estas alteraciones suelen persistir en la edad adulta, contribuyendo a una marcada fragmentación del descanso y a la reducción sostenida de la calidad del sueño, con un impacto negativo sobre la salud general y la calidad de vida (135). Adicionalmente, la AOS es particularmente prevalente en el SD, se estiman que entre el 65% y el 100% de adultos la presentan y, con frecuencia, en formas de mayor gravedad. Estos hallazgos probablemente se relacionan con características anatómicas y funcionales propias del síndrome (135).

La concurrencia de una elevada carga de trastorno del sueño con la aparición precoz y evolución casi universal hacia la EA convierte al SD en un referente para estudiar la interacción entre el sueño, la neuroinflamación y el proceso neurodegenerativo. Al mismo tiempo, la alta prevalencia de alteraciones del sueño confiere a esta población de especial interés clínico, ya que intervenciones dirigidas a mejorar el sueño podría tener impacto significativo tanto en la salud general como en la evolución de los procesos neurodegenerativos asociados.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

A pesar de los avances recientes en el estudio de los biomarcadores de origen astrocitario y su relación con los trastornos neurodegenerativos, persisten diversos vacíos de conocimiento que limitan su aplicación clínica y su integración en modelos fisiopatológicos más amplios. En parte, estas lagunas reflejan que, aunque la incorporación de biomarcadores ha permitido una definición más precisa del estado biológico de los individuos, esta aproximación no se ha integrado de manera sistemática en la estratificación de los grupos de estudio, condición necesaria para interpretar de manera mecanística las asociaciones observadas entre distintos procesos patológicos implicados.

En primer lugar, **existe evidencia limitada sobre los perfiles diferenciales de biomarcadores plasmáticos en enfermedades neurodegenerativas distintas de la EA que presentan fenotipos clínicos superpuestos**. La mayor parte de las investigaciones se han centrado en la EA, mientras que el comportamiento de GFAP y NfL en los S-DLFT requiere una caracterización más exhaustiva. Aunque se ha descrito que ambos biomarcadores se encuentran elevados en pacientes con S-DLFT, su valor diagnóstico y pronóstico diferencial frente a la EA y frente a individuos cognitivamente sanos es heterogéneo, lo que sugiere que el rendimiento diagnóstico de estos marcadores por separado podría depender de las características de la cohorte estudiada, incluyendo la variabilidad clínica y neuropatológica propia de la S-DLFT, así como del estadio de la enfermedad (24,100,136). Sumando a esto, la evidencia disponible sobre el valor añadido de su combinación para reducir dicha variabilidad y mejorar su utilidad diagnóstica es todavía limitada, a pesar de su plausibilidad teórica. La predominancia de diseños transversales restringe además la interpretación de su valor pronóstico, y el papel del GFAP plasmático como predictor de progresión clínica en S-DLFT permanece insuficientemente validado en estudios longitudinales e independientes (25,102,137).

En segundo lugar, aunque la reactividad astrocitaria y los trastornos de sueño se reconocen como fenómenos tempranos en la fisiopatología de la EA, **la interacción específica entre los biomarcadores de origen astrocitario y la arquitectura del sueño, así como su contribución a la progresión de la enfermedad, continúa insuficientemente caracterizada**. Además, una parte relevante de la evidencia disponible se basa en cohortes definidas exclusivamente por criterios clínicos, sin confirmación biológica, lo que puede dificultar la interpretación

de estas asociaciones en fases preclínicas (124,138). Resulta difícil determinar si la elevación de biomarcadores de origen astrocitario representa un epifenómeno derivado de la patología Alzheimer o si, por el contrario, refleja un mayor grado de neuroinflamación asociado a trastorno del sueño. En este sentido, resulta especialmente relevante analizar estas asociaciones en individuos CN y sin evidencia biológica de EA, con el fin de identificar correlaciones tempranas y establecer un marco fisiológico de referencia.

Por último, **la caracterización sistemática de la arquitectura del sueño a lo largo del continuo biológico sigue siendo limitada**. Si bien la relación bidireccional entre sueño y progresión de la enfermedad está ampliamente aceptada, los estudios que han explorado distintos estadios clínicos sugieren que las alteraciones de la arquitectura del sueño varía según el estadio y se asocian tanto con biomarcadores centrales como con el rendimiento cognitivo, lo que apunta a una evolución dinámica vinculada a la progresión patológica (139). Sin embargo, los cambios en los patrones del sueño a lo largo del continuo de las enfermedades neurodegenerativas han sido escasamente caracterizados de forma sistemática. Dado que esta relación es probablemente dinámica y no lineal, resulta fundamental comprender cómo varían los patrones de sueño según el estadio para interpretar adecuadamente su asociación con biomarcadores y con la evolución clínica.

HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis general

La hipótesis general de esta tesis es que la integración de biomarcadores de origen astrocitario y parámetros objetivos del sueño permite una caracterización biológica *in vivo* más precisa de las enfermedades neurodegenerativas, mejoran la capacidad diagnóstica y pronóstica y favorece a una comprensión más integrada de los mecanismos subyacentes.

Sobre la base de esta hipótesis general, se plantean las siguientes hipótesis específicas, formuladas para ser contrastadas en los distintos estudios que componen esta tesis.

3.2. Hipótesis específicas

- 1) Los niveles plasmáticos de GFAP y NfL, de forma individual o combinada, pueden mostrar perfiles diferenciales que permitan discriminar a los pacientes con DFT de individuos CN y de pacientes con EA, y podrían tener valor pronóstico en la predicción de la progresión clínica.
- 2) Las asociaciones entre los patrones objetivos de sueño y los biomarcadores de activación astrocitaria pueden ser detectables en individuos CN y podrían estar moduladas por factores de riesgo como la edad y la presencia de *APOE* $\epsilon 4$.
- 3) En adultos con SD, la progresión de la EA puede asociarse con un deterioro progresivo de la arquitectura del sueño, objetivable mediante polisomnografía, que podría ser más acusado en las fases clínicas avanzadas de la enfermedad.

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo principal

El objetivo general de esta tesis consiste en profundizar en el papel de los biomarcadores de origen astrocitario, en combinación con otros marcadores y con medidas objetivas del sueño, en la caracterización diagnóstica y pronóstica de las enfermedades neurodegenerativas, así como en el estudio *in vivo* de sus mecanismos fisiopatológicos.

Para dar respuesta a esta hipótesis, la presente tesis se estructura en tres estudios con objetivos específicos complementarios, que abordan de forma progresiva el papel de los biomarcadores de origen astrocitario y del sueño en distintos contextos clínicos y biológicos.

4.2. Objetivos secundarios

Objetivo 1. Determinar la utilidad de biomarcadores plasmáticos como GFAP, NfL o su combinación para diferenciar pacientes con DFT de aquellos con EA y de individuos CN. Como objetivo secundario, analizar la asociación entre los niveles plasmáticos de GFAP y la progresión de la DFT y EA, evaluada mediante parámetros clínicos, biomarcadores en fluido y medidas de neuroimagen estructural.

Objetivo 2. Caracterizar la relación entre los parámetros objetivos del sueño, medidos mediante polisomnografía nocturna, y las concentraciones de biomarcadores de origen astrocitario (GFAP e YKL-40 en LCR y GFAP en plasma), daño axonal (NfL en plasma) y biomarcadores centrales de la EA (A β 42, A β 40, p-tau181, t-tau en LCR) en adultos CN, así como explorar si estas asociaciones se encuentran moduladas por la edad, el sexo o la presencia del alelo *APOE* ϵ 4.

Objetivo 3. Evaluar la prevalencia y las características de los trastornos del sueño en adultos con SD mediante métodos subjetivos y objetivos y caracterizar la evolución de los parámetros de sueño a lo largo del continuo clínico de la EA.

COMPENDIO DE PUBLICACIONES

5. COMPENDIO DE PUBLICACIONES

5.1. Artículo 1

Proteína glial fibrilar ácida y neurofilamento de cadena ligera en plasma para la evaluación diagnóstica y pronóstica de la demencia frontotemporal

Zhu N, Santos-Santos M, Illán-Gala I, Montal V, Estellés T, Barroeta I, Altuna M, Arranz J, Muñoz L, Belbin O, Sala I, Sánchez-Saudinós MB, Subirana A, Videla L, Pegueroles J, Blesa R, Clarimón J, Carmona-Iragui M, Fortea J, Lleó A, Alcolea D. Plasma glial fibrillary acidic protein and neurofilament light chain for the diagnostic and prognostic evaluation of frontotemporal dementia. *Transl Neurodegener.* 10;10(1):50.

<https://doi.org/10.1186/s40035-021-00275-w>. IF 9,88. Q1

RESEARCH

Open Access



Plasma glial fibrillary acidic protein and neurofilament light chain for the diagnostic and prognostic evaluation of frontotemporal dementia

Nuole Zhu^{1,2,3}, Miguel Santos-Santos^{1,2}, Ignacio Illán-Gala^{1,2}, Victor Montal¹, Teresa Estellés^{1,2}, Isabel Barroeta^{1,2}, Miren Altuna^{1,2}, Javier Arranz^{1,2}, Laia Muñoz², Olivia Belbin^{1,2}, Isabel Sala^{1,2}, Maria Belén Sánchez-Saudinós^{1,2}, Andrea Subirana^{1,2}, Laura Videla^{1,2,4}, Jordi Pegueroles¹, Rafael Blesa¹, Jordi Clarimón^{1,2}, Maria Carmona-Iragui^{1,2,4}, Juan Fortea^{1,2,4}, Alberto Lleó^{1,2,3*} and Daniel Alcolea^{1,2,3*} 

Abstract

Background Astrocytes play an essential role in neuroinflammation and are involved in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. Studies of glial fibrillary acidic protein (GFAP), an astrocytic damage marker, may help advance our understanding of different neurodegenerative diseases. In this study, we investigated the diagnostic performance of plasma GFAP (pGFAP), plasma neurofilament light chain (pNfL) and their combination for frontotemporal dementia (FTD) and Alzheimer's disease (AD) and their clinical utility in predicting disease progression.

Methods pGFAP and pNfL concentrations were measured in 72 FTD, 56 AD and 83 cognitively normal (CN) participants using the Single Molecule Array technology. Of the 211 participants, 199 underwent cerebrospinal (CSF) analysis and 122 had magnetic resonance imaging. We compared cross-sectional biomarker levels between groups, studied their diagnostic performance and assessed correlation between CSF biomarkers, cognitive performance and cortical thickness. The prognostic performance was investigated, analyzing cognitive decline through group comparisons by tertile.

Results Unlike pNfL, which was increased similarly in both clinical groups, pGFAP was increased in FTD but lower than in AD (all $P < 0.01$). Combination of both plasma markers improved the diagnostic performance to discriminate FTD from AD (area under the curve [AUC]: combination 0.78; pGFAP 0.7; pNfL 0.61, all $P < 0.05$). In FTD, pGFAP correlated with cognition, CSF and plasma NfL, and cortical thickness (all $P < 0.05$). The higher tertile of pGFAP was associated with greater change in MMSE score and poor cognitive outcome during follow-up both in FTD (1.40 points annually, hazard ratio [HR] 3.82, $P < 0.005$) and in AD (1.20 points annually, HR 2.26, $P < 0.005$).

Conclusions pGFAP and pNfL levels differ in FTD and AD, and their combination is useful for distinguishing between the two diseases. pGFAP could also be used to track disease severity and predict greater cognitive decline during follow-up in patients with FTD.

*Correspondence:

Alberto Lleó

alleo@santpau.cat

Daniel Alcolea

dalcolea@santpau.cat

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2021, corrected publication 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

Keywords Glial fibrillary acidic protein, Neurofilament, Frontotemporal dementia, Plasma biomarkers

Introduction

Frontotemporal dementia (FTD) is a progressive neurodegenerative condition characterized by clinical, genetic and neuropathologic heterogeneity. The clinical manifestation of FTD may overlap with psychiatric or other neurodegenerative disorders, such as Alzheimer's disease (AD). Diagnosis is thus a clinical challenge.

In the past two decades, many efforts have been made to find imaging or fluid biomarkers for FTD [1–6]. In spite of the notable advances, we still do not have pathophysiological markers of FTD to be used in clinical practice. Recently, some studies have shown that the concentrations of neurofilament light chain (NfL), a marker of axonal damage, are increased in the cerebrospinal fluid (CSF) and blood of FTD patients [6]. Moreover, their levels can reflect disease severity and predict clinical progression [1–6]. However, NfL is not specific for FTD and can be increased in other neurodegenerative diseases, such as AD and Lewy body dementia [6]. There is a considerable overlap of NfL level between different conditions [1–6].

Neuroinflammation and neurodegeneration are highly interrelated processes in neurological diseases [7]. Increased levels of astrogliosis marker glial fibrillary acidic protein (GFAP) in CSF and plasma, have been described in different neurodegenerative diseases [8–19, 20, 23–27]. In AD, recent studies showed that the plasma GFAP (pGFAP) levels are associated with amyloid pathology [15–18]. Furthermore, some studies have suggested that GFAP could be a marker of disease severity [8–22] and be a prognostic marker for progression to AD dementia in cognitively normal older adults [15–22]. Likewise, other studies have reported increased CSF GFAP and pGFAP concentrations in FTD, even though the results are not consistent across studies [10, 12, 13, 23–27]. Although previous studies did not detect changes of blood GFAP level in FTD [10, 12, 13], some studies have observed elevated pGFAP in all different FTD subgroups [24, 25, 26]. Higher pGFAP concentrations have been associated with greater functional impairment and disease severity in two studies [13, 25], but the role of pGFAP in predicting disease progression of FTD and its potential use for diagnosis, either alone or in combination with other biomarkers, remain unclear.

In this study, our primary research aim was to determine the potential use of pGFAP, pNfL or their combination to distinguish patients with FTD from AD and from cognitively normal participants (CN), and to study their association with disease progression in FTD. The

secondary aim was to study the correlation of pGFAP with cognition, other biomarkers, and structural measures in neuroimaging.

Methods

Study participants and classification

We collected clinical and biomarker information of 211 participants with available plasma samples from the Sant Pau Initiative on Neurodegeneration (SPIN) cohort, a multimodal biomarker platform for the study of neurodegenerative diseases [28]. The participants were classified into the following clinical groups according to the internationally accepted diagnostic criteria: 72 patients with probable FTD-related clinical syndromes: 33 patients with behavioral variant of frontotemporal dementia (bvFTD) [29], 7 semantic variant of primary progressive aphasia (svPPA) [30], 14 nonfluent variant of primary progressive aphasia (nfvPPA) [30] and 18 progressive supranuclear palsy-corticobasal syndrome spectrum (PSP-CBD) [31, 32]. CSF AD biomarkers and/or amyloid PET were taken into account during the diagnostic classification of FTD patients, and those with positive AD biomarkers were excluded from this group. We also included 56 AD patients with evidence of AD pathophysiology [33] either through CSF biomarkers ($n=51$) or amyloid-PET ($n=5$), and 83 CN that had normal CSF values of $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ and pTau181, and neuropsychological evaluation within normal range [28].

Plasma availability was the prerequisite to include the participants in this study. CSF samples were available from 199 participants (94%). A subset of 122 participants (58%) underwent 3 Tesla structural brain MRI. *APOE* genotype was available in 203 participants (96%), and 202 participants (96%) were longitudinally followed up and underwent a comprehensive evaluation. All participants had a Mini-Mental State Examination (MMSE) score and a Global Deterioration Scale of Reisberg score at the time of diagnosis, and repeated measures of MMSE were obtained during the follow-up. In a subset of 45 FTD patients, Frontotemporal Dementia Rating Scale (FTD-FRS) was available at the time of diagnosis.

Blood and CSF sample analysis

Blood samples were collected in 10-ml EDTA tubes and immediately transferred to our laboratory where they were centrifuged and aliquoted within 2 h after collection. CSF samples were collected on the same day of blood extraction and processed in polypropylene tubes following international recommendations [33]. All

samples were processed and aliquoted within the first two hours after lumbar puncture. The plasma and CSF aliquots were stored at -80°C until analysis. pGFAP and pNfL concentrations were measured using the SR-X single molecule array. CSF AD core biomarkers (A β 42, A β 40, tTau and pTau181) were measured in the fully-automated platform Lumipulse (Fujirebio-Europe), and levels of CSF NfL (Uman Diagnostics) and CSF YKL-40 (MicroVue™, Quidel) were measured by ELISA according to previously reported methods [7, 33]. All samples and calibration curves were measured in duplicate. Intra- and inter-assay coefficients of variations were 5.3% and 9.6%, respectively. The pre-analytical processing protocol for blood and CSF in the SPIN cohort has been described in detail [28, 29].

Statistical analysis

Chi-square test was used to compare sex and *APOE* ϵ 4 genotype frequency between the groups. Continuous variables are expressed as means and standard deviation. Distributions of demographic and biomarker data were assessed using Shapiro–Wilk’s test and homogeneity of variances was checked by Levene’s test. Biomarker raw values not following a normal distribution were log-transformed to achieve a normal distribution. Age- and sex-adjusted analysis of covariance (ANCOVA) followed by *post-hoc* Tukey’s test was used to compare the pGFAP and pNfL levels between groups. The potential use of pGFAP, pNfL or their combination to distinguish patients with FTD from AD and CN was assessed through areas under the curve (AUC) by receiver operating characteristic (ROC) analyses. ROC curves were compared using DeLong’s test. To study the association of pGFAP with disease progression, we divided participants in 3 tertile groups according to their pGFAP levels. A linear-mixed model was used to assess the association of pGFAP with cognitive decline during the follow-up. We included age, sex, MMSE score at the time of diagnosis, pGFAP tertile and its interaction with time as fixed factors, and modeled random intercepts and slopes at the participant level to account for repeated measures. Multivariate Cox regression analysis adjusting for sex and baseline age and Kaplan Meier curves were performed to analyze the predictive value of pGFAP for significant cognitive impairment (MMSE score < 20). To investigate the relationship of pGFAP level with demographics, cognitive scores, CSF biomarkers and pNfL level, Spearman’s correlations were assessed. Cortical thickness was computed with Free-surfer software (version 5.1) [35] (<https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki>), and its correlation with pGFAP was assessed using the general linear model, including age and sex as fixed factors.

Statistical significance for all tests was set at 5% ($P=0.05$) and corrected for multiple comparisons. All statistical analyses were performed using packages “psych” (v. 2.0.8), “ggplot2” (v. 3.3.3), “pROC” (v. 1.16.2), “lmerTest” (v. 3.1-3), “nlme” (v. 3.1-148), “multcomp” (v. 1.4-13), “survival” (v. 3.2-11) and “survminer” (v. 0.4.9) as implemented in R statistical software version R 4.0.2 (<http://www.R-project.org>).

Results

Demographics and clinical data

Table 1 shows the demographics and clinical data, CSF and plasma biomarker levels in the FTD, AD and CN groups. Controls were significantly younger than symptomatic patients, but there was no difference in age between the symptomatic groups. Controls had more years of education than the symptomatic groups, and there were no differences in sex between the groups. *APOE* ϵ 4 genotype was more frequent in the AD group. Both baseline and last MMSE scores were lower in the disease groups compared with the control group. Within the FTD subgroups, the baseline and last MMSE scores were lower in svPPA compared to other subgroups. The mean follow-up period was 3.4 (± 2.3) years in FTD, 3.9 (± 2) in AD and 4 (± 1.7) in CN. The follow-up period did not differ between the groups.

Age correlated with the pGFAP level ($Rho=0.35$, $P<0.001$) in the control group, but not with the pNfL level. No difference in pGFAP level was found between male and female participants. pNfL levels were higher in males in the whole sample ($P=0.05$) and in the AD group ($P=0.04$), but not in the CN or the FTD group.

Plasma GFAP and NfL concentrations differ between FTD and AD

After adjusting for age and sex, pGFAP and pNfL levels differed between FTD and AD patients (Fig. 1). The level of pGFAP was higher in patients with FTD (234.9 ± 141.9 pg/ml) than in CN (134.3 ± 45.4 pg/ml, $P=0.0008$) but lower than in AD (319.8 ± 135.1 pg/ml, $P<0.001$). Within the FTD subgroups, the pGFAP level was significantly higher in svPPA and PSP-CBD compared with controls ($P=0.03$), and significantly lower in bvFTD than in AD ($P<0.001$) (Fig. 1a, b).

As expected, the pNfL levels were higher in both FTD (37.6 ± 42.3 pg/ml, $P<0.001$) and AD (26.5 ± 13.3 pg/ml, $P=0.004$) groups compared to CN (18 ± 20.2 pg/ml). The pNfL levels were increased in all FTD subgroups ($P<0.05$) compared to CN, except in svPPA, which showed a similar trend as other FTD subgroups but did not reach statistical significance (Fig. 1c, d).

Table 1 Demographics and clinical characteristics, CSF and plasma biomarker concentrations in CN, FTD and AD groups

	CN	FTD				AD	
		bvFTD	fnvPPA	svPPA	PSP-CBD	All FTD	
<i>n</i>	83	33	14	7	18	72	56
Age, years	58 (8.5) ^{b,c}	68.3 (10.6) ^a	72.8 (5.6) ^a	73.1 (11.1) ^a	72.9 (5.4) ^a	70.8 (8.9) ^a	70.8 (7.2) ^a
Sex							
Female	49	10	9	4	11	34	31
Male	34	23	5	3	7	38	25
<i>APOE</i> ε4 status							
ε4+	23 ^c	3 ^c	3 ^c	2 ^c	2 ^c	10 ^c	27 ^{a,b,d-g}
ε4-	57 ^c	29 ^c	11 ^c	5 ^c	14 ^c	59 ^c	27 ^{a,b,d-g}
Follow up time, years	3.9 (1.7)	4.1 (2.5)	3.1 (2.3)	4.8 (1.7)	1.9 (1)	3.4 (2.3)	4 (2)
Education, years	15.4 (4.1) ^{b-g}	12.9 (5.6) ^a	13.3 (4.9) ^a	14.8 (5.2) ^a	11.3 (3.7) ^a	12.7 (5) ^a	10.4 (4.7) ^a
Baseline MMSE score	29.2 (1) ^{b-g}	25.1 (4.2) ^{a,f}	24.1 (6.8) ^{a,f}	16.5 (12.2) ^{a,c-e,g}	22.6 (6.3) ^{a,f}	23.5 (6.5) ^a	23.7 (3.8) ^a
Last MMSE score	29.3 (1) ^{b-g}	16.6 (10) ^{a,f}	14 (12.2) ^{a,f}	0.4 (0.9) ^{a,c-e,g}	11.6 (12.4) ^a	13.3 (11.4) ^a	15.5 (9.5) ^a
pGFAP, pg/ml	134.3 (45.4) ^{b-d,f-g}	193.1 (100.1) ^a	224.6 (77.2)	159.3 (279.1) ^a	271.2 (148.2) ^a	234.9 (141.9) ^{a,b}	319.8 (135.1) ^{a,c}
pNfL, pg/ml	18 (20.2) ^{b-e,g}	41.9 (60.1) ^a	34.9 (17.2) ^a	31.3 (14.5)	34.3 (18.1) ^a	37.6 (42.3) ^a	26.5 (13.3) ^a
CSF NfL, pg/ml	494.8 (274.3) ^{b,c,f,g}	1436.3 (930.6) ^a	1944.5 (1146.7)	2394.6 (637.8) ^a	1739.3 (1607.3) ^a	1654.1 (1187.6) ^{a,c}	1286.4 (1136.9) ^{a,b,f}
CSF YKL-40, ng/ml	190.3 (49.4) ^{b,c}	265.8 (64.7) ^a	274.84 (61) ^a	311.8 (37.1) ^a	262.3 (79.3)	268.2 (63.7) ^a	287.3 (68.1) ^a
CSF Aβ42/Aβ40	0.099 (0.016) ^c	0.098 (0.015) ^c	0.092 (0.012) ^c	0.103 (0.0002) ^c	0.095 (0.012) ^c	0.097 (0.013) ^c	0.046 (0.0099) ^{a,b,d-g}
CSF tTau, pg/ml	264 (103.9) ^c	388.9 (182.3) ^c	275.4 (144.5) ^c	367.5 (0.7)	276.1 (122.7) ^c	332.7 (162) ^c	774.2 (390.8) ^{a,b,d,f,g}
CSF pTau, pg/ml	39.8 (17.8) ^c	45.7 (16.1) ^c	42.8 (21.9) ^c	47.2 (10)	33.9 (15) ^c	42.1 (16.4) ^c	121.2 (71) ^{a,b,d,f,g}

MMSE, Mini-Mental State Examination; pGFAP, plasma glial fibrillary acidic protein; pNfL, plasma neurofilament light chain; CN, cognitively normal participants; FTD, Frontotemporal dementia; AD, Alzheimer disease; bvFTD, behavioral variant of frontotemporal dementia; fnvPPA, nonfluent variant of primary progressive aphasia; svPPA, semantic variant of primary progressive aphasia; PSP-CBD, progressive supranuclear palsy-corticobasal syndrome spectrum

^a Different from Control ($P < 0.05$)

^b Different from FTD ($P < 0.05$)

^c Different from AD ($P < 0.05$)

^d Different from bvFTD ($P < 0.05$)

^e Different from fnvPPA ($P < 0.05$)

^f Different from svPPA ($P < 0.05$)

^g Different from PSP-CBD ($P < 0.05$). Data are shown as mean (standard deviation)

Diagnostic accuracy of plasma biomarkers and their combination to differentiate between FTD, AD and CN

We next explored the diagnostic performance of pGFAP, pNfL and their combination using logistic regression to discriminate across the different groups. The basic model included age, sex and *APOE*ε4 allele status. The diagnostic performance of this basic model was then compared with a panel including the variables in the basic model together with pGFAP and pNfL. ROC curve analysis (Fig. 2) showed that the combination of pGFAP and pNfL had higher accuracy than the two plasma markers separately in differentiating FTD from AD (combination: AUC 0.78 [95%CI 0.70–0.86]; pGFAP: AUC 0.7 [95%CI 0.61–0.71]; pNfL: AUC 0.61 [95%CI 0.51–0.71], $P = 0.04$ and $P = 0.002$, respectively) and for the discrimination between FTD and CN (combination: AUC 0.82 [95%CI 0.75–0.89]; pGFAP: AUC 0.76 [95%CI 0.68–0.84]; pNfL: AUC 0.81 [95%CI 0.74–0.88], $P = 0.02$ and $P = 0.51$, respectively). None

of the two plasma markers, individually or in combination, showed higher accuracy than the basic model. However, the addition of pGFAP and pNfL to the basic model (panel model) led to better diagnostic performance than the basic model both in differentiating FTD from AD (AUC 0.83 [95%CI 0.75–0.9] vs AUC 0.69 [95%CI 0.6–0.79], $P = 0.003$) and AD from CN (AUC 0.96 [95%CI 0.93–1] vs AUC 0.89 [95%CI 0.83–0.95], $P = 0.0007$). For differentiation of FTD from CN, the panel showed highest AUC compared to other methods (all $P < 0.05$), but not compared to the basic model (AUC 0.88 [95%CI 0.83–0.94] vs AUC 0.87 [95%CI 0.81–0.93], $P = 0.08$).

Taking into account that pGFAP increases with age, we repeated the same analyses in an age-matched subgroup. In this new comparison, similar results were observed except in the comparison between FTD and CN, in which both pNfL and the combination showed higher diagnostic performance compared to this basic model

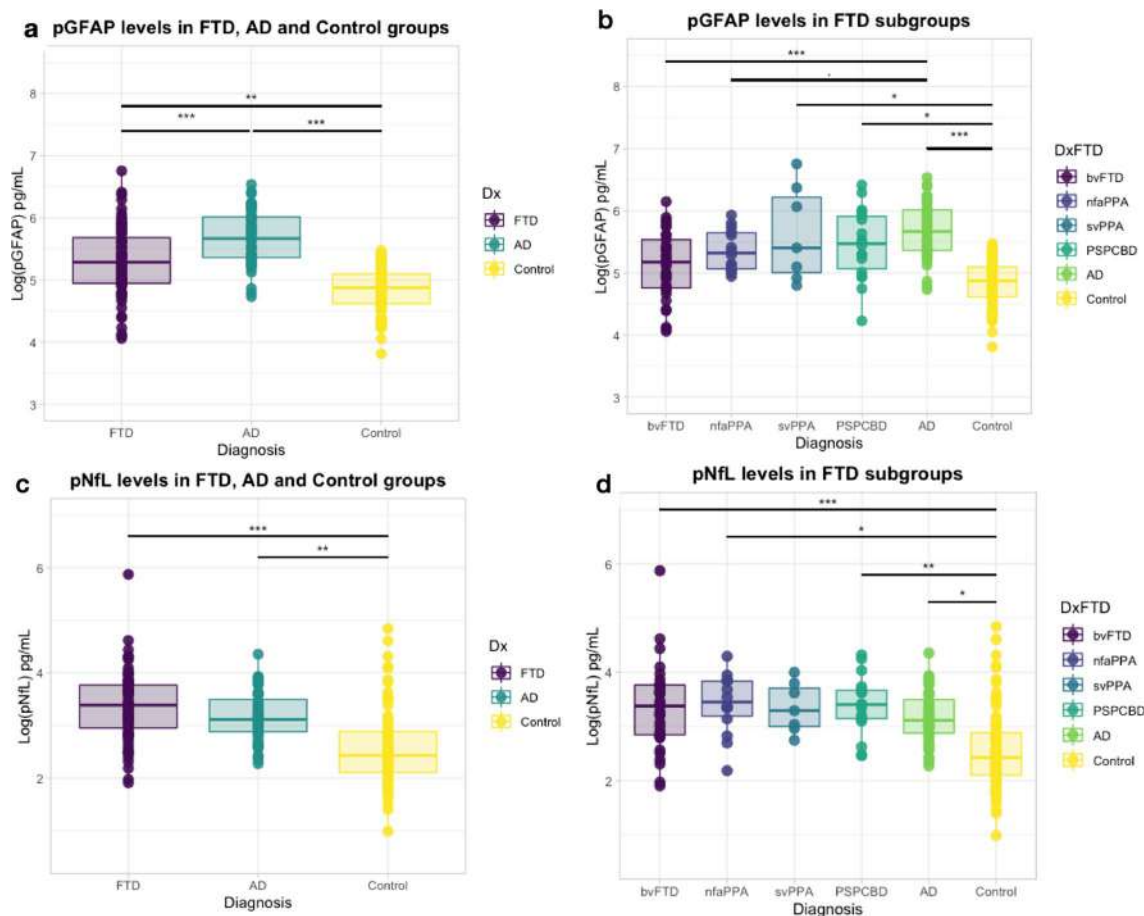


Fig. 1 Comparison of pGFAP and pNfL in different groups. **a** pGFAP in the FTD, AD and cognitively normal groups; **b** pGFAP concentration in all FTD subgroups, AD and cognitively normal groups; **c** pNfL concentration in the FTD, AD and cognitively normal groups; **d** pNfL concentration in all FTD subgroups, AD and cognitively normal groups. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. pGFAP, plasma glial fibrillary acidic protein; pNfL, plasma neurofilament light chain; CN, cognitively normal participants; FTD, frontotemporal dementia; AD, Alzheimer's disease

(Combination: AUC 0.8 [95%CI 0.7–0.9]; pNfL: AUC 0.8 [95%CI 0.7–0.9]; Basic model: AUC 0.59 [95%CI 0.47–0.72], $P = 0.05$ and $P = 0.005$) (Additional file 1).

pGFAP correlated with other fluid biomarkers, cognitive and functional scores and neuroimaging

In the whole sample, pGFAP level correlated with pNfL ($Rho = 0.53$, $P < 0.001$), CSF NfL ($Rho = 0.52$, $P < 0.001$) and CSF YKL-40 levels ($Rho = 0.49$, $P < 0.001$) after adjusting for age and sex. To avoid group effects on the correlation assessment, we studied correlations of these biomarkers within groups. The pGFAP level correlated with plasma and CSF NfL in FTD ($Rho = 0.49$, $P < 0.001$; $Rho = 0.32$, $P < 0.02$) and in CN ($Rho = 0.4$, $P < 0.001$; $Rho = 0.3$, $P = 0.016$), but not with CSF YKL-40. By contrast, in the AD group, pGFAP level correlated with pNfL level only ($Rho = 0.35$, $P = 0.007$) (Fig. 3a–c).

The pGFAP level was significantly correlated with AD-specific CSF biomarkers, such as the A β 42/A β 40 ratio, amyloid-PET centiloid, total tau and phosphorylated tau in the whole sample, but these correlations were not significant within diagnostic subgroups (Additional file 2).

After adjusting for age and sex, pGFAP was also significantly associated with the baseline MMSE scores in the whole sample ($Rho = -0.58$, $P < 0.001$) and in the FTD group ($Rho = -0.33$, $P = 0.005$), but not in the AD or the CN group (Fig. 3d). In the FTD group, after adjusting for age, higher pGFAP concentrations were associated with lower FTD-FRS scores ($r = -0.28$, $P = 0.046$, Fig. 3e).

We assessed the correlation between pGFAP and cortical thickness in a subset of 122 participants (29 FTD, 25 AD and 68 CN) with structural MRI suitable for quantitative analyses. After adjusting for age, sex and neuroimaging acquisition center, vertex-wise regression analysis showed a significant association between pGFAP and

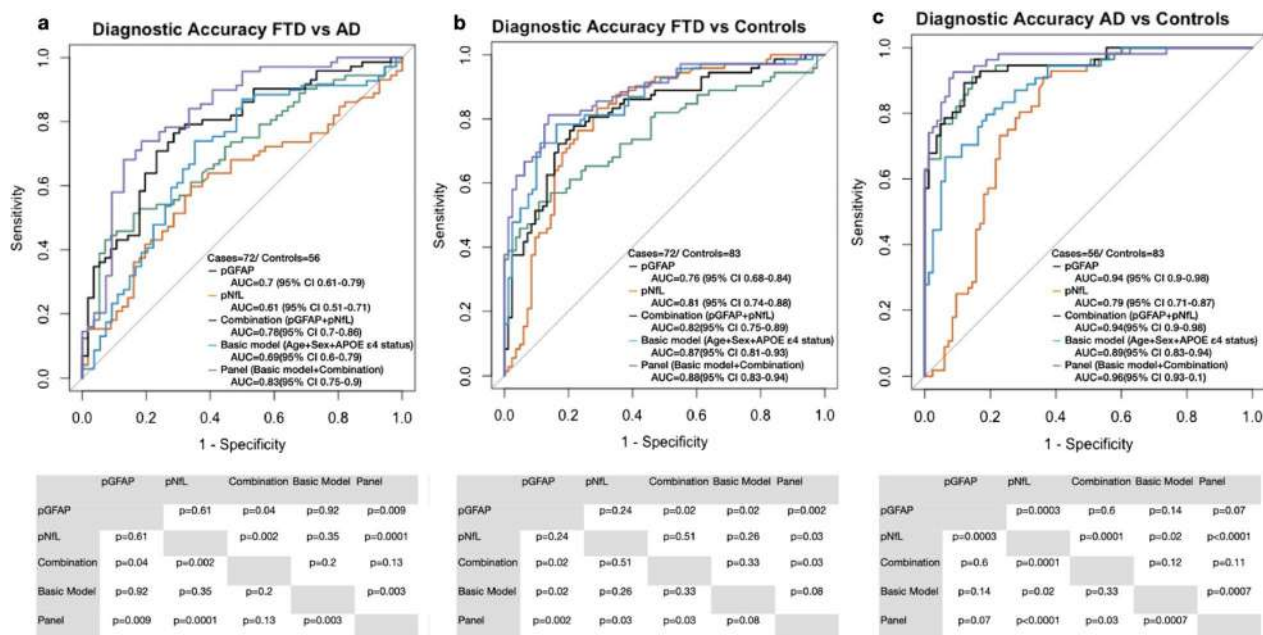


Fig. 2 Receiver operating characteristic curves (ROC) of pGFAP, plasma neurofilament light chain, their combination, a basic model with risk factors (age, sex and APOE), and a combination of plasma biomarkers with additional risk factors to discriminate FTD from AD (a), FTD from normal cognitively normal (b), and AD from cognitively normal (c). AUC, area under the curve; pGFAP, plasma glial fibrillary acidic protein; pNfL, plasma neurofilament light chain; CN, cognitively normal participants; FTD, frontotemporal dementia; AD, Alzheimer's disease

cortical thickness in the orbitofrontal and occipital pole regions (Fig. 3f, $P < 0.05$) in the FTD group. In the AD and the CN groups, no correlation between pGFAP concentration and cortical thickness was found (not shown).

Baseline pGFAP level predicts cognitive decline

To investigate the prognostic performance of pGFAP levels, we divided pGFAP levels in tertiles within each symptomatic group: low (< 154 pg/ml in FTD and < 228 pg/ml in AD), medium (154–240 pg/ml in FTD and 228–366 pg/ml in AD) and high (> 240 pg/ml in FTD and > 366 pg/ml in AD).

Linear-mixed model analysis was used to assess the relationship between the baseline pGFAP level and cognitive decline measured by changes in MMSE score during follow-up. After adjusting for age, sex and baseline MMSE score, patients in the highest pGFAP tertile showed a greater change in MMSE score compared to those in the lowest tertile in both FTD (mean loss of 1.40 points annually, $P = 0.003$) and AD (mean loss of 1.20 points annually, $P < 0.001$) (Fig. 4a, b).

Kaplan Meier curves (Fig. 5) and Cox regression analyses including baseline age and sex as covariates were used to assess progression to moderate cognitive impairment (MMSE score < 20). Compared to the lowest tertile, the highest tertile of pGFAP was associated with increased risk of poor cognitive outcome both in FTD and in AD

(1.40 points annually, HR = 3.82 in FTD; 1.20 points annually, HR = 2.26 in AD, both $P < 0.001$).

Discussion

In this study, we found that pGFAP was increased in FTD, and that its level differs from that in AD patients. pGFAP also correlated with neuronal damage biomarkers, cognitive and functional scores and structural imaging measures in FTD. Importantly, a higher pGFAP level was associated with a greater change in MMSE score during follow-up and predicted progression to moderate cognitive impairment in FTD. Our findings suggest that pGFAP could be a useful marker of disease severity and for prognostic assessment in FTD, in addition to its role in AD.

Emerging evidence suggests that astrocytes play an essential role in neuroinflammation and are involved in the pathophysiology of several neurological diseases [34, 36, 38]. Biomarkers that track astrocyte biology, such as GFAP, have been investigated over the past few years in neurodegenerative diseases. In AD, previous studies have shown that reactive astrocytes are closely associated with senile plaques and neurofibrillary tangles [37–39]. Elevated concentrations of GFAP in CSF and blood have been observed in AD, and it has been reported that its levels correlate with disease severity [8–16, 19]. Recent studies have shown that the elevated CSF and plasma

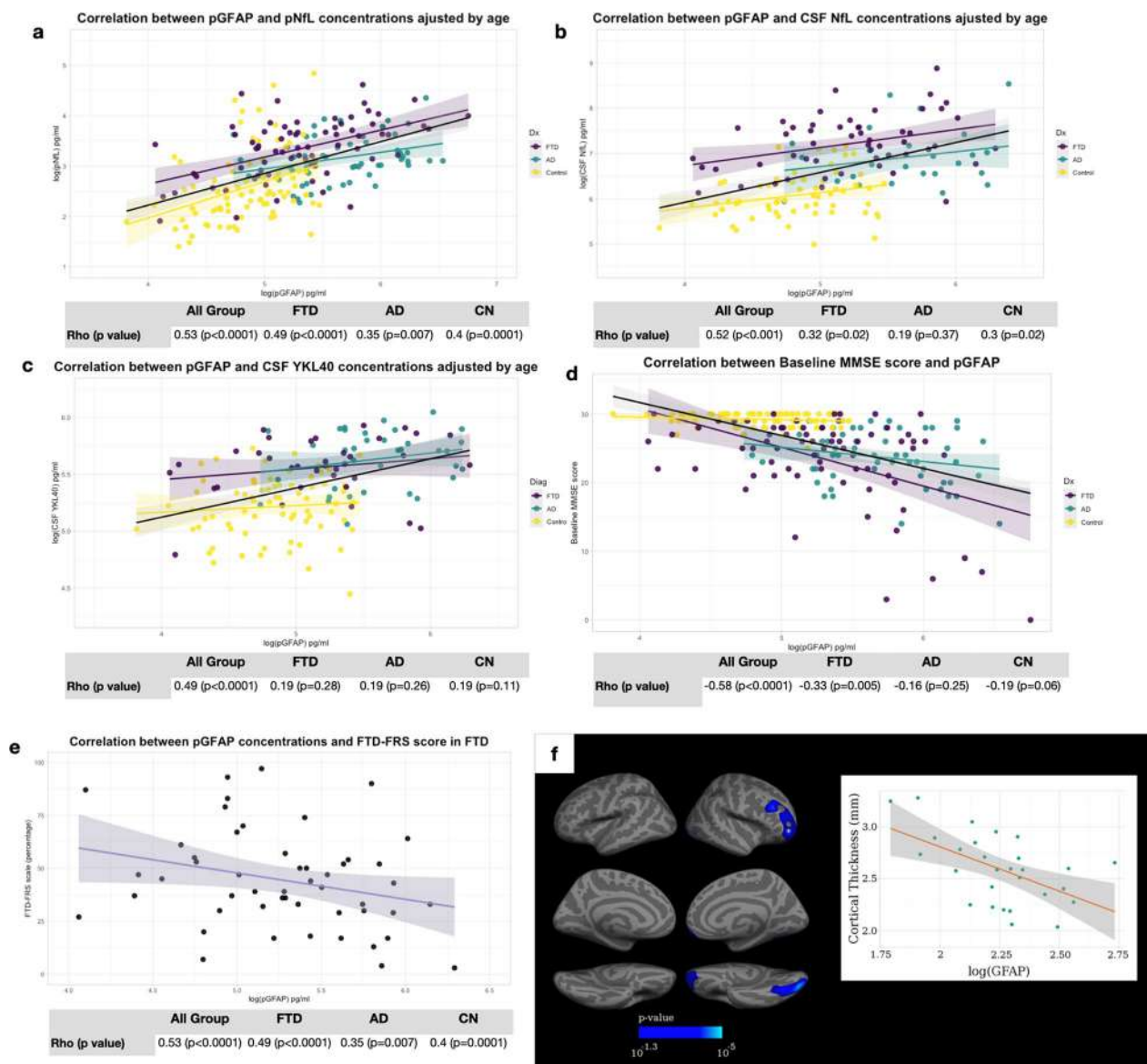


Fig. 3 Correlation of pGFAP with plasma and CSF neurofilament light chain (a, b), CSF YLK-40 (c), and baseline MMSE score (d) in FTD, AD and cognitively normal participants. Correlation of pGFAP with baseline FTD-FRS score (e) and cortical thickness in FTD (f, n = 29). Blue regions in f represent a direct correlation. For illustrative purposes, a scatterplot shows the individual log(pGFAP) and the value of cortical thickness in the corresponding cortical region (marked with an asterisk) (f). P-value $10^{-1.3} = 0.05$. All correlation analyses were adjusted by age and sex. pGFAP, plasma glial fibrillary acidic protein; pNFL, plasma neurofilament light chain; CN, cognitively normal participants; FTD, frontotemporal dementia; AD, Alzheimer's disease

GFAP are associated with amyloid pathology, also in cognitively unimpaired subjects [15–20]. In addition, astrogliosis is also recognized in FTD. Astrogliosis is mainly confined to concrete regions such as the frontal cortex and the hippocampus [40, 41]. Interestingly, increased CSF and plasma GFAP levels have been reported in both sporadic and genetic FTD cohorts [10–12, 14, 23]. These findings suggest that pGFAP may be a valuable tool in FTD diagnosis. According to this hypothesis, various

studies have observed elevated pGFAP concentration in different FTD subgroups and both in presenile and late-onset bvFTD cases [24, 25, 27]. In addition, one study in genetic FTDs found increased pGFAP concentration in progranulin-associated symptomatic FTD patients [23]. Here we report an increased pGFAP level in FTD patients, which was, however, lower than that of AD. Our results are in line with previous reports of higher concentrations of pGFAP in AD compared to non-AD

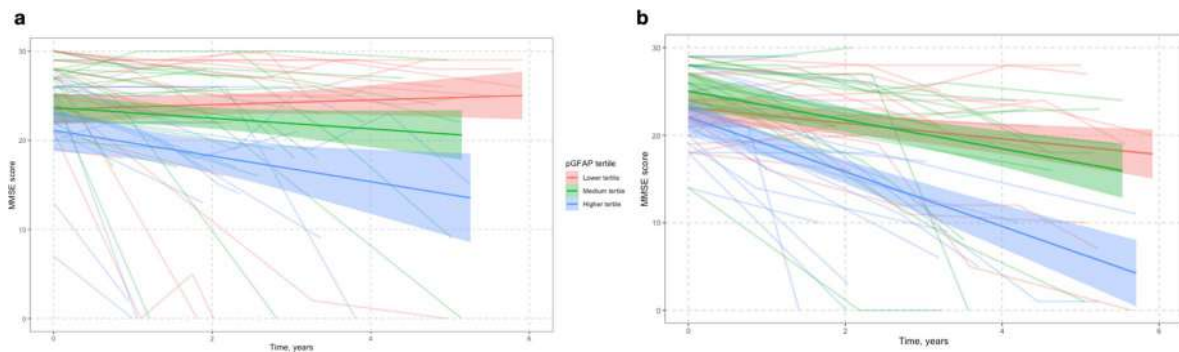


Fig. 4 Relationship between the baseline tertile of pGFAP and longitudinal changes of cognitive score (MMSE score) in FTD (a) and AD (b). Cognitive changes were estimated through linear mixed effects regression models adjusted for age and baseline MMSE score. Red lines show the lowest tertile (below 154 pg/ml in FTD and below 228 pg/ml in AD), green lines show the medium tertile (154–240 pg/ml in FTD and 226–366 pg/ml in AD), and blue lines show the highest tertile of pGFAP level (above 240 pg/ml in FTD and above 366 pg/ml in AD). Shaded areas indicate the 95% confidence interval for predicted cognitive scores. pGFAP, plasma glial fibrillary acidic protein; pNFL, plasma neurofilament light; CN, cognitively normal participants; FTD, frontotemporal dementia; AD, Alzheimer's disease

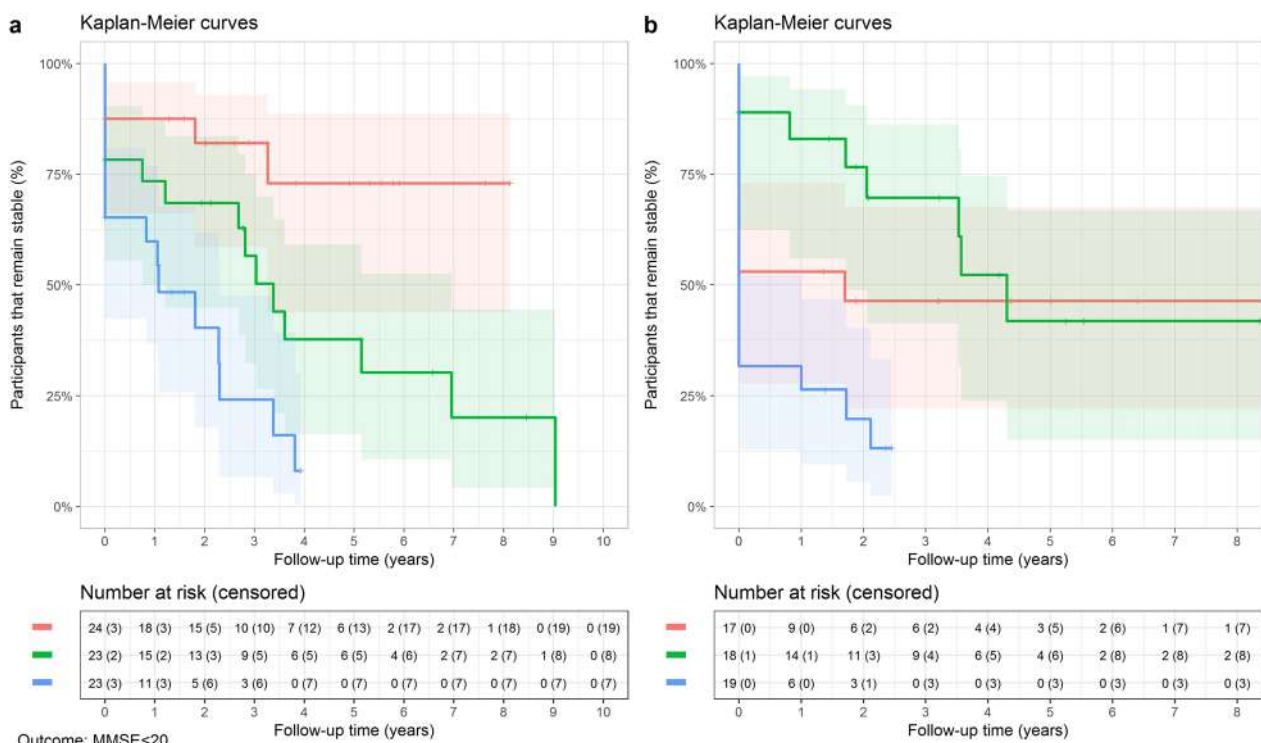


Fig. 5 Kaplan-Meier curves of clinical progression to significant cognitive impairment (MMSE score < 20) in FTD (a) and AD (b) individuals with low, medium or high baseline pGFAP level. Red lines show the lowest tertile (below 154 pg/ml in FTD and below 228 pg/ml in AD), green lines show medium tertile (154–240 pg/ml in FTD and 226–366 pg/ml in AD), and blue lines show the highest tertile of biomarker concentrations (above 240 pg/ml in FTD and above 366 pg/ml in AD). In FTD, the median time of progression to significant cognitive impairment was 3.4 (0.8–7.0) years in the medium-tertile pGFAP group and 1.1 (0–2.3) years in the high-tertile pGFAP group (Log-rank test, $P < 0.0001$). pGFAP, plasma glial fibrillary acidic protein; FTD, frontotemporal dementia; AD, Alzheimer's disease

dementias [13, 18]. However, other studies found no differences between groups [20, 24]. These discrepancies could be explained by the heterogeneity of the patient

composition: some studies included different types of dementias in the non-AD dementia group and little was known about the function of pGFAP in such contexts,

such as vascular dementia or dementia with Lewy bodies. Our results support previous clinical-pathological findings that in FTD, astrocytic activation is at a lower extent and is more confined to specific brain regions than that in AD [40, 41]. On the other hand, the increase in pNfL, a marker of axonal damage, suggests a similar degree of neurodegeneration in FTD compared to AD. One possible explanation for the differences in pGFAP levels but not in pNfL between FTD and AD is that FTD and AD are characterized by different neuroinflammatory patterns, with different degrees of astroglial activation in different subpopulations but leading to a similar degree of neuronal degeneration. Similar to a previous study [24], we found that the pGFAP level tended to be different across the subtypes of the FTD spectrum, being significantly higher in svFTD and PSP-CBD compared to CN. This finding could indicate differences in the degree of astrocytic degeneration in different clinical phenotypes [23].

The current study showed that pGFAP had an acceptable performance to discriminate FTD from AD (AUC=0.7) and CN (AUC=0.76). These accuracies were somewhat lower than the values reported in two recent studies using pGFAP to identify bvFTD from AD (AUC=0.85) and frontotemporal lobar degeneration (FTLD) from primary psychiatric disorders (AUC=0.82) [13, 27]. These discrepancies could be attributed to differences in cohort characteristics and heterogeneity due to different composition of FTD subtypes. An interesting finding was that, contrary to pNfL, which tend to be higher in FTD compared to AD, the pGFAP level was significantly lower in FTD, suggesting the potential diagnostic utility of their combination. Indeed, the combination of pGFAP with pNfL improved the diagnostic performance in distinguishing FTD from AD and CN. Moreover, the incorporation of age, sex and *APOEε4* allele status improved the diagnostic performance to an AUC of 0.83 in differentiating FTD from AD and an AUC of 0.89 in differentiating FTD from CN. In addition, pGFAP was particularly promising in identifying AD, consistent with previous observations [13, 15, 17–20]. Taken together, this study suggests that the combination of plasma astrocytic and neuronal markers could be relevant in FTD.

We observed that the pGFAP level increased with age in controls, similar to what has been observed in previous studies [13, 17, 23, 25], and we took age into account when interpreting this marker. Consistent with various recent reports [15, 17, 21, 23], pGFAP significantly correlated with CSF and plasma NfL, suggesting that glial activation and neuroaxonal degeneration are correlated. Previous studies have reported a weak correlation between CSF GFAP and YKL-40 levels in

neurodegenerative diseases [11, 12]. Similarly, we did not find significant correlation between pGFAP and CSF YKL-40 levels. This finding supports the hypothesis that different astrocyte subpopulations or different spatial distributions are involved in the pathophysiology of FTD and AD [12, 13, 37, 38–41].

The association between elevated pGFAP level, disease severity and prognostic markers in AD has been reported before [15, 17–22]. Previous studies reported that the serum GFAP has potentials to predict future conversion to dementia in cognitively normal individuals, not only to AD, but also to other dementias including FTD [16, 17, 22]. However, pGFAP as a marker of disease severity and prognosis in FTD has seldom been investigated [13, 25, 26]. In the current study, after adjusting for age and sex, pGFAP remained significantly correlated with cognitive and imaging measures in FTD. Higher levels of pGFAP have been shown to be associated with lower brain volumes in *GRN* and *C9orf72* presymptomatic carriers [23], and their association with smaller hippocampal volume in svPPA [26] and temporal atrophy in FTLD has been reported [27]. To our knowledge this is the first study to show that higher concentrations of pGFAP are also associated with orbitofrontal cortical thickness in the whole FTD group. In line with other reports in AD patients [16, 20, 22], we observed that pGFAP predicted faster cognitive decline both in FTD and AD. This is the first report of the association between pGFAP and cognitive decline in FTD; we found a higher rate of cognitive decline among those with pGFAP level >240 pg/ml. Surprisingly, the relationship between pGFAP and disease severity in AD was not confirmed in our cohort. One of the considerations when comparing our study with the previous ones is that other studies included both Aβ+ and Aβ– subjects [15, 22], whereas in our study the correlation analysis was performed in disease subgroups. Previous studies have found that pGFAP is increased in early stages of AD [15–22] and does not differ between disease stages [19, 20], which could explain the lack of association with imaging measures in the AD subgroup. Consistent with previous studies [2, 7, 17], our results show that the glial biomarker increases also in FTD, in addition to AD, and its level increases later in the disease course in FTD than in AD, when the disease is more advanced.

The strength of our study is the relatively large sample size, the inclusion of several FTD subgroups, regular follow-up of the participants and the use of multimodal approach, with inclusion of clinical measures, plasma and CSF assessments, and structural imaging. Additionally, all blood-based biomarkers were collected using the same standard operating procedures and measured following a harmonized protocol. This study also has some limitations, in that it did not include serial longitudinal

measures of pGFAP, lacked neuropathological confirmation, and excluded AD copathologies in FTD groups.

Conclusion

In conclusion, our study shows that the pGFAP concentration may be useful in FTD and could improve its diagnosis. Furthermore, our data support that pGFAP is not an exclusive marker in AD, but also plays an essential role in other amyloid-independent processes involved in FTD. pGFAP could be used as a marker for FTD severity and prognosis.

Abbreviations

AD	Alzheimer's disease
AUC	Area under the curve
bvFTD	Behavioral variant of frontotemporal dementia
CN	Cognitively normal participants
CSF	Cerebrospinal fluid
FTD	Frontotemporal dementia
FTLD	Frontotemporal lobar degeneration
FTD-FRS	Frontotemporal Dementia Rating Scale
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
HR	Hazard ratio
MMSE	Mini-Mental State Examination
NfL	Neurofilament light chain
nvPPA	Nonfluent variant of primary progressive aphasia
PET	Positron emission tomography
pGFAP	Plasma Glial fibrillary acidic protein
pNfL	Plasma neurofilament-light
PSP-CBD	Progressive supranuclear palsy-corticobasal syndrome spectrum
ROC	Receiver operating characteristic
SPIN	Sant Pau Initiative on Neurodegeneration
svPPA	Semantic variant of primary progressive aphasia

Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s40035-021-00275-w>.

Additional file 1. Diagnostic accuracy of plasma biomarkers and their combination to differentiate between FTD, AD and CN in age-matched group

Additional file 2. The correlation of pGFAP with CSF AD-specific biomarkers

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the Department of Medicine at the Universitat Autònoma de Barcelona. We are grateful to all participants in the study and their families. We also thank all the clinical team members who were involved in the selection and assessment of participants in the SPIN cohort, and the laboratory and neuroimaging teams for sample handling, biomarker analyses, and structural support.

Authors' contributions

NZ, DA and AL designed the study. NZ, MS, IIG, VM, TE, IB, MA, JA, LM, OB, IS, MBSS, AS, LV, JP, RB, JC, MCI, JF, AL and DA acquired data relevant for the study. NZ, DA and VM performed statistical analysis. NZ, DA and AL contributed in analysis and interpretation of data. DA and AL participated in study supervision or coordination. NZ, DA, AL drafted the first version of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

This study was supported by the Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS), Instituto de Salud Carlos III (PI14/01126, PI17/01019 and PI20/01473 to

JF, PI13/01532 and PI16/01825 to RB, PI18/00335 to MCI, PI18/00435 and INT19/00016 to DA, PI17/01896 and AC19/00103 to AL) and the CIBERNED program (Program 1, Alzheimer Disease to AL), jointly funded by Fondo Europeo de Desarrollo Regional, Union Europea, "Una manera de hacer Europa". This work was also supported by Generalitat de Catalunya (2017-SGR-547, SLT006/17/125 to DA, SLT006/17/119 to JF, SLT002/16/408 to AL) and "Marató TV3" foundation grants 20141210 to JF, 044412 to RB and 20142610 to AL. This work was also supported by a grant from the Fundació Bancària La Caixa to RB (DABNI project) and European Union's Horizon 2020, 'MES-CoBraD' (H2020-SC1-BHC-2018-2020/GA 965422 to JF). The sponsors of the study did not take part in the design and conduct of the study; collection, management, analysis and interpretation of the data; writing and review of the report; or the decision to submit the article for publication.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analyses during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

All procedures in the study were approved by the Hospital de Sant Pau ethics committee. All participants provided written informed consent.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interest

Nuole Zhu is employed by Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Declarations of interest: none. Miguel Santos is employed by Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. He is funded by a "Juan Rodés" research grant from the Institute of Health Carlos III. Ignacio Illán-Gala is supported by the Global Brain Health Institute (Atlantic Fellow for Equity in Brain Health and pilot award for global brain health leaders CBHI ALZ UK-21-720973) and the "Juan Rodés" grant from the Institute of Health Carlos III (JR20/00018). Victor Montal is employed by the Biomedical Research Institute Sant Pau. Declarations of interest: none. Teresa Estellés is employed by Biomedical Research Institute Sant Pau. Declarations of interest: Dr. Estellés is funded by a "Río Hortega" research grant from the Institute of Health Carlos III. Isabel Barroeta is employed by Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Declarations of interest: none. Miren Altuna is employed by Biomedical Research Institute Sant Pau. Declarations of interest: Dr. Estellés is funded by a "Río Hortega" research grant from the Institute of Health Carlos III. Javier Arranz is employed by Biomedical Research Institute Sant Pau. Declarations of interest: none. Laia Muñoz is employed by Biomedical Research Institute Sant Pau. Declarations of interest: none. Olivia Belbin is employed by Biomedical Research Institute Sant Pau. Dr. Belbin is funded by a "Miguel Servet" research grant from the Institute of Health Carlos III. Isabel Sala is employed by Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Declarations of interest: none. M. Belén Sánchez-Saudín is employed by the Biomedical Research Institute Sant Pau. Declarations of interest: none. Andrea Subirana is employed by the Biomedical Research Institute Sant Pau. Declarations of interest: none. Laura Videla is employed by Fundació Catalana Síndrome de Down. Declarations of interest: none. Jordi Peguerols is employed by the Biomedical Research Institute Sant Pau. Declarations of interest: none. Rafael Blesa is employed by Hospital de la Santa Creu i Sant Pau and received research grants from Institute of Health Carlos III, Fundació Bancària Obra Social La Caixa and Fundació La Marató de TV3. He participated in advisory boards from Lilly and Nutricia, and he received speakers honoraria and travel funding from Novartis and Nutricia. Jordi Clarimón is employed by Biomedical Research Institute Sant Pau and received research grants from Generalitat de Catalunya and from Institute of Health Carlos III. Maria Carmona-Iragui is employed by Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Declarations of interest: none. Juan Fortea is employed by Hospital de la Santa Creu i Sant Pau and received research grants from Institute of Health Carlos III, Fundació La Marató de TV3, and Pla Estratègic de Recerca i Innovació en Salut (PERIS). Alberto Lleó is employed by Hospital de la Santa Creu i Sant Pau and received research grants from CIBERNED, Institute of Health Carlos III and Fundació BBVA. He participated in advisory boards from Fujirebio-Europe, Nutricia, Biogen and received speaker honoraria from Lilly. Daniel Alcolea is employed by Hospital de la Santa Creu i Sant Pau and received research grants from Pla Estratègic de Recerca i Innovació en Salut

(PERIS SLT006/17/125), and from Institute of Health Carlos III (PI18/00435 and INT19/00016). He participated in advisory boards from Fujirebio-Europe and Roche Diagnostics and received speaker honoraria from Fujirebio-Europe, Roche Diagnostic, Nutricia, Esteve and from Krka Farmacéutica S.L.

Author details

¹Sant Pau Memory Unit, Department of Neurology, Institut d'Investigacions Biomèdiques Sant Pau – Hospital de Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, 08041 Barcelona, Spain. ²Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), 28031 Madrid, Spain. ³Autonomous University of Barcelona, 08913 Barcelona, Spain. ⁴Fundación Catalana Síndrome de Down, Centre Mèdic Down, 08029 Barcelona, Spain.

Received: 7 October 2021 Accepted: 1 December 2021

Published: 10 December 2021

References

- Rohrer JD, Woollacott IO, Dick KM, Brotherhood E, Gordon E, Fellows A, et al. Serum neurofilament light chain protein is a measure of disease intensity in frontotemporal dementia. *Neurology*. 2016;87(13):1329–36.
- Alcolea D, Vilaplana E, Suárez-Calvet M, Illán-Gala I, Blesa R, Clarimón J, et al. CSF sAPP β , YKL-40, and neurofilament light in frontotemporal lobar degeneration. *Neurology*. 2017;89(2):178–88.
- Meeter LHH, Vijverberg EG, Del Campo M, Rozemuller AJM, Donker Kaat L, de Jong FJ, et al. Clinical value of neurofilament and phospho-tau/tau ratio in the frontotemporal dementia spectrum. *Neurology*. 2018;90(14):e1231–9.
- Bridel C, van Wieringen WN, Zetterberg H, Tijms BM, Teunissen CE, and the NFL Group, et al. Diagnostic value of cerebrospinal fluid neurofilament light protein in neurology: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Neurol*. 2019;76(9):1035–48.
- van der Ende EL, Meeter LH, Poos JM, Panman JL, Jiskoot LC, Doppler EGP, et al. Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Serum neurofilament light chain in genetic frontotemporal dementia: a longitudinal, multicentre cohort study. *Lancet Neurol*. 2019;18(12):1103–11.
- Ashton NJ, Janelidze S, Al Khleifat A, Leuzy A, van der Ende EL, Karikari TK, et al. A multicentre validation study of the diagnostic value of plasma neurofilament light. *Nat Commun*. 2021;12(1):3400.
- Alcolea D, Martínez-Lage P, Sánchez-Juan P, Olazarán J, Antúnez C, Izaguirre A, et al. Amyloid precursor protein metabolism and inflammation markers in preclinical Alzheimer disease. *Neurology*. 2015;85(7):626–33.
- Fukuyama R, Izumoto T, Fushiki S. The cerebrospinal fluid level of glial fibrillary acidic protein is increased in cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease patients and correlates with severity of dementia. *Eur Neurol*. 2001;46(1):35–8.
- Jesse S, Steinacker P, Cepek L, von Arnim CA, Tumani H, Lehnert S, et al. Glial fibrillary acidic protein and protein S-100B: different concentration pattern of glial proteins in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease and Creutzfeldt-Jakob disease. *J Alzheimers Dis*. 2009;17(3):541–51.
- Ishiki A, Kamada M, Kawamura Y, Terao C, Shimoda F, Tomita N, et al. Glial fibrillary acidic protein in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies, and frontotemporal lobar degeneration. *J Neurochem*. 2016;136(2):258–61.
- Abu-Rumeileh S, Steinacker P, Polisch B, Mammanna A, Bartoletti-Stella A, Oeckl P, et al. CSF biomarkers of neuroinflammation in distinct forms and subtypes of neurodegenerative dementia. *Alzheimers Res Ther*. 2019;12(1):2.
- Oeckl P, Weydt P, Steinacker P, Anderl-Straub S, Nordin F, Volk AE, et al. Different neuroinflammatory profile in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia is linked to the clinical phase. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90(1):4–10.
- Oeckl P, Halbgebauer S, Anderl-Straub S, Steinacker P, Huss AM, Neugebauer H, et al. Glial fibrillary acidic protein in serum is increased in Alzheimer's disease and correlates with cognitive impairment. *J Alzheimers Dis*. 2019;67(2):481–8.
- Elahi FM, Casaletto KB, La Joie R, Walters SM, Harvey D, Wolf A, et al. Plasma biomarkers of astrocytic and neuronal dysfunction in early- and late-onset Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2020;16(4):681–95.
- Verberk IMW, Thijssen E, Koelewijn J, Mauroo K, Vanbrabant J, de Wilde A, et al. Combination of plasma amyloid beta_(1–42/1–40) and glial fibrillary acidic protein strongly associates with cerebral amyloid pathology. *Alzheimers Res Ther*. 2020;12(1):118.
- Milà-Alomà M, Salvadó G, Gisbert JD, Vilor-Tejedor N, Grau-Rivera O, Sala-Vila A, et al. Amyloid beta, tau, synaptic, neurodegeneration, and glial biomarkers in the preclinical stage of the Alzheimer's continuum. *Alzheimers Dement*. 2020;16(10):1358–71.
- Chatterjee P, Pedrini S, Stoops E, Goozee K, Villemagne VL, Asih PR, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein is elevated in cognitively normal older adults at risk of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry*. 2021;11(1):27.
- Benedet AL, Milà-Alomà M, Vrillon A, Ashton NJ, Pascoal TA, Lussier F, et al. Differences between plasma and cerebrospinal fluid glial fibrillary acidic protein levels across the Alzheimer disease continuum. *JAMA Neurol*. 2021:e213671.
- Cicognola C, Janelidze S, Hertze J, Zetterberg H, Blennow K, Mattsson-Carlsson N, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein detects Alzheimer pathology and predicts future conversion to Alzheimer dementia in patients with mild cognitive impairment. *Alzheimers Res Ther*. 2021;13(1):68.
- Pereira JB, Janelidze S, Smith R, Mattsson-Carlsson N, Palmqvist S, Teunissen CE, et al. Plasma GFAP is an early marker of amyloid- β but not tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain*. 2021:awab223.
- Verberk IM, Laarhuis MB, van den Bosch KA, Ebenau JL, van Leeuwenstijn M, Prins ND, et al. Serum markers glial fibrillary acidic protein and neurofilament light for prognosis and monitoring in cognitively normal older people: a prospective memory clinic-based cohort study. *Lancet Healthy Long*. 2021;179:1373–84.
- Rajan KB, Aggarwal NT, McAninch EA, Weuve J, Barnes LL, Wilson RS, et al. Remote blood biomarkers of longitudinal cognitive outcomes in a population study. *Ann Neurol*. 2020;88(6):1065–76.
- Heller C, Foiani MS, Moore K, Convery R, Bocchetta M, Neason M, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein is raised in progranulin-associated frontotemporal dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2020;91(3):263–70.
- Marelli C, Hourregue C, Gutierrez LA, Paquet C, Menjot de Champfleury N, De Verbizier D, et al. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers do not differ in the presenile and late-onset behavioral variants of frontotemporal dementia. *J Alzheimers Dis*. 2020;74(3):903–11.
- Benussi A, Ashton NJ, Karikari TK, Gazzina S, Premi E, Benussi L, et al. Serum glial fibrillary acidic protein (GFAP) is a marker of disease severity in frontotemporal lobar degeneration. *J Alzheimers Dis*. 2020;77(3):1129–41.
- Heller C, Chan E, Foiani MS, Todd E, Russell LL, Greaves CV, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein and neurofilament light chain are measures of disease severity in semantic variant primary progressive aphasia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2020:jnnp-2020-325085.
- Katisko K, Cajanus A, Huber N, Jääskeläinen O, Kokkola T, Kärkkäinen V, et al. GFAP as a biomarker in frontotemporal dementia and primary psychiatric disorders: diagnostic and prognostic performance. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2021;92(12):1305–12.
- Alcolea D, Clarimón J, Carmona-Iragui M, Illán-Gala I, Morenas-Rodríguez E, Barroeta I, et al. The Sant Pau Initiative on Neurodegeneration (SPIN) cohort: a data set for biomarker discovery and validation in neurodegenerative disorders. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2019;5:597–609.
- Rascovsky K, Hodges JR, Knopman D, Mendez MF, Kramer JH, Neuhaus J, et al. Sensitivity of revised diagnostic criteria for the behavioural variant of frontotemporal dementia. *Brain*. 2011;134(Pt 9):2456–77.
- Gorno-Tempini ML, Hillis AE, Weintraub S, Kertesz A, Mendez M, Cappa SF, et al. Classification of primary progressive aphasia and its variants. *Neurology*. 2011;76(11):1006–14.
- Armstrong MJ, Litvan I, Lang AE, Bak TH, Bhatia KP, Borroni B, et al. Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. *Neurology*. 2013;80(5):496–503.
- Höglinger GU, Respondek G, Stamelou M, Kurz C, Josephs KA, Lang AE, et al. Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: The movement disorder society criteria. *Mov Disord*. 2017;32(6):853–64.
- Alcolea D, Pegueroles J, Muñoz L, Camacho V, López-Mora D, Fernández-León A, et al. Agreement of amyloid PET and CSF biomarkers for Alzheimer's disease on Lumipulse. *Ann Clin Transl Neurol*. 2019;6(9):1815–24.
- Kwon HS, Koh SH. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes. *Transl Neurodegener*. 2020;9(1):42.

35. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(20):11050–5.
36. Liddelow SA, Barres BA. Reactive astrocytes: production, function, and therapeutic potential. *Immunity*. 2017;46(6):957–67.
37. Beach TG, Walker R, McGeer EG. Patterns of gliosis in Alzheimer's disease and aging cerebrum. *Glia*. 1989;2(6):420–36.
38. Delacourte A. General and dramatic glial reaction in Alzheimer brains. *Neurology*. 1990;40(1):33–7.
39. Ross GW, O'Callaghan JP, Sharp DS, Petrovitch H, Miller DB, Abbott RD, et al. Quantification of regional glial fibrillary acidic protein levels in Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand*. 2003;107(5):318–23.
40. Englund E, Brun A. Frontal lobe degeneration of non-Alzheimer type. IV. White matter changes. *Arch Gerontol Geriatr*. 1987;6(3):235–43.
41. Arnold SE, Han LY, Clark CM, Grossman M, Trojanowski JQ. Quantitative neurohistological features of frontotemporal degeneration. *Neurobiol Aging*. 2000;21(6):913–9.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



5.2. Artículo 2

Los cambios en los biomarcadores de origen astrocitario relacionados con el sueño están modulados por el alelo APOE ε4 en adultos cognitivamente sanos

Zhu N, Altuna M, Arranz J, Rodríguez-Baz Í, Sánchez-Saudinós MB, Videla L, Valldeneu S, Carrera-Vega M, Romero S, Fortea J, Lleó A, Giménez S, Alcolea D. Sleep-related changes in astrocytic biomarkers are modulated by APOE ε4 genotype in cognitively unimpaired adults. *Brain Commun.* 7;7(6):fcaf437.

<https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaf437>. IF 4,5 (2024). Q1 (2024)

BRAIN COMMUNICATIONS

Sleep-related changes in astrocytic biomarkers are modulated by *APOE* $\epsilon 4$ genotype in cognitively unimpaired adults

 Nuole Zhu,^{1,2,3}  Miren Altuna,^{4,5} Javier Arranz,^{1,3}  Íñigo Rodríguez-Baz,^{1,2} Maria Belén Sanchez-Saudinós,^{1,2} Laura Videla,^{1,2,6}  Sílvia Valldeneu,^{1,2} Mireia Carrera-Vega,¹ Sergio Romero,⁷  Juan Fortea,^{1,2,6} Alberto Lleó,^{1,2,3}  Sandra Giménez^{1,2,8} and  Daniel Alcolea^{1,2}

Astrocytes are key regulators of sleep and neuroinflammatory responses. However, the relationship between objective sleep parameters and astrocytic fluid biomarkers in cognitively unimpaired individuals remains unclear. We examined how sleep architecture relates to astrocytic, neuroaxonal and Alzheimer's disease-related fluid biomarkers in cognitively unimpaired adults and whether age, sex and *APOE* $\epsilon 4$ moderate these associations. This cross-sectional study included 51 cognitively unimpaired participants from the Sant Pau Initiative on Neurodegeneration cohort. One-night in-lab polysomnography was used to quantify sleep architecture, fragmentation, slow-wave activity and respiratory parameters. CSF biomarkers included glial fibrillary acidic protein (GFAP), chitinase-like-3 protein 1 (YKL-40), A β 42, A β 40, pTau181 and tTau; plasma biomarkers included GFAP and neurofilament light chain (NfL). Associations were analysed using Spearman correlations, multiple linear regression, and moderation models, adjusting for age, sex, body mass index, *APOE* $\epsilon 4$ status and sleep apnoea. Lighter and more fragmented sleep, characterized by longer N1 duration, increased wake after sleep onset, frequent stage transitions and elevated cortical arousal, was associated with higher CSF YKL-40, A β 40, pTau181 and tTau ($\rho = 0.32$ – 0.62 , all $P < 0.05$). In contrast, deeper, more consolidated sleep, indicated by longer total time of sleep, greater N3 duration and higher slow-wave activity, was associated with lower CSF GFAP and YKL-40 ($\rho = -0.35$ to -0.44 , all $P < 0.05$). These associations remained significant in adjusted regression models. Plasma GFAP and NfL exhibited an inverse profile, with positive associations with deeper sleep ($\beta: 0.16$ – 0.18 , $P < 0.05$) and negative associations with lighter sleep stages ($\beta: -0.23$ to -0.29 , $P < 0.01$). Rapid eye movement (REM) sleep was also associated with astrocytic fluid biomarkers, with negative correlations for CSF and plasma GFAP ($\rho = -0.49$ and $\rho = -0.28$, respectively, all $P < 0.05$), while in regression models, REM duration remained a negative predictor of plasma GFAP ($\beta = -0.23$, $P = 0.003$) and a positive predictor of CSF YKL-40 ($\beta = 0.12$, $P = 0.037$). Notably, *APOE* $\epsilon 4$ consistently moderated associations between sleep and CSF YKL-40 and GFAP, while age and sex influenced plasma GFAP and CSF YKL-40, respectively (all $P < 0.05$). In cognitively unimpaired adults, sleep architecture is differentially associated with central and peripheral biomarkers of astrocytic activation, neuroaxonal integrity and Alzheimer's disease-related proteins. These findings support the importance of considering sleep as a key factor in the early pathophysiology of neurodegenerative disease.

- 1 Sant Pau Memory Unit, Department of Neurology, IR SANT PAU, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona 08025, Spain
- 2 Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Madrid 28029, Spain
- 3 Faculty of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona 08193, Spain
- 4 CITA-Alzheimer Foundation, Donostia-San Sebastián 20009, Spain
- 5 Osakidetza, Organización Sanitaria Integrada (OSI), Debarrena 20850, Spain
- 6 Barcelona Down Medical Center, Fundació Catalana Síndrome de Down, Barcelona 08041, Spain
- 7 Automatic Control Department (ESAI) and Institute for Research and Innovation in Health (IRIS), Universitat Politècnica de Catalunya-BarcelonaTech (UPC), BarcelonaTech (UPC), Barcelona 08005, Spain

Received June 18, 2025. Revised September 10, 2025. Accepted November 05, 2025. Advance access publication November 7, 2025

© The Author(s) 2025. Published by Oxford University Press on behalf of the Guarantors of Brain.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

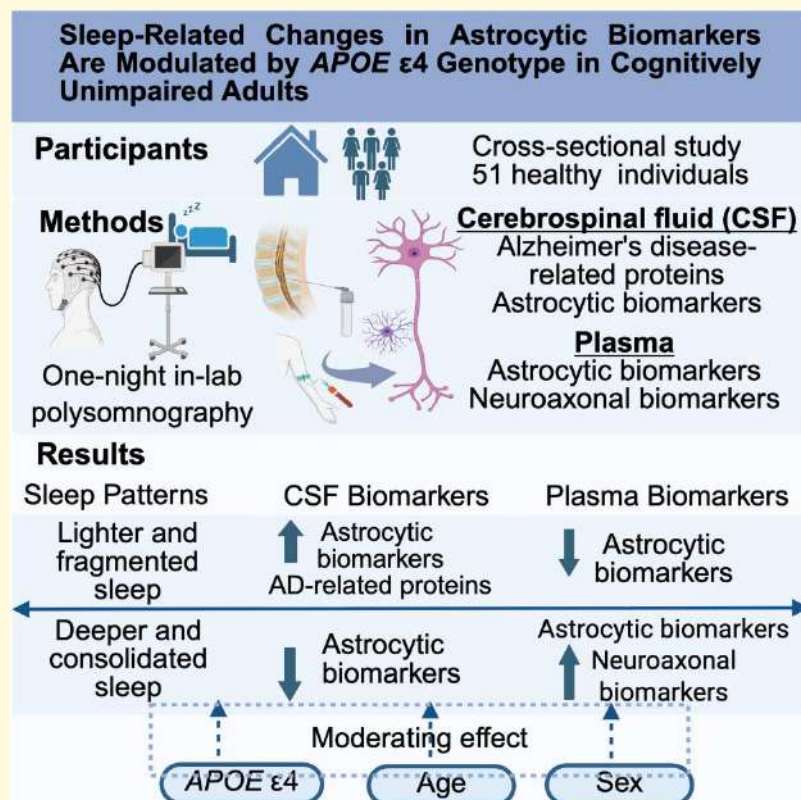
8 Multidisciplinary Sleep Unit, Respiratory Department, IR SANT PAU, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona 08025, Spain

Correspondence to: Daniel Alcolea, MD, PhD
(Sant Pau Memory Unit, Neurology Department), IR SANT PAU
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau
Sant Antoni Maria Claret 167
Barcelona 08025, Spain
E-mail: dalcolea@santpau.cat

Correspondence may also be addressed to: Sandra Giménez, MD, PhD
(Multidisciplinary Sleep Unit, Respiratory Department), IR SANT PAU
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau
Sant Antoni Maria Claret 167
Barcelona 08025, Spain
E-mail: sgimenez@santpau.cat

Keywords: astrocytes; Alzheimer's disease-related proteins; polysomnography; apolipoprotein $\epsilon 4$; cognitively unimpaired individual

Graphical Abstract



Introduction

In recent years, increasing efforts have focused on understanding the biological mechanisms that contribute to the pathophysiology and progression of neurodegenerative diseases, with a growing focus on sleep disturbances and neuroinflammation.¹⁻⁴

Sleep disturbances are common in neurodegenerative conditions such as Alzheimer's disease and are increasingly recognized to interact bidirectionally with disease-related pathology.^{1,3,5-14} Disrupted sleep may exacerbate Alzheimer's disease pathology by impairing the production and clearance of amyloid and tau proteins, processes that predominantly occur during deep sleep [so-called slow-wave sleep (SWS) or N3 stage of non-rapid eye movement (REM) sleep].⁵⁻⁷ Conversely, sleep changes often appear early in the course of the disease, potentially driven by amyloid and tau depositions in brain regions involved in sleep regulation, thereby promoting further neurodegeneration and cognitive decline.⁸⁻¹² Evidence from both subjective and objective sleep assessments has linked greater amyloid burden to shorter sleep duration, reduced sleep efficiency (SE), increased sleep latency (SL) and a higher prevalence of obstructive sleep apnoea (OSA) and daytime napping.^{9,13-17} In addition, lower slow-wave activity (SWA), a specific electrophysiological marker of slow, high-amplitude oscillations during SWS, has also been associated with amyloid and tau pathology in cognitively unimpaired (CU) individuals.^{8,10}

Furthermore, neuroinflammation is another key feature of neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease, and may precede clinical symptoms by years or even decades.^{2,4,18,19} Sustained immune responses in the brain, primarily mediated by activated microglia and astrocytes, are closely linked to neurodegeneration.^{2,18,19} These glial cells have been shown to modulate the clearance and production of A β 42 and contribute to the development and propagation of tau pathology.²⁰⁻²²

Notably, astrocytes participate in sleep regulation by modulating sleep-wake dynamics through intracellular signalling pathways and the release of sleep-inducing molecules.^{23,24} Neuroinflammation has been proposed as a potential link between sleep disturbances and increased risk of neurodegenerative diseases.²⁵ Astrocytic reactivity appears to be an early event in Alzheimer's continuum. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and chitinase-3-like protein (YKL-40) are considered two robust fluid biomarkers of astrocyte activation *in vivo*, and both have been shown to increase in CU, A β -positive individuals, prior to overt neurodegeneration or cognitive decline.²⁶⁻²⁹ Elevated serum GFAP concentrations have been reported in individuals with chronic insomnia and to correlate with insomnia severity.³⁰ Likewise, increased YKL-40 and neurofilament light chain (NfL), a marker of neuroaxonal injury, in CSF have been associated with poor sleep and worse self-reported sleep quality in both Alzheimer's disease and non-Alzheimer's disease individuals.^{16,31-33} Studies in both

animals and humans also suggest that sleep disruption may trigger astrocytic activation, contributing to local and systemic inflammatory responses linking poor sleep to Alzheimer's disease pathology.^{25,34,35}

Moreover, sleep disturbances and neuroinflammation also share common risk factors with Alzheimer's disease, such as apolipoprotein E ϵ 4 (APOE ϵ 4) genotype and ageing. The APOE ϵ 4 genotype, the strongest genetic risk factor for Alzheimer's disease, has been associated with reduced sleep quality in CU individuals, based on both subjective reports and objective measures.³⁶⁻³⁸ Experimental studies have shown that APOE ϵ 4 exacerbates the effect of sleep disruption on A β and tau pathology and alters glial responses.³⁹ Although the association between APOE ϵ 4 and sleep-disordered breathing remains inconclusive, some studies have reported an increased risk of sleep apnoea in APOE ϵ 4 carriers.^{40,41} A large proportion of brain APOE is produced by astrocytes, where it supports lipid metabolism, A β clearance and blood-brain barrier (BBB) maintenance. In animal models, expression of the APOE ϵ 4 isoform has been associated with increased astrocytic inflammation and BBB dysfunction.⁴²⁻⁴⁵

Ageing is associated with chronic low-grade inflammation—often referred to as 'inflammaging'—which has been linked to poorer sleep quality, including more frequent and prolonged nighttime awakenings.⁴⁶⁻⁴⁸ Age-related glial activation has also been associated with sleep microstructure disruption, tau phosphorylation, synaptic loss and memory impairment, even in the absence of β -amyloid positivity.⁴⁹ These converging associations point towards a complex interplay between sleep, neuroinflammation, and Alzheimer's disease-related processes.

However, our understanding of how sleep interacts with biomarkers relevant to neurodegenerative disease remains limited and is hindered by methodological constraints. Many studies have focused on isolated sleep parameters—ranging from respiratory indices and sleep duration to macro- and microstructural features—each capturing different aspects of sleep physiology.^{3,17,50,51} Others rely on self-reported questionnaires that may not accurately capture the extent of sleep disturbances.^{52,53} In addition, the presence of neurodegenerative disease, which may precede symptom onset by several years, can itself influence sleep-biomarker relationships. Studies that overlook preclinical Alzheimer's disease risk a misinterpretation, since early pathological processes may already impact sleep patterns and astrocytic activity.^{1,3}

Despite increasing interest in sleep-Alzheimer's disease interactions, few studies examined astrocytic biomarkers in relation to sleep,^{18,25,35} and even fewer have considered how common risk factor such as age and APOE ϵ 4 may moderate these associations.

Given the early involvement of astrocytic reactivity and sleep alterations in the Alzheimer's continuum, and their shared association with common risk factors, it is plausible that sleep-biomarker relationships may already be detectable in CU individuals. Investigating these relationships in a rigorously characterized, biologically defined, disease-free

cohort may provide insight into early mechanisms of neurodegenerative vulnerability and how they may be shaped by such factors. This approach offers a physiological reference point against which pathological changes can later be compared.

Therefore, the present study aimed to:

- (i) characterize the associations between objective nocturnal polysomnography (NPSG) macro and microstructure derived sleep parameters and fluid biomarkers of astrocytic activation (CSF GFAP, YKL-40 and plasma GFAP), neuroaxonal injury (plasma NfL) and Alzheimer's disease-related proteins (CSF A β 40, A β 42, pTau181 and tTau) in cognitively unimpaired adults;
- (ii) identify independent sleep-related parameters associated with biomarker concentrations, accounting for relevant covariates; and
- (iii) explore whether these associations are moderated by age, sex or APOE ϵ 4 genotype.

Materials and methods

Ethics approval and consent to participate

All participants provided written informed consent. The study was approved by the local ethics committee of Hospital de la Santa Creu I Sant Pau following the principles stated in the Declaration of Helsinki (IIBSP-DOW-2014-30; v5: 11 July 2016, v6: 24 October 2023).

Participants and study design

Fifty-one CU adult participants from the Sant Pau Initiative on Neurodegeneration (SPIN) cohort who underwent one-night polysomnography (NPSG) between April 2018 and June 2023 were included. The SPIN cohort is a comprehensive biomarker platform for the discovery and validation of biomarkers across individuals with neurodegenerative dementias, mild cognitive impairment and CU controls. Recruitment of CU participants followed the established protocol.⁵⁴ Individuals with active psychiatric symptoms or sleep disturbance requiring medication adjustment within the past 5 years, as well as those with neurological or medical conditions or undergoing treatments that could influence brain structure, cognitive function, study adherence or CSF/plasma measures, were excluded.

None of the participants had been previously referred for evaluation of a suspected sleep disorder. Prior to NPSG, participants completed standardized sleep questionnaires, including the validated Spanish version of the Pittsburgh Sleep Quality Index to assess self-reported sleep quality, with scores above 5 considered indicative of poor sleep quality;⁵⁵ the Epworth Sleepiness Scale to evaluate daytime somnolence, with scores above 10 considered indicative of excessive sleepiness;⁵⁶ and the Berlin Questionnaire to screen for risk of OSA.⁵⁷ Questionnaire abnormalities were evaluated by a sleep specialist, who excluded any clinically

significant suspicion of sleep disorder. Undiagnosed sleep-breathing disorders were not an exclusion criteria.

All participants underwent a thorough medical history review, physical examination, and standard neuropsychological evaluation, followed by lumbar puncture and blood collection from morning to early afternoon on the same day. Neuropsychological performance was within normal range for age and education, and all participants had a clinical dementia rating of 0, as per the SPIN neuropsychological protocol.⁵⁴ None of the participants met criteria for Alzheimer's disease biomarker positivity, as determined by established CSF biomarker cutoffs (A β 42/A β 40 ratio, pTau181 and tTau) within the past 4 years or by a negative plasma pTau217 result.^{58,59}

Polysomnography

Sleep recordings were conducted during a single night in individual, sound-attenuated, temperature-regulated rooms at the sleep laboratory, supervised by qualified technicians, as described in previous works.^{60,61} Briefly, NPSG included 19 EEG channels according to the international electrode 10–20 system. Data were acquired using the Compumedics E Series System (Compumedics, VIC, Australia) and analysed with Profusion Sleep Software (Compumedics PSG3 version 3.4). Sleep variables were visually scored in 30-s epochs by an accredited technologist, following the guidelines of the American Academy of Sleep Medicine.⁶²

Sleep architecture parameters included total sleep time (TST); wake after sleep onset (WASO, in minutes, defined as the time awake after sleep onset); SE (in %, defined as the ratio between total sleep time and time in bed) and SL (in minutes, defined as the time spent awake before the first sleep epoch). Time spent in each stage (N1, N2, N3 and REM) was recorded both in minutes and as a percentage of TST. Sleep fragmentation was assessed using the number of NREM-REM stage transition (stage shift), the total number of cortical arousals throughout the night (arousal total) and the number of awakenings.⁶²

Quantitative analysis of SWA was performed by calculating the average power density within the 0.5–4.0 Hz ranges from full-night EEG recording at bilateral frontal, central and parietal electrodes. The mean SWA was then derived by averaging the SWA values across all electrodes.⁶³

Respiratory parameters included the apnoea–hypopnea index (AHI), defined as the number of apnoeas (>90% airflow reduction for ≥ 10 s) and hypopneas ($\geq 30\%$ airflow reduction for ≥ 10 s with $\geq 3\%$ oxygen desaturation or cortical arousal) per hour of sleep; the percentage of total sleep time spent with oxygen saturation below 90% (T90) and the presence and severity of OSA, classified according to standard AHI thresholds.⁶⁴

Blood and CSF collection and analysis

Blood samples were collected in 10 ml ethylenediaminetetraacetic acid tubes. CSF samples were collected on the

same day of blood extraction and processed in polypropylene tubes following international recommendations.⁶⁵ All samples were transferred to our laboratory, centrifuged and aliquoted within 2 h of collection and stored at -80°C until analysis. The pre-analytical processing protocol for blood and CSF in the SPIN cohort has been described in detail.⁵⁴

CSF and plasma GFAP concentrations were quantified using commercially available assays on the Single Molecule Array (SIMOA) SR-X platform (Simoa® GFAP Discovery kit; Quanterix, Ref# 102336). Plasma NfL was measured with the Simoa® NF-light Advantage V2 kit (Quanterix, Ref# 104073). CSF YKL-40 concentrations were measured using enzyme-linked immunosorbent assay methods previously described (MicroVue™ YKL-40, Quidel, Ref# 8020).^{58,66} All samples and calibration curves were run in duplicate, with intra- and inter-assay coefficients of variation as reported in prior study.⁶⁷ Core Alzheimer's disease biomarkers (A β 42, A β 40, pTau181 and tTau) in CSF were analysed using the fully automated Lumipulse G600II platform (Fujirebio-Europe), following the manufacturers' instructions.

APOE status determination

DNA was extracted from peripheral blood and APOE genotyping was performed using PCR amplification followed by Sanger sequencing. Participants carrying one or more copies of the $\epsilon 4$ allele were classified as $\epsilon 4+$, whereas the remaining participants were placed in the $\epsilon 4-$ group.⁶⁸

Statistical analyses

Descriptive statistics were reported as median and interquartile range (IQR) for continuous variables and as absolute and relative frequencies for categorical variables. Group comparisons were performed using the Wilcoxon rank-sum test for continuous variables and Fisher's exact test for categorical variables. Normality was evaluated by visual inspection of the histogram and the Shapiro–Wilk test. Right-skewed variables (CSF GFAP and YKL-40, plasma NfL, CSF pTau181 and tTau, stage shift and SWA) were log-transformed prior to regression analyses to achieve normal distribution. Log transformation also provided the best correction for plasma GFAP, although its distribution remained slightly skewed. CSF A β 42 and A β 40 were normally distributed and therefore not transformed.

Associations between sleep parameters, fluid biomarkers and age were examined using Spearman's rank correlation. Multiple linear regression models were then applied to identify independent sleep-related predictors of biomarker concentrations, adjusting for age, sex, body mass index (BMI), APOE $\epsilon 4$ genotype and OSA status, classified as present [apnoea–hypopnea index (AHI) ≥ 5 events/h] or absent (AHI < 5 events/h).

Prior to regression analyses, bivariate correlations among sleep parameters were screened to identify potential redundancy. In case of high correlation (Spearman's $\rho > 0.7$), the variables were modelled separately in parallel regression

models and the model with the highest adjusted R^2 was retained for further analysis.

Predictor selection followed a stepwise forward–backward procedure using the step function from the R base 'stats' package. The best-fitting models were identified based on the lowest Akaike information criterion. Multicollinearity was assessed using the variance inflation factor, with values < 5 considered acceptable. Model assumptions were evaluated using standard diagnostic plots, including residual versus fitted values, Q–Q plots, scale-location plot and residuals versus leverage, to assess linearity, homoscedasticity, normality of residuals and influential observations. Potential outliers were identified using an extreme value criterion ($3 \times \text{IQR}$) and model diagnostics. Regression models were re-run with and without these values, and results remained unchanged; therefore, all data points were retained in the final analyses.

Moderation analyses were conducted to examine whether age, sex or APOE $\epsilon 4$ genotype modified the associations identified between sleep parameters and fluid biomarkers. For each final multiple linear regression model, an interaction term was applied between the relevant sleep predictors and the moderator of interest, while retaining the covariates identified in the main regression models. Model selection and diagnostic checks followed the same procedure as applied in the primary analyses. Moderation was defined as a significant interaction between the sleep parameter and the moderator.

Statistical significance was set at 5% ($P < 0.05$). For Spearman's correlation, significance was determined based on 95% confidence intervals (CIs) using 5000-sample bootstrapping method, with the exclusion of zero indicating significance ($\alpha = 0.05$). Continuous predictor variables were z-scored prior to regression and moderation analyses to allow comparison of effect sizes across measures, while outcome variables were analysed without standardization.

Data cleaning, analysis and visualization were performed using R statistical software (v4.4.1) and the following packages: 'tidyverse'(v.2.0.0), 'dplyr'(v.1.1.4), 'skmr'(v.2.1.5), 'rstatix'(v.0.7.2), 'gtsummary'(v.1.7.3), 'boot'(v.1.3.31), 'car'(v.3.1.3), 'ggplot2'(v.3.5.1), 'patchwork'(v.1.2.0), 'interactions'(v.1.2.0), 'emmeans'(v.1.11.2) and the base 'stats' package.

Results

Participants characteristics

Table 1 summarizes the demographic, cognitive and clinical characteristics of the participants, along with raw biomarker concentrations and sleep parameters. Participants had a median age of 55 years (IQR: 12) and were predominantly female (71%). They were also highly educated, with a median of 17 years of education (IQR: 7). Overall, 25% were APOE $\epsilon 4$ carriers, including two individuals homozygous for the $\epsilon 4$ allele. The cohort was generally in good health and was, on average, within the normal weight range

Table 1 Participant characteristics: demographic, clinical, biomarker and sleep architecture parameters (N = 51)

Sociodemographic and clinical characteristics		NPSG sleep architecture parameters	
Age (years)	55 [12]	Total sleep time (min)	368 [74]
Sex (female)	36 (71%)	Wake after sleep onset (min)	146 [103]
Education (years)	17 [7]	Sleep efficiency (%)	82 [14]
APOE ϵ 4+	13 (25%)	Sleep latency (min)	22 [22]
MMSE	30 [1]	Stage N1 (min)/(%)	39 [37]/12 [11]
Hypertension	11 (22%)	Stage N2 (min)/(%)	179 [58]/51 [9]
Dyslipidaemia	13 (25%)	Stage N3 (min)/(%)	73 [30]/19 [8]
Diabetes	2 (3.9%)	Stage REM (min)/(%)	68 [29]/18.2 [6]
Antidepressant treatment	4 (8%)	Number of stage shifts	157 [65]
Hypnotic treatment	4 (8%)	Number of arousal	14 [11]
BMI (kg/m ²)	24 [4.6]	Number of awakening	21 [8]
Time from NPSG to biofluid collection (days)	1 [8]	Log10 (mean slow wave activity)	225 [180]
Fluid biomarkers		NPSG respiratory parameters	
CSF YKL-40 (pg/ml)	184 [87]	OSA (AHI > 5)	15 (29%)
CSF GFAP (pg/ml)	6389 [3795]	Moderate/severe OSA (AHI > 15)	5 (9.8%)
Plasma GFAP (pg/ml)	105 [92]	AHI (events/h)	3 [5]
Plasma NfL (pg/ml)	7.8 [4.7]	T90 (%)	0.1 [0.5]
CSF A β 40	11 063 [3543]	Sleep questionnaire scores	
CSF A β 42	1135 [501]	PSQI	4 [3]
CSF pTau181 (pg/ml)	33 [12]	ESS	4 [6]
CSF tTau (pg/ml)	244 [96]	BQ (high risk)	3 (6%)

Values are presented as median (IQR) or n (%). APOE ϵ 4+, carrier of one or two APOE ϵ 4 alleles, MMSE, Mini-Mental state examination; A β 40, amyloid-beta 1–40; A β 42, amyloid-beta 1–42; pTau181, Tau protein phosphorylated at threonine 181; tTau, total tau; NPSG, nocturnal polysomnography; T90, time proportion with oxygen saturation below 90% during sleep; PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index; ESS, Epworth Sleepiness Scale; BQ, Berlin Questionnaire.

[median BMI: 24 (IQR: 4.6)]. Six participants (12%) reported the use of psychotropic medication. Two (4%) were taking antidepressants: one escitalopram and the other venlafaxine. Another two participants (4%) used hypnotics, clonazepam or alprazolam. The remaining two (4%) were on combined treatment with antidepressants and hypnotics: one with escitalopram and lormetazepam, and the other with citalopram and doxylamine. All medications were administered at low doses, and hypnotics were taken on an as-needed basis and were not used the night prior to the NPSG in any of the four cases. No participants were taking anti-seizure or antipsychotic medications. These medications were not expected to influence study outcomes.

All mean sleep questionnaire parameters were within the normal range, with only three participants classified as being at risk for OSA. All participants underwent NPSG and had plasma available for biomarker determination. The median interval between NPSG and sample collection was 1 day (IQR: 8; range: 1–127), with 33 participants (65%) undergoing NPSG the night before medical evaluation and sample collection. CSF samples were available for 47 individuals (92.2%), none of whom met criteria for Alzheimer's disease biomarker positivity. Of the four participants without available CSF, three had previously shown normal CSF biomarker profiles in samples obtained within the past 4 years and one had a negative plasma pTau217 result.

Sleep parameters were within normal ranges, with mildly reduced sleep efficiency (>85% considered normal). The median AHI was within normal limits (<5/h). Fifteen participants had OSA, including one with moderate OSA (AHI $\geq$ 15) and four with severe OSA (AHI $\geq$ 30).

Age was positively associated with CSF YKL-40, CSF GFAP, plasma GFAP and plasma NfL concentrations ($\rho =$

0.62, 0.47, 0.47 and 0.66, respectively, all $P < 0.05$) (Supplementary Table 1), as well as with N1 stage duration, stage shift, arousal total, AHI and T90 ($\rho = 0.34$ –0.44; all $P < 0.05$) (Supplementary Table 1). In contrast, it was negatively associated with SWA ($r = -0.39$, $P < 0.05$) (Supplementary Table 1). Associations among the fluid biomarkers are reported in Supplementary Table 2.

Compared to females, males had a higher median age, and the proportion of individuals with hypertension was greater. Males also showed reduced TST and SE and increased respiratory events, although the proportion of moderate-to-severe OSA cases did not differ significantly between genders. CSF YKL-40 concentrations were higher in males compared to females (Supplementary Table 3).

No significant associations were found between BMI and sleep parameters or biomarker concentrations. Additionally, no significant demographic, clinical, biomarker or sleep parameter differences were observed between participants who had fluid collection the morning after NPSG and those who completed NPSG on a separate day. Similarly, biomarker concentrations did not differ between participants with moderate-to-severe OSA and those without.

Bivariate associations between sleep parameters and fluid biomarkers

A Spearman correlation analysis (Fig. 1) revealed that more superficial and fragmented sleep, reflected by longer N1 duration, higher WASO, more transition between sleep stages (stage shift) and a greater number of arousals, was associated with higher concentrations of CSF YKL-40 ($\rho = 0.52$, 0.46 and 0.50 for N1, stage shift and arousals, respectively), as well as with elevated concentrations of CSF A β 40 ($\rho = 0.33$

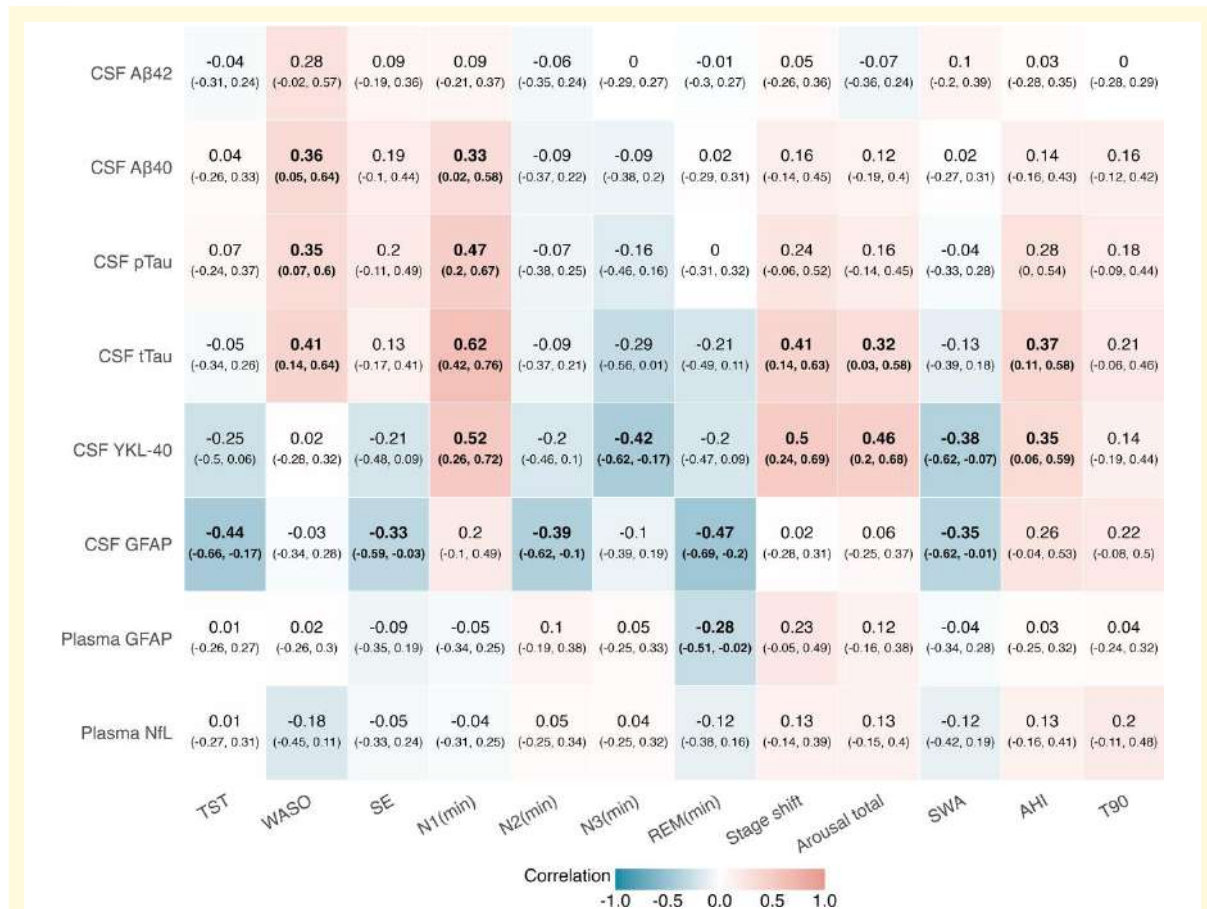


Figure 1 Spearman's correlation coefficients between objective sleep parameters and fluid biomarker concentrations. Correlation coefficient was computed between sleep parameters including macroarchitecture (TST, WASO, SE, N1, N2, N3 and REM stage duration), sleep fragmentation (stage shift, arousal total), microstructure (SWA) and respiratory parameters (AHI, T90) and Alzheimer's disease-related biomarkers, including CSF YKL-40, GFAP, Aβ40, Aβ42, pTau181, tTau, plasma GFAP and NfL. Values represent Spearman's ρ and 95% CIs (in parentheses), computed via bootstrapping (5000 samples) ($N = 47$ for correlations with CSF biomarkers; $N = 51$ for correlations with plasma biomarkers). log, logarithmic transformation; Aβ, amyloid-β; pTau, phosphorylated tau (Thr181); tTau, total tau; N1(min), N1 stage duration; N2(min), N2 stage duration; N3(min), N3 stage duration; REM(min), REM stage duration; stage shift, number of stage shifts; arousal total, total number of arousals; T90, percentage of total sleep time with oxygen saturation <90%.

with N1 and $\rho = 0.36$ with WASO), CSF pTau181 ($\rho = 0.47$ with N1 and $\rho = 0.35$ with WASO) and CSF tTau ($\rho = 0.62$, 0.41, 0.41 and 0.31 for N1, WASO, stage shift and arousals, respectively).

In contrast, deeper sleep parameters, including longer N3 duration and increased SWA, were associated with lower CSF YKL-40 ($\rho = -0.42$ and -0.38 , respectively) and CSF GFAP ($\rho = -0.35$ with SWA) concentrations. Additionally, longer TST, higher SE and longer N2 and REM durations were negatively associated with CSF GFAP ($\rho = -0.44$, -0.33 , -0.39 and -0.47 , respectively).

Regarding respiratory parameters, AHI was positively associated with CSF YKL-40 ($\rho = 0.35$) and CSF tTau ($\rho = 0.37$) concentrations, while T90 showed no significant associations with the biomarkers evaluated.

Overall, no relevant associations were observed between sleep parameters and plasma biomarkers, nor with CSF Aβ42.

Multivariate associations between sleep parameters and astrocytic-neuroaxonal fluid biomarkers

Multiple linear regression models used to identify independent sleep architecture predictors of astrocytic and neuroaxonal biomarker concentrations are presented in Fig. 2 and summarized in Table 2.

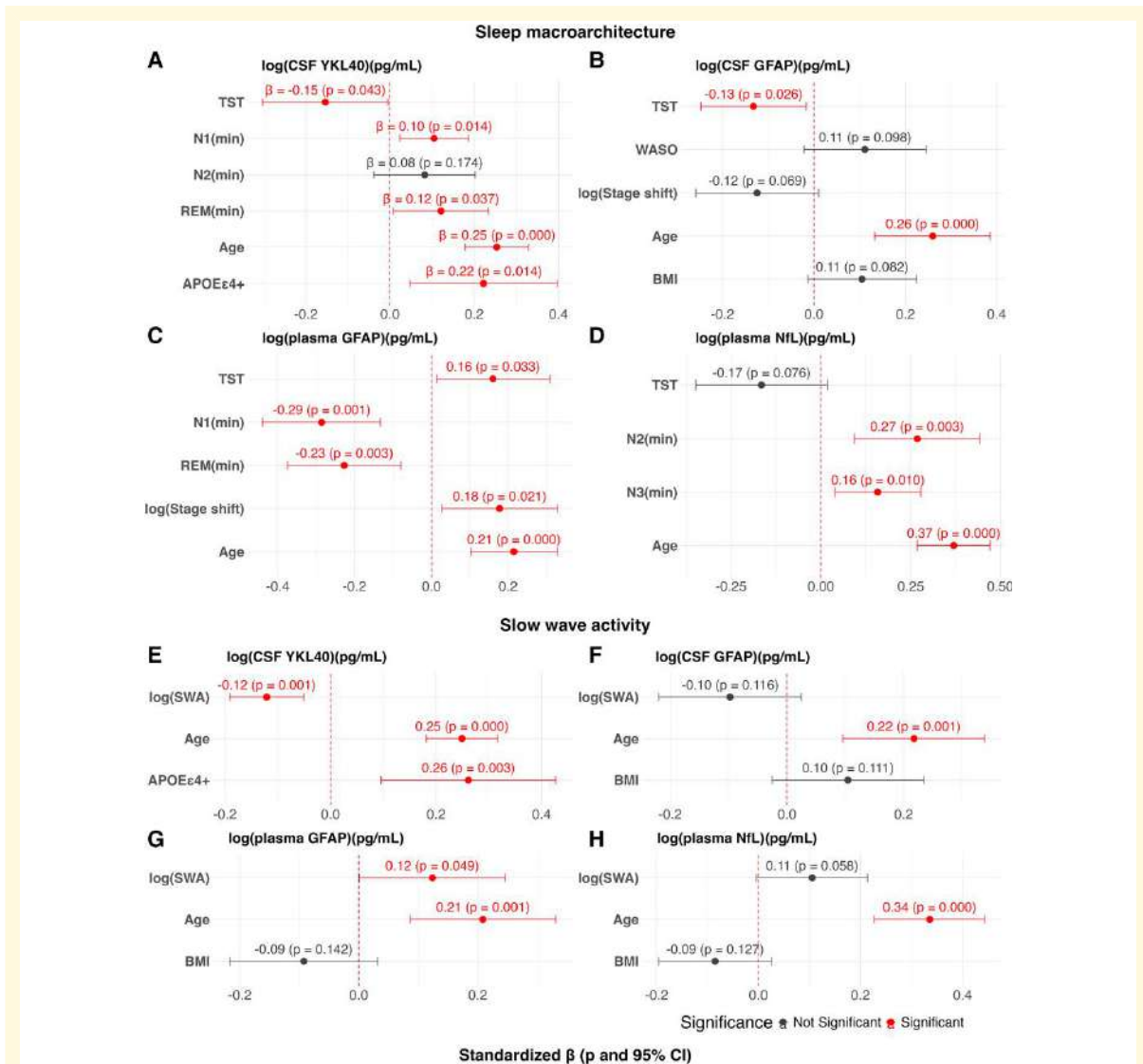


Figure 2 Regression models for sleep architecture parameters and astrocytic-neuroaxonal fluid biomarker concentrations.

(A–H) Standardized regression coefficients (dots indicating the estimated β), 95% CIs (bars) and corresponding P -values for predictors retained in the final model after stepwise variable selection (both forward and backward). Models were adjusted for age, sex, BMI, APOE ϵ 4 genotype and OSA where appropriate. Associations reaching statistical significance ($P < 0.05$ and 95% CI not including zero) are indicated accordingly. Biomarkers and skewed sleep parameters (stage shift and SWA) were log-transformed prior to analysis when necessary to meet normality assumptions ($N = 47$ for models with CSF biomarkers; $N = 51$ for models with plasma biomarkers). log, logarithmic transformation; N1(min), N1 stage duration; N2(min), N2 stage duration; N3(min), N3 stage duration; REM(min), REM stage duration; stage shift, number of stage shifts; APOE ϵ 4, APOE ϵ 4 carrier.

In the model for CSF YKL-40 (adjusted $R^2 = 0.61$, $P < 0.0001$), longer N1 and REM duration were positively associated with CSF YKL-40 concentrations ($\beta = 0.10$, $P = 0.014$; $\beta = 0.12$, $P = 0.037$, respectively), while TST showed a negative association ($\beta = -0.15$, $P = 0.043$). Age and APOE ϵ 4 genotype were also significant predictors of CSF YKL-40 concentrations ($\beta = 0.25$, $P < 0.001$; $\beta = 0.22$, $P = 0.014$, respectively) (Fig. 2A).

For CSF GFAP (adjusted $R^2 = 0.37$, $P < 0.0001$), TST was the only sleep-related parameter that remained significant ($\beta = -0.13$, $P = 0.026$). Age was also associated with biomarker concentrations ($\beta = 0.26$, $P < 0.001$), while WASO, stage shift and BMI did not reach significance (Fig. 2B).

For plasma GFAP (adjusted $R^2 = 0.39$, $P < 0.0001$), longer N1 and REM duration were negatively associated with biomarker concentration ($\beta = -0.29$, $P = 0.001$; $\beta = -0.23$,

Table 2 Summary of multiple linear regression models to predict astrocytic-neuroaxonal fluid biomarkers

	RSE	Adjusted R ²	F-statistic	P-value
For sleep architecture parameters				
log(CSF YKL-40)	0.235	0.6139	13.19	<0.0001
log(CSF GFAP)	0.3768	0.3744	6.505	<0.0001
log(Plasma GFAP)	0.3619	0.3946	7.518	<0.0001
log(Plasma NfL)	0.3424	0.5157	14.31	<0.0001
For slow wave activity				
log(CSF YKL-40)	0.2282	0.6434	27.46	<0.0001
log(CSF GFAP)	0.4085	0.2962	7.173	0.0006
log(Plasma GFAP)	0.414	0.2076	5.192	0.004
log(Plasma NfL)	0.3662	0.445	13.83	<0.0001

$P = 0.003$, respectively), whereas TST and stage shift were positively associated ($\beta = 0.16$, $P = 0.033$; $\beta = 0.18$, $P = 0.021$, respectively). Age again remained a significant predictor ($\beta = 0.21$, $P < 0.001$) (Fig. 2C).

In the model for plasma NfL (adjusted $R^2 = 0.52$, $P < 0.0001$), longer N2 and N3 duration were independently associated with higher concentrations ($\beta = 0.27$, $P = 0.003$; $\beta = 0.16$, $P = 0.01$). Age showed a strong positive association ($\beta = 0.37$, $P < 0.001$) (Fig. 2D).

In models evaluating SWA separately, higher SWA was independently associated with lower concentrations of CSF YKL-40 ($\beta = -0.12$, $P = 0.001$) and higher concentrations of plasma GFAP ($\beta = 0.12$, $P = 0.049$) (Fig. 2E and G). No significant associations were found for CSF GFAP or plasma NfL (Fig. 2F and H). Among all models, the one predicting CSF YKL-40 showed the highest explanatory power (adjusted $R^2 = 0.6139$) (Table 2). Notably, models using SWA measured at different electrode locations (Fz, Cz and Pz) yielded similar results, with no significant differences in model performance across derivations.

Multivariate associations between sleep parameters and CSF Alzheimer's disease-related proteins

For CSF A β 40 and CSF A β 42, the models were statistically significant ($P = 0.047$ and 0.042 , respectively) but explained only a small proportion of variance (adjusted $R^2 = 0.11$ for both). WASO was the only sleep parameter independently associated with A β 40 ($\beta = 853.43$, $P = 0.022$), while no significant associations were found for CSF A β 42 (Fig. 3A and B).

Regarding CSF pTau181 and CSF tTau, longer N1 duration was independently associated with higher biomarkers concentrations ($\beta = 0.20$, $P < 0.001$; $\beta = 0.19$, $P < 0.001$, respectively), although models fit remained modest (adjusted $R^2 = 0.27$ and 0.36 , respectively) (Fig. 3C and D).

SWA was not associated with any of the core Alzheimer's disease-related proteins, and the corresponding regression models did not reach statistical significance (Table 3).

Moderating effects of APOE ϵ 4, age and sex on the associations between sleep parameters and fluid biomarkers

We next examined whether the APOE ϵ 4 genotype moderated the associations between sleep parameters and fluid biomarkers. Significant interactions were observed for CSF YKL-40 and GFAP (Fig. 4; Table 4). For CSF YKL-40, APOE ϵ 4 significantly moderated the relationship with N1 and N2 duration (interaction terms: $\beta = -0.23$, $P = 0.009$; $\beta = -0.20$, $P = 0.012$, respectively). Stratified analyses indicated that longer N1 and N2 durations were positively associated with higher CSF YKL-40 concentrations in non-carriers ($\beta = 0.15$, $P < 0.001$; $\beta = 0.12$, $P = 0.045$, respectively) but not in ϵ 4 carriers (Fig. 4A–C). For CSF GFAP, a significant interaction was detected between stage shift and APOE ϵ 4 carriers (interaction term: $\beta = -0.27$, $P = 0.035$), with a negative association observed in carriers ($\beta = -0.32$, $P = 0.006$), whereas this relationship was attenuated and not statistically significant in non-carriers (Fig. 4D and E). In the SWA-specific model, APOE ϵ 4 also moderated the associations with CSF GFAP (interaction term: $\beta = 0.37$, $P = 0.010$). Higher SWA was associated with lower CSF GFAP concentrations in non-carriers ($\beta = -0.20$, $P = 0.007$), while no significant association was observed in ϵ 4 carriers (Fig. 4F and G).

Regarding the moderating role of age, a significant interaction was found for SWA and age in predicting plasma GFAP concentration (interaction term: $\beta = 0.15$, $P = 0.021$). Stratified analyses indicated that higher SWA was associated with increased plasma GFAP in older participants (+1 SD of age) ($\beta = 0.21$, $P = 0.004$), whereas no significant association was observed in younger individuals (–1 SD of age) (Supplementary Fig. 1A and B; Supplementary Table 4).

Regarding sex, significant interactions were observed for N1 and REM duration on CSF YKL-40 (interaction terms: $\beta = -0.17$, $P = 0.018$; $\beta = -0.24$, $P = 0.003$, respectively). These associations were positive in females ($\beta = 0.19$, $P < 0.001$; $\beta = 0.19$, $P = 0.003$, respectively), while they were attenuated or absent in males (Supplementary Fig. 1C–E). Model fit remained high when this interaction was considered (adjusted $R^2 = 0.68$, $P < 0.0001$; Supplementary Table 4).

No moderating effects of these factors were observed on Alzheimer's disease-related protein concentrations.

Discussion

In this study, we found that specific features of sleep architecture were related to CSF concentrations of astrocytic biomarkers. Lighter and more fragmented sleep was linked to higher CSF YKL-40, whereas deeper and more consolidated sleep was associated with lower concentrations of CSF GFAP. Interestingly, plasma GFAP showed an inverse

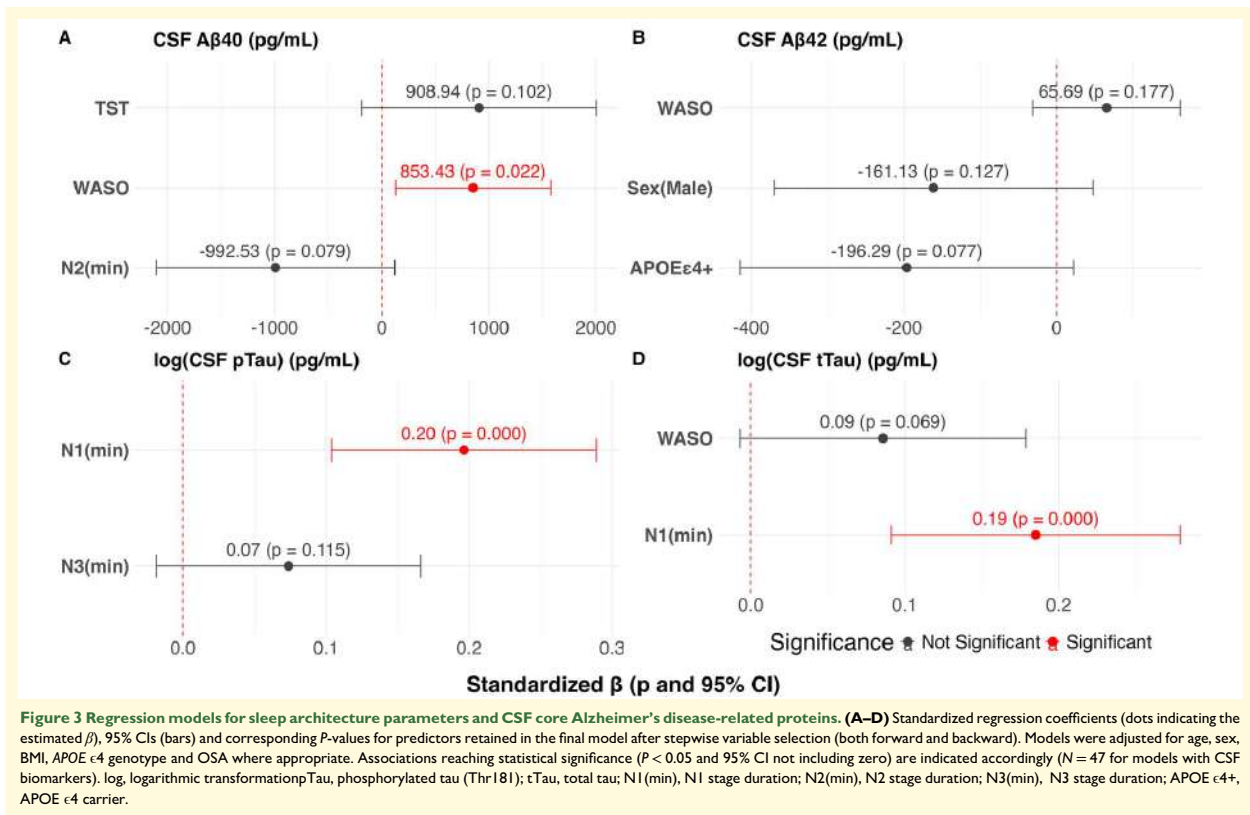


Table 3 Summary of multiple linear regression models to predict CSF Alzheimer's disease-related proteins

	RSE	Adjusted R ²	F-statistic	P-value
For sleep architecture parameters				
CSF Aβ40	2431	0.1092	2.879	0.047
CSF Aβ42	314	0.1146	2.984	0.042
log(CSF pTau181)	0.258	0.2704	9.523	0.0004
log(CSF tTau)	0.291	0.3642	14.18	<0.0001
For slow wave activity				
CSF Aβ40	2452	0.0226	1.51	0.2327
CSF Aβ42	647.57	0.0726	2.722	0.0773
log(CSF tTau)	0.366	0.0262	2.184	0.1468

profile. We also observed significant associations between REM sleep and astrocytic biofluid markers. In addition, age, sex and *APOE* ϵ 4 genotype significantly influenced several of these associations.

These findings are consistent with existing evidence linking sleep disruption to increased neuroinflammatory activity. Both experimental and observational studies have shown that disrupted sleep can trigger systemic and central immune responses via proinflammatory mediators.²⁵ In our study, lighter and more fragmented sleep was associated with elevated CSF YKL-40, whereas deeper and more consolidated sleep was linked to lower concentrations of astrocytic fluid biomarkers. These findings support previous reports of increased glial activation in individuals with chronic insomnia or reduced deep sleep.^{16,30-33,49} Similarly, in older adults, sleep fragmentation has been associated with upregulation of astrocyte-related genes, while animal models demonstrate that sleep loss induces astrocytic phagocytosis and microglial activation.^{69,70} In parallel, superficial sleep has also been associated with higher concentrations of Alzheimer's disease-related proteins. In our sample, lighter sleep predicted higher concentrations of CSF Aβ40, pTau181 and tTau, supporting prior evidence that experimental sleep deprivation elevates amyloid-β and tau in CU individuals.^{5,6,71} Altogether, these results suggest that both astrocytic and Alzheimer's disease-related biomarkers are associated with subtle variations in sleep physiology.

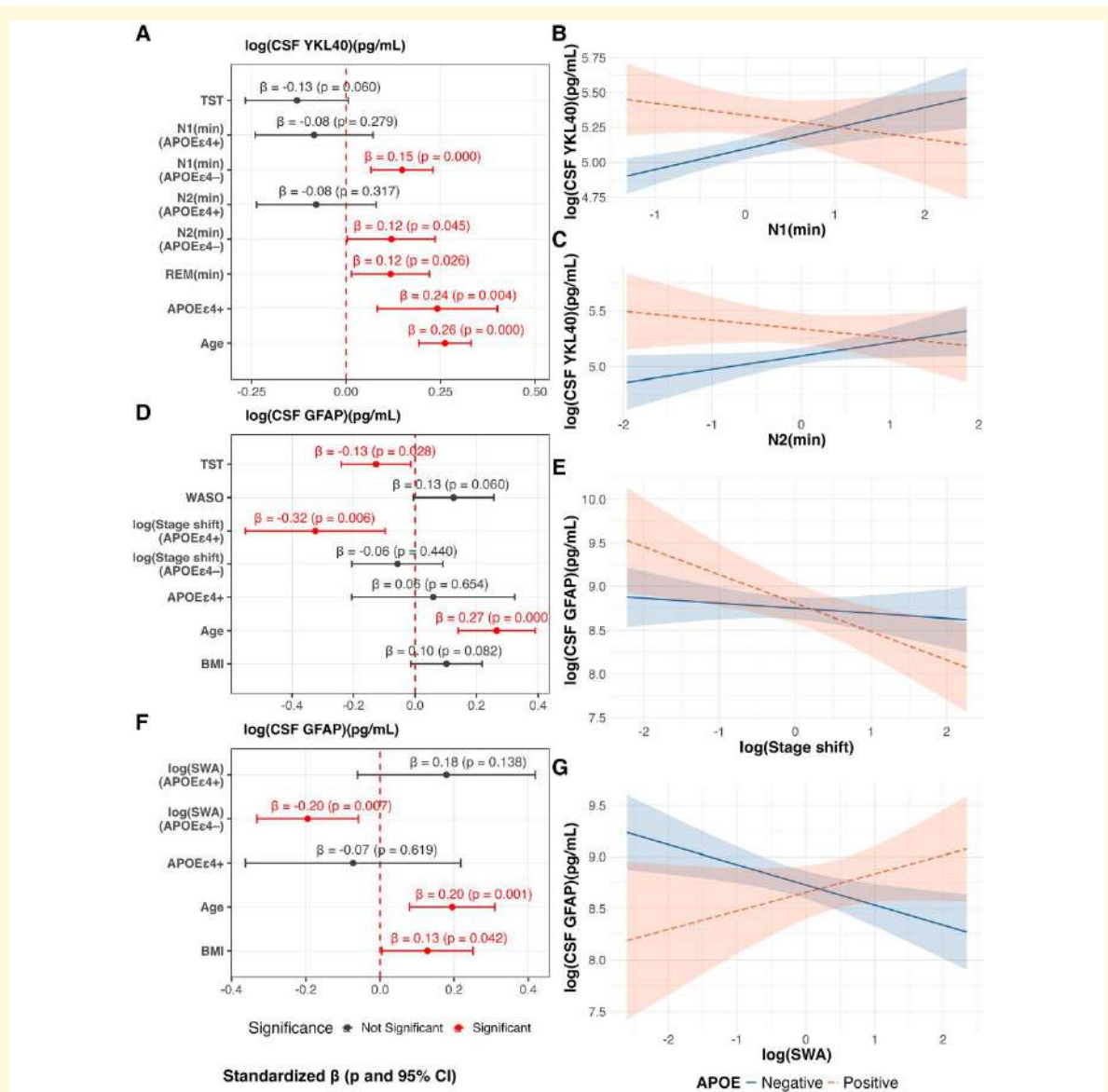
Interestingly, plasma biomarkers displayed an opposite profile to CSF markers. Plasma GFAP increased with longer TST and higher SWA, and decreased with longer N1 and REM duration. Likewise, plasma NfL was positively associated with N3 duration and showed a trend with SWA. These patterns may reflect enhanced activity of the glymphatic system, a brain-wide clearance mechanism that facilitates the removal of metabolic waste from the interstitial space via perivascular pathway and is most active during deep non-REM sleep.^{72,73} Astrocytes contribute critically to this process by regulating fluids dynamics through their perivascular endfeet and maintaining the environment needed for solute transport.^{23,24} While most evidence comes from animal models, our findings support the idea that deep sleep promotes astrocyte-mediated clearance even in CU individuals. The concurrent increase in plasma

GFAP and NfL further suggests that restorative sleep may enhance the redistribution of central nervous system proteins into the periphery, potentially contributing to the limited correlation sometimes observed between central and peripheral biomarker measures.⁷⁴ A small cross-over study with intensive sampling similarly found that sleep deprivation increased CSF but decreased plasma Aβ and tau concentrations, supporting the notion of differential biomarker dynamics across compartments, albeit requiring confirmation in larger cohorts.⁷⁵

In contrast, we observed no meaningful link between SWA and CSF Alzheimer's disease-related proteins. This diverges from previous studies showing increased tau and amyloid-β in relation to reduced SWA.⁶⁻⁸ Several methodological differences may account for this discrepancy. Prior studies often included older participants with an average age at least 10 years older than in our sample, and in some cases, more than 50% were amyloid-positive based on PET or CSF biomarkers.^{7,8} Additionally, some employed sleep deprivation protocols, which may amplify sleep-biomarker relationship beyond physiological conditions.⁶ In contrast, our cohort included younger, amyloid-negative individuals in whom glymphatic clearance and other compensatory mechanisms are expected to be intact, potentially limiting the detectability of associations between SWA and Alzheimer's disease-related proteins.

In addition to the associations observed with NREM sleep, REM sleep duration was also significantly related to astrocytic fluid biomarkers. The mechanisms by which astrocytic activity interacts with REM sleep regulation are not yet fully understood, and further work specifically addressing this relationship is needed. Among the few studies available, animal models showed that pontine astrocytic activation suppressed REM initiation and reduced REM episodes,⁷⁶ while in Parkinson's disease, patients with REM sleep behaviour disorders (RBD) exhibited higher plasma GFAP and NfL concentrations than those without RBD.⁷⁷ Similarly, individuals with isolated RBD (iRBD) presented with elevated plasma GFAP and NfL in the absence of increased pTau181.⁷⁸ Together, these findings pointed to a relationship between REM sleep and astroglial activity, and our result suggested that such associations were also present in CU individuals without biomarker evidence of Alzheimer's disease.

To further understand the complexity of sleep-biomarker interactions, we examined the role of key susceptibility factors. *APOE* is a key protein involved in lipid transport and metabolism, mainly synthesized by astrocytes in the central nervous system.^{43,72} The ϵ 4 isoform has been linked to altered BBB properties and reduced amyloid-β clearance, including disrupted endothelial junctions and reduced astrocytic end-foot coverage in animal models.^{42,45,79} In CU adults, *APOE* ϵ 4 carriers show poorer sleep quality, characterized by shorter TST and SE and greater WASO and awakenings, compared to non-carriers.^{38,80} Self-reported data further support this pattern.³⁷ Our finding expands this evidence by showing that *APOE* ϵ 4 also moderates the relationship between sleep and astrocytic biomarkers. Specifically, in



ϵ 4 carriers, the positive association between N1 and N2 durations and CSF YKL-40 seen on non-carriers were no longer evident. This may reflect genotype-dependent difference in astrocytic activity to sleep features, potentially indicating early glial alterations in individuals genetically predisposed

to Alzheimer's disease. Consistent with this interpretation, post-mortem studies have shown greater sleep impairment in ϵ 4 carriers during the last year of life, even when adjusting for Alzheimer's disease neuropathology. These findings suggest that APOE ϵ 4 may also influence sleep regulation

Table 4 Summary of moderation models by APOE ϵ 4 genotype

	RSE	Adjusted R^2	F-statistic	P-value
For sleep architecture parameters				
log(CSF YKL-40)	0.2131	0.6824	13.35	<0.0001
log(CSF GFAP)	0.3647	0.4141	5.645	0.0002
For slow wave activity				
log(CSF GFAP)	0.3836	0.3795	6.382	0.0002

through additional biological mechanisms, not directly related to Alzheimer's disease core proteinopathy.⁸¹ Whether these differences in astrocytic activity contribute to increased Alzheimer's disease vulnerability remains to be clarified.

Finally, both age and sex are known to influence sleep physiology and glial responses.^{46,48,82-84} In our study, these factors also emerged as relevant moderators. The association between SWA and plasma GFAP was stronger in older participants, suggesting that the influence of deep sleep on peripheral astrocytic biomarkers may become more prominent with age. Additionally, the associations between CSF YKL-40 and both N1 and REM duration differed by sex, with stronger associations observed in females. These findings highlight the importance of considering individual variability in sleep-astrocyte interactions.

Strengths and limitations

The strengths of this study include the rigorous selection of cognitively unimpaired participants and the use of gold-standard NPSG alongside comprehensive biomarker analysis in paired CSF and plasma samples. Notably, the short interval between NPSG and biofluid collection, averaging 13.2 days and 65% with biofluid collection the morning after NPSG, is much shorter than in previous studies,^{7,49} where it ranged from several months to years. This is especially relevant for dynamic biomarkers like the A β 42 and A β 40, which may be sensitive to timing.

A limitation of this study is the relatively small sample size. However, this size is similar to that in other studies,^{7,38,49,80} and has provided enough statistical power to find interesting associations. In addition, the cross-sectional design precludes any causal inference; longitudinal studies are needed to determine the temporal dynamics and potential predictive value of sleep-biomarker relationship.

The sample was relatively homogeneous, comprising predominantly Caucasian (98%), highly educated individuals without overweight and with low prevalence of medical comorbidities, including sleep-breathing disturbances. This profile enabled the exploration of sleep-biomarker associations in a physiologically healthy context, minimizing potential confounding factors. However, it may limit the generalizability of our findings to more diverse or clinically complex population. In addition, the use of laboratory-based NPSG may also limit ecological validity due to potential alterations in sleep patterns in the artificial environment.

Finally, given the practical constraints of clinical procedures, CSF collection was obtained within a 4.5-h interval in over 90% of cases, although not always at the same time of day. This may introduce variability in biomarkers such as A β peptides. Which are known to follow a diurnal pattern.

Conclusion

Our results support the hypothesis that astrocytic biomarkers are associated with physiological sleep variations and reinforce the idea that astrocytic dysregulation may serve as a mechanistic link between sleep disruption, neuroinflammation and neurodegeneration. Moreover, the compartment-specific behaviour of astrocytic fluid biomarkers observed in our study suggests that sleep may contribute to their redistribution from the central to the peripheral compartment. Finally, the modulation of these associations by age, sex and APOE ϵ 4 genotype indicates that at-risk individuals may exhibit different patterns in the relationship between sleep and astrocytic fluid biomarkers, even in the absence of overt pathology, potentially contributing to long-term vulnerability.

Given the potential role of sleep as a modifiable factor, future studies should explore how astrocytic biomarkers interact with sleep parameters across the neurodegenerative disease continuum and whether alterations in this function could serve as early indicators or therapeutic targets.

Supplementary material

Supplementary material is available at *Brain Communications* online.

Acknowledgements

The authors acknowledge the Department of Medicine at the Universitat Autònoma de Barcelona. We are grateful to all participants in the study. We also thank all the clinical team members who were involved in the selection and assessment of participants in the SPIN cohort and the laboratory team for sample handling, biomarker analyses and structural support.

Funding

The Sant Pau Initiative on Neurodegeneration cohort received funding from Instituto de Salud Carlos III, through the Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) (PI21/00791, PI14/01126, PI17/01019, PI20/01473, PI20/00836, PI13/01532, PI16/01825, PI18/00335, PI19/00882, PI18/00435, PI22/00611, INT19/00016, INT23/00048, PI17/01896 and AC19/00103) and the Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED) program (Program 1, Alzheimer Disease to A.L.), jointly funded by Fondo Europeo de Desarrollo

Regional, Unión Europea, ‘Una manera de hacer Europa’. The Sant Pau Initiative on Neurodegeneration cohort was also supported by the National Institutes of Health (National Institutes of Health grants 1R01AG056850-01A1; R21AG056974 and R01AG061566), by Departament de Recerca i Universitats, Generalitat de Catalunya (2021 SGR 00979, SLT006/17/125, SLT006/17/119, SLT002/16/408), Fundació la Marató de TV3 grants 20141210, 044412 and 20142610, a grant from the Fundació Bancaria La Caixa to I.R.-B. (Down Alzheimer Barcelona Neuroimaging Initiative project), Fundació Catalana Síndrome de Down and Fundació Víctor Grífols i Lucas. Horizon 21 Consortium is partly funded by Fondation Jérôme Lejeune. N.Z. was supported by Instituto de Salud Carlos III through the Río Hortega Fellowship ‘CM21/00113’ and co-funded by the European Union. J.A. was supported by Instituto de Salud Carlos III through the Río Hortega Fellowship ‘CM21/00243’ and co-funded by the European Union. I.R.-B. was supported by Instituto de Salud Carlos III through the Río Hortega Fellowship ‘CM22/00052’ and co-funded by the European Union.

Competing interests

D.A. participated in advisory boards from Fujirebio-Europe, Roche Diagnostics, Grífols S.A. and Lilly and received speaker honoraria from Fujirebio-Europe, Roche Diagnostics, Nutricia, Krka Farmacéutica S.L., Zambon S.A.U. and Esteve Pharmaceuticals S.A. D.A. declares a filed patent application (WO2019175379—Markers of synaptopathy in neurodegenerative disease). A.L. has served as a consultant or on advisory boards for Almirall, Beckman Coulter, Fujirebio-Europe, NovoNordisk, Roche, Biogen, Grífols, Novartis, Eisai, Lilly and Nutricia, outside the submitted work. A.L. reports holding a patent for markers of synaptopathy in neurodegenerative disease (licensed to ADx, WO2019175379). S.G. participated in advisory boards from Bioproject, Esteve, NovoNordisk and Idorsia. J.F. reported serving on the advisory boards, adjudication committees, or speaker honoraria from AC Immune, Adamed, Alzheon, Biogen, Eisai, Esteve, Fujirebio, Ionis, Laboratorios Carnot, Life Molecular Imaging, Lilly, Lundbeck, Novo Nordisk, Perha, Roche, Zambón, Spanish Neurological Society, T21 Research Society, Lumind foundation, Jérôme-Lejeune Foundation, Alzheimer’s Association, National Institutes of Health USA and Instituto de Salud Carlos III. J.F. reports holding a patent for markers of synaptopathy in neurodegenerative disease (licensed to ADx, WO2019175379).

Data availability

Raw anonymized data are available upon reasonable request. The code for statistical analysis is provided in [Supplementary File 2](#). All requests for data access should

be sent to the corresponding author, including a detailed description of the study hypothesis and statistical analysis plan. The steering committee of this study will decide whether data sharing is appropriate based on the novelty and scientific rigour of the proposal. All applicants will be asked to sign a data access agreement.

References

1. Bubu OM, Brannick M, Mortimer J, et al. Sleep, cognitive impairment, and Alzheimer’s disease: A systematic review and meta-analysis. *Sleep*. 2017;40(1).
2. Heneka M, Gauthier S, Chandekar SA, Hahn-Pedersen JH, Bentsen M, Zetterberg H. The role of neuroinflammation in Alzheimer’s disease: A systematic literature review (P7-9.013). *Neurology*. 2024; 102(7_supplement_1):3344.
3. Casagrande M, Forte G, Favieri F, Corbo I. Sleep quality and aging: A systematic review on healthy older people, mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(14):8457.
4. Rogers J. Principles for central nervous system inflammation research: A call for a consortium approach. *Alzheimers Dement*. 2018;14(11):1553-1559.
5. Lucey BP, Hicks TJ, McLeland JS, et al. Effect of sleep on overnight cerebrospinal fluid amyloid β kinetics. *Ann Neurol*. 2018;83(1): 197-204.
6. Ju YES, Ooms SJ, Sutphen C, et al. Slow wave sleep disruption increases cerebrospinal fluid amyloid- β levels. *Brain*. 2017;140(8): 2104-2111.
7. Varga AW, Wohlleber ME, Giménez S, et al. Reduced slow-wave sleep is associated with high cerebrospinal fluid A β 42 levels in cognitively normal elderly. *Sleep*. 2016;39(11):2041-2048.
8. Lucey BP, McCullough A, Landsness EC, et al. Reduced non-rapid eye movement sleep is associated with tau pathology in early Alzheimer’s disease. *Sci Transl Med*. 2019;11(474):eaau6550.
9. Ju YES, McLeland JS, Toedebusch CD, et al. Sleep quality and pre-clinical Alzheimer disease. *JAMA Neurol*. 2013;70(5):587.
10. Mander BA, Marks SM, Vogel JW, et al. β -amyloid disrupts human NREM slow waves and related hippocampus-dependent memory consolidation. *Nat Neurosci*. 2015;18(7):1051-1057.
11. Van Egroo M, Koshmanova E, Vandewalle G, Jacobs HIL. Importance of the locus coeruleus-norepinephrine system in sleep-wake regulation: Implications for aging and Alzheimer’s disease. *Sleep Med Rev*. 2022;62:101592.
12. Jacobs HIL, Becker JA, Kwong K, et al. In vivo and neuropathology data support locus coeruleus integrity as indicator of Alzheimer’s disease pathology and cognitive decline. *Sci Transl Med*. 2021;13(612):eabj2511.
13. Carvalho DZ, Louis S, Knopman EK, et al. Association of excessive daytime sleepiness with longitudinal β -amyloid accumulation in elderly persons without dementia. *JAMA Neurol*. 2018; 75(6):672.
14. Sharma RA, Varga AW, Bubu OM, et al. Obstructive sleep apnea severity affects amyloid burden in cognitively normal elderly. A longitudinal study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;197(7):933-943.
15. Spira AP, Gamaldo AA, An Y, et al. Self-reported sleep and β -amyloid deposition in community-dwelling older adults. *JAMA Neurol*. 2013;70(12):1537-1543.
16. Sprecher KE, Kosciak RL, Carlsson CM, et al. Poor sleep is associated with CSF biomarkers of amyloid pathology in cognitively normal adults. *Neurology*. 2017;89(5):445-453.
17. Lucey BP. It’s complicated: The relationship between sleep and Alzheimer’s disease in humans. *Neurobiol Dis*. 2020;144:105031.
18. Kwon HS, Koh SH. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: The roles of microglia and astrocytes. *Transl Neurodegener*. 2020;9(1):42.

19. Bjorkli C, Sandvig A, Sandvig I. Bridging the gap between fluid biomarkers for Alzheimer's disease, model systems, and patients. *Front Aging Neurosci.* 2020;12:272.
20. Minter MR, Taylor JM, Crack PJ. The contribution of neuroinflammation to amyloid toxicity in Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2016;136(3):457-474.
21. Fleeman RM, Proctor EA. Astrocytic propagation of tau in the context of Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci.* 2021;15:645233.
22. Eltom K, Mothes T, Libard S, Ingelsson M, Erlandsson A. Astrocytic accumulation of tau fibrils isolated from Alzheimer's disease brains induces inflammation, cell-to-cell propagation and neuronal impairment. *Acta Neuropathol Commun.* 2024;12(1):34.
23. Ingiosi AM, Frank MG. Goodnight, astrocyte: Waking up to astroglial mechanisms in sleep. *FEBS J.* 2023;290(10):2553-2564.
24. Postnov D, Semyachkina-Glushkovskaya O, Litvinenko E, Kurths J, Penzel T. Mechanisms of activation of brain's drainage during sleep: The nightlife of astrocytes. *Cells.* 2023;12(22):2667.
25. Irwin MR, Vitiello MV. Implications of sleep disturbance and inflammation for Alzheimer's disease dementia. *Lancet Neurol.* 2019;18(3):296-306.
26. Chatterjee P, Pedrini S, Stoops E, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein is elevated in cognitively normal older adults at risk of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry.* 2021;11(1):27.
27. Craig-Schapiro R, Perrin RJ, Roe CM, et al. YKL-40: A novel prognostic fluid biomarker for preclinical Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry.* 2010;68(10):903-912.
28. Milà-Alomà M, Salvadó G, Gispert JD, et al. Amyloid beta, tau, synaptic, neurodegeneration, and glial biomarkers in the preclinical stage of the Alzheimer's continuum. *Alzheimers Dement.* 2020;16(10):1358-1371.
29. Pelkmans W, Shekari M, Brugulat-Serrat A, et al. Astrocyte biomarkers GFAP and YKL-40 mediate early Alzheimer's disease progression. *Alzheimers Dement.* 2024;20(1):483-493.
30. Zhang P, Li YX, Zhang ZZ, et al. Astroglial mechanisms underlying chronic insomnia disorder: A clinical study. *Nat Sci Sleep.* 2020;12:693-704.
31. Targa A, Dakterzada F, Benítez I, et al. Decrease in sleep depth is associated with higher cerebrospinal fluid neurofilament light levels in patients with Alzheimer's disease. *Sleep.* 2021;44(2):zsaa147.
32. Fjell AM, Idland AV, Sala-Llanch R, et al. Neuroinflammation and tau interact with amyloid in predicting sleep problems in aging independently of atrophy. *Cereb Cortex.* 2018;28(8):2775-2785.
33. Zhang P, Tan CW, Chen GH, et al. Patients with chronic insomnia disorder have increased serum levels of neurofilaments, neuron-specific enolase and S100B: Does organic brain damage exist? *Sleep Med.* 2018;48:163-171.
34. Macheda T, Roberts K, Lyons DN, et al. Chronic intermittent hypoxia induces robust astrogliosis in an Alzheimer's disease-relevant mouse model. *Neuroscience.* 2019;398:55-63.
35. Carvalhas-Almeida C, Serra J, Moita J, Cavadas C, Álvaro AR. Understanding neuron-glia crosstalk and biological clocks in insomnia. *Neurosci Biobehav Rev.* 2023;147:105100.
36. Fortea J, Pegueroles J, Alcolea D, et al. APOE4 homozygosity represents a distinct genetic form of Alzheimer's disease. *Nat Med.* 2024;30(5):1284-1291.
37. Spira AP, An Y, Peng Y, et al. APOE genotype and nonrespiratory sleep parameters in cognitively intact older adults. *Sleep.* 2017;40(8):zsx076.
38. Drogos LL, Gill SJ, Tyndall AV, et al. Evidence of association between sleep quality and APOE ϵ 4 in healthy older adults: A pilot study. *Neurology.* 2016;87(17):1836-1842.
39. Wang C, Nambiar A, Strickland MR, et al. APOE- ϵ 4 synergizes with sleep disruption to accelerate A β deposition and A β -associated tau seeding and spreading. *J Clin Invest.* 2023;133(14):e169131.
40. Gottlieb DJ, DeStefano AL, Foley DJ, et al. APOE ϵ 4 is associated with obstructive sleep apnea/hypopnea: The Sleep Heart Health Study. *Neurology.* 2004;63(4):664-668.
41. Kadotani H. Association between apolipoprotein E ϵ 4 and sleep-disordered breathing in adults. *JAMA.* 2001;285(22):2888.
42. Jackson RJ, Meltzer JC, Nguyen H, et al. APOE4 derived from astrocytes leads to blood-brain barrier impairment. *Brain.* 2022;145(10):3582-3593.
43. Blumenfeld J, Yip O, Kim MJ, Huang Y. Cell type-specific roles of APOE4 in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci.* 2024;25(2):91-110.
44. Parhizkar S, Holtzman DM. APOE mediated neuroinflammation and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Semin Immunol.* 2022;59:101594.
45. Kloske CM, Wilcock DM. The important interface between apolipoprotein E and neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Front Immunol.* 2020;11:754.
46. Ferrucci L, Fabbri E. Inflammageing: Chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15(9):505-522.
47. Baril AA, Beiser AS, Redline S, et al. Systemic inflammation as a moderator between sleep and incident dementia. *Sleep.* 2021;44(2):zsaa164.
48. Boulos MI, Jairam T, Kendzerska T, Im J, Mekhael A, Murray BJ. Normal polysomnography parameters in healthy adults: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med.* 2019;7(6):533-543.
49. Mander BA, Dave A, Lui KK, et al. Inflammation, tau pathology, and synaptic integrity associated with sleep spindles and memory prior to β -amyloid positivity. *Sleep.* 2022;45(9):zsac135.
50. Blackman J, Morrison HD, Lloyd K, et al. The past, present, and future of sleep measurement in mild cognitive impairment and early dementia—Towards a core outcome set: A scoping review. *Sleep.* 2022;45(7):zsac077.
51. Sangalli L, Boggero IA. The impact of sleep components, quality and patterns on lymphatic system functioning in healthy adults: A systematic review. *Sleep Med.* 2023;101:322-349.
52. Bianchi MT, Williams KL, McKinney S, Ellenbogen JM. The subjective-objective mismatch in sleep perception among those with insomnia and sleep apnea. *J Sleep Res.* 2013;22(5):557-568.
53. Altuna M, García-Sebastián M, Ecay-Torres M, et al. Prevalence and misperception: Exploring the gap between objective and subjective assessment of sleep apnea in a population at increased risk for dementia. *J Clin Med.* 2025;14(8):2607.
54. Alcolea D, Clarimón J, Carmona-Iragui M, et al. The Sant Pau Initiative on Neurodegeneration (SPIN) cohort: A data set for biomarker discovery and validation in neurodegenerative disorders. *Alzheimers Dement.* 2019;5(1):597-609.
55. Buysse DJ, Reynolds CF, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: A new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989;28(2):193-213.
56. Chiner E, Arriero JM, Signes-Costa J, Marco J, Fuentes I. Validación de la versión española del test de somnolencia Epworth en pacientes con síndrome de apnea de sueño. *Arch Bronconeumol.* 1999;35(9):422-427.
57. Netzer NC, Hoegel JJ, Loube D, et al. Prevalence of symptoms and risk of sleep apnea in primary care. *Chest.* 2003;124(4):1406-1414.
58. Alcolea D, Pegueroles J, Muñoz L, et al. Agreement of amyloid PET and CSF biomarkers for Alzheimer's disease on Lumipulse. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019;6(9):1815-1824.
59. Arranz J, Zhu N, Rubio-Guerra S, et al. Diagnostic performance of plasma pTau217, pTau181, A β 1-42 and A β 1-40 in the LUMIPULSE automated platform for the detection of Alzheimer disease. *Alzheimers Res Ther.* 2024;16(1):139.
60. Giménez S, Altuna M, Blessing E, Osorio RM, Fortea J. Sleep disorders in adults with down syndrome. *J Clin Med.* 2021;10(14):3012.
61. Giménez S, Videla L, Romero S, et al. Prevalence of sleep disorders in adults with down syndrome: A comparative study of self-reported, actigraphic, and polysomnographic findings. *J Clin Sleep Med.* 2018;14(10):1725-1733.
62. Berry RB, Brooks R, Gamaldo C, et al. AASM scoring manual updates for 2017 (version 2.4). *J Clin Sleep Med.* 2017;13(05):665-666.

63. Migliorelli C, Bachiller A, Andrade AG, et al. Alterations in EEG connectivity in healthy young adults provide an indicator of sleep depth. *Sleep*. 2019;42(6):zs081.
64. Terzano MG, Parrino L, Sherieri A, et al. Atlas, rules, and recording techniques for the scoring of cyclic alternating pattern (CAP) in human sleep. *Sleep Med*. 2001;2(6):537-553.
65. Del Campo M, Mollenhauer B, Bertolotto A, et al. Recommendations to standardize preanalytical confounding factors in Alzheimer's and Parkinson's disease cerebrospinal fluid biomarkers: An update. *Biomark Med*. 2012;6(4):419-430.
66. Alcolea D, Martínez-Lage P, Sánchez-Juan P, et al. Amyloid precursor protein metabolism and inflammation markers in preclinical Alzheimer disease. *Neurology*. 2015;85(7):626-633.
67. Zhu N, Santos-Santos M, Illán-Gala I, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein and neurofilament light chain for the diagnostic and prognostic evaluation of frontotemporal dementia. *Transl Neurodegener*. 2021;10(1):50.
68. Carmona-Iragui M, Balasa M, Benjam B, et al. Cerebral amyloid angiopathy in Down syndrome and sporadic and autosomal-dominant Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2017;13(11):1251-1260.
69. Wu R, Tripathy S, Menon V, et al. Fragmentation of rest periods, astrocyte activation, and cognitive decline in older adults with and without Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2023;19(5):1888-1900.
70. Bellesi M, De Vivo L, Chini M, Gilli F, Tononi G, Cirelli C. Sleep loss promotes astrocytic phagocytosis and microglial activation in mouse cerebral cortex. *J Neurosci*. 2017;37(21):5263-5273.
71. Liu KY, Reeves S, McAleese KE, et al. Neuropsychiatric symptoms in limbic-predominant age-related TDP-43 encephalopathy and Alzheimer's disease. *Brain*. 2020;143(12):3842-3849.
72. Tarasoff-Conway JM, Carare RO, Osorio RS, et al. Clearance systems in the brain—Implications for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2015;11(8):457-470.
73. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med*. 2012;4(147):147ra111.
74. Oeckl P, Weydt P, Steinacker P, et al. Different neuroinflammatory profile in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia is linked to the clinical phase. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90(1):4-10.
75. Liu H, Barthélemy NR, Ovod V, et al. Acute sleep loss decreases CSF-to-blood clearance of Alzheimer's disease biomarkers. *Alzheimers Dement*. 2023;19(7):3055-3064.
76. Kurogi Y, Sanagi T, Ono D, Tsunematsu T. Chemogenetic activation of astrocytes modulates sleep–wakefulness states in a brain region-dependent manner. *Sleep Adv*. 2024;5(1):zpa091.
77. Teng X, Mao S, Wu H, et al. The relationship between serum neurofilament light chain and glial fibrillary acidic protein with the REM sleep behavior disorder subtype of Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2023;165(2):268-276.
78. Liguori C, Fernandes M, Zatti C, et al. Plasma NfL, GFAP and pTau181 in patients with isolated REM sleep behaviour disorder. *Sleep*. 2025;zsaf163. Epub ahead of print.
79. Ettore E, Bakardjian H, Solé M, et al. Relationships between objectives sleep parameters and brain amyloid load in subjects at risk for Alzheimer's disease: The INSIGHT-preAD study. *Sleep*. 2019;42(9):zs137.
80. Kahya M, Vidoni E, Burns JM, Thompson AN, Meyer K, Siengskun CF. The relationship between apolipoprotein $\epsilon 4$ carrier status and sleep characteristics in cognitively normal older adults. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 2017;30(5):273-279.
81. Blackman J, Love S, Sinclair L, Cain R, Coulthard E. APOE $\epsilon 4$, Alzheimer's disease neuropathology and sleep disturbance, in individuals with and without dementia. *Alzheimers Res Ther*. 2022;14(1):47.
82. Garaschuk O, Semchyshyn HM, Lushchak VI. Healthy brain aging: Interplay between reactive species, inflammation and energy supply. *Ageing Res Rev*. 2018;43:26-45.
83. Ingiosi AM, Opp MR, Krueger JM. Sleep and immune function: Glial contributions and consequences of aging. *Curr Opin Neurobiol*. 2013;23(5):806-811.
84. Van Egroo M, Beckers E, Ashton NJ, Blennow K, Zetterberg H, Jacobs HIL. Sex differences in the relationships between 24-h rest-activity patterns and plasma markers of Alzheimer's disease pathology. *Alzheimers Res Ther*. 2024;16(1):277.

5.3. Artículo 3

Impacto de la enfermedad de Alzheimer sobre el sueño en adultos con síndrome de Down

Giménez S, Vaqué-Alcázar L, Zhu N, Benejam B, Arranz J, Maure-Blesa L, Videla L, Carmona-Iragui M, Barroeta I, Rebillat AS, Rodríguez-Baz Í, Bejanin A, Arriola-Infante JE, Bueno A, Fernandez S, Ribas L, Zsadanyi SE, Morcillo-Nieto AO, Alcolea D, Lisgaras CP, Blessing E, Osorio RS, Lleó A, Fortea J. Impact of Alzheimer's disease on sleep in adults with Down syndrome. *Alzheimers Dement.* 21(7):e70400.

<https://doi.org/10.1002/alz.70400>. IF 11,1 (2024). Q1 (2024)

Received: 21 January 2025 | Revised: 31 March 2025 | Accepted: 21 April 2025

DOI: 10.1002/alz.70400

RESEARCH ARTICLE

Alzheimer's & Dementia®
THE JOURNAL OF THE ALZHEIMER'S ASSOCIATION

Impact of Alzheimer's disease on sleep in adults with Down syndrome

Sandra Giménez^{1,2,3}  | Lidia Vaqué-Alcázar^{2,4} | Nuole Zhu² | Bessy Benejam^{2,5} | Javier Arranz² | Lucia Maure-Blesa² | Laura Videla^{2,3,5} | Maria Carmona-Iragui^{2,3,5} | Isabel Barroeta^{2,3} | Anne-Sophie Rebillat⁶ | Íñigo Rodríguez-Baz^{2,3} | Alexandre Bejanin^{2,3} | José Enrique Arriola-Infante^{2,3} | Ana Bueno² | Susana Fernandez⁵ | Laia Ribas^{2,3} | Sara E. Zsadanyi² | Alejandra O. Morcillo-Nieto² | Daniel Alcolea^{2,3} | Christos Panagiotis Lisgaras^{7,8} | Esther Blessing^{7,8} | Ricardo S. Osorio^{7,8} | Alberto Lleó^{2,3} | Juan Fortea^{2,3,5}

¹Multidisciplinary Sleep Unit, Respiratory Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Biomedical Research Institute Sant Pau (IIB SANT PAU), Barcelona, Spain²Sant Pau Memory Unit, Department of Neurology, Biomedical Research Institute Sant Pau (IIB SANT PAU), Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain³Center of Biomedical Investigation Network for Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), Madrid, Spain⁴Department of Medicine, Faculty of Medicine and Health Sciences, Institute of Neurosciences, University of Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain⁵Barcelona Down Medical Center, Fundació Catalana de Síndrome de Down, Barcelona, Spain⁶Institut Jérôme Lejeune, Paris, France⁷Department of Psychiatry, New York University Langone Health, New York, New York, USA⁸The Nathan S. Kline Institute for Psychiatric Research, New York State Office of Mental Health, Albany, New York, USA

Correspondence

Sandra Giménez, Multidisciplinary Sleep Unit, Respiratory Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Biomedical Research Institute Sant Pau (IIB SANT PAU), Barcelona, Spain.
Email: SGimenez@santpau.cat

Funding information

Instituto de Salud Carlos III, Grant/Award Numbers: INT21/00073, PI20/01473, PI23/01786, PI20/00836, PI18/00335, PI22/00758, ICI23/00032, PI18/00435, PI14/1561, PI20/01330, PI22/00307; Fondo Europeo de Desarrollo Regional, Unión Europea; Una Manera de Hacer Europa; National Institutes of Health, Grant/Award Numbers: R01 AG056850, R21 AG056974,

Abstract

INTRODUCTION: Down syndrome (DS) is a genetic form of Alzheimer's disease (AD), with a high prevalence of sleep disorders, but data in adults with DS and dementia are lacking. We aim to assess sleep in adults with DS across the AD continuum.

METHODS: We studied 78 healthy controls and 229 adults with DS (154 asymptomatic, 25 with prodromal AD, and 75 with AD) with subjective sleep measures and objective nocturnal polysomnography.

RESULTS: Adults with DS presented worse sleep quality and higher prevalence of unnoticed obstructive sleep apnea (OSA) than controls. Sleep disruption and OSA severity increased across the AD continuum. Age-related decreases in slow-wave sleep and rapid eye movement sleep were more pronounced in the DS group. Subjective sleep measures did not capture sleep disorders.

Sandra Giménez and Lidia Vaqué-Alcázar contributed equally to this study and share first authorship.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

© 2025 The Author(s). *Alzheimer's & Dementia* published by Wiley Periodicals LLC on behalf of Alzheimer's Association.

R01 AG061566, R01 AG081394, R61AG066543, 1RF1AG080769-01; Global Brain Health Institute, Grant/Award Number: GBHI_ALZ-23-971107; Jérôme Lejeune Foundation, Grant/Award Number: #1801 Cycle 2020; Fundación Tatiana Pérez de Guzmán el Bueno, Grant/Award Number: IIBSP-DOW-2020-151; Horizon 2020-Research and Innovation Framework Programme from the European Union, Grant/Award Number: H2020-SC1-BHC-2018-2020; Sara Borrell Postdoctoral Fellowship, Grant/Award Number: CD23/00235.; Río Hortega Fellowship, Grant/Award Number: CM21/00113; Miguel Servet, Grant/Award Number: CP20/00038; European Union, Grant/Award Number: AARG-22-923680; Ajuntament de Barcelona; Fundació La Caixa, Grant/Award Number: 23S06157-001; National Institute on Aging, Grant/Award Number: R21AG086880; Fundació Bancaria Caixa d'Estalvis i Pensions de Barcelona, Grant/Award Number: 23S06157-001; H2020 European Institute of Innovation and Technology, Grant/Award Number: H2020-SC1-BHC-2018-2020; Jerome Foundation, Grant/Award Number: 1801 Cycle 2020; Fondation Jérôme Lejeune, Grant/Award Number: 1913 cycle 2019B; Alzheimer's Association, Grant/Award Number: AARG-22-923680; Foundation for the National Institutes of Health, Grant/Award Number: 1RF1AG080769-01

CONCLUSIONS: In DS, AD is linked to worse sleep disturbances and altered architecture. However, longitudinal studies are needed to clarify directionality and disease progression.

KEYWORDS

Alzheimer's disease, Down syndrome, obstructive sleep apnea, polysomnography, rapid eye movement sleep, sleep, slow-wave sleep

Highlights

- Down syndrome (DS) is associated with increased slow-wave sleep (SWS) and reduced rapid eye movement (REM) sleep.
- Obstructive sleep apnea prevalence increases along the Alzheimer's disease continuum in DS.
- Age-related decreases in SWS and REM sleep are accelerated in DS.
- Subjective sleep measures do not detect sleep disturbances in adults with DS.

1 | BACKGROUND

Down syndrome (DS) represents the largest genetic form of Alzheimer's disease (AD), affecting millions of people worldwide.^{1,2} The triplication of the amyloid precursor protein (*APP*) gene on chromosome 21 is the main driver that accelerates amyloid beta ($A\beta$) production, resulting in early accumulation of amyloid plaques and subsequent tau deposition, in the brains of individuals with DS before their fourth decade of life. Notably, AD biomarker changes during the preclinical stage strikingly mirror those observed in both sporadic AD and autosomal dominant AD (ADAD).^{3,4} The age of AD dementia onset in adults with DS occurs on average at age 54,⁵ 20 to 30 years younger compared to sporadic AD. However, there remains considerable variability in age of symptom onset among individuals with DS-associated AD (DSAD), and the factors that underlie this variability are still unknown. Sleep disorders have been proposed as a potential modifiable factor contributing to this variability.

The triplication of chromosome 21 confers other phenotypic and physiological traits, such as a small oropharynx and hypotonia, that predispose individuals with DS to obstructive sleep apnea (OSA). OSA is the most common sleep-disordered breathing (SDB) disorder in individuals with DS, characterized by repeated episodes of upper airway collapse, leading to sleep fragmentation and chronic intermittent hypoxia.^{6,7} The high incidence of OSA in DS is primarily driven by

anatomical abnormalities like midfacial and mandibular hypoplasia, macroglossia, glossoptosis, and adenotonsillar hypertrophy, which narrow the upper airway and increase airway collapsibility.^{8,9} Additional factors, such as hypotonia and increased mucosal secretions, further worsen airway obstruction. Central sleep apnea (CSA), a less prevalent form of SDB, occurs more frequently in infants with DS due to brain-stem abnormalities, congenital heart disease, and impaired ventilatory control. While CSA decreases with age, it can persist in adults with neurological impairments or cardiac dysfunction.¹⁰ In contrast, OSA generally worsens with age due to airway tone changes, obesity, and untreated hypothyroidism.¹¹ The prevalence of OSA in adults with DS ranges from 65% to 100%.^{7,11,12} This variability may result from differences in diagnostic methods, imbalance in referrals from DS clinics, or overestimations from clinical suspicion of OSA, indicating a potential bias in OSA prevalence estimates.¹²

In the euploid population, increasing evidence demonstrates a bidirectional relationship between sleep disturbances and AD.^{13,14} Amyloid and tau levels follow a circadian rhythm, with increased production during the day and greater clearance during the night, particularly during slow-wave sleep (SWS).^{15,16} OSA is increasingly recognized as a risk factor for AD.¹⁷ Derived sleep fragmentation and chronic hypoxia may impair clearance mechanisms, leading to the accumulation of amyloid and tau proteins and potentially accelerating AD pathophysiology.^{18–20} Conversely, AD dementia negatively impacts sleep quality, leading to

increased sleep disruption and a higher prevalence of OSA, beyond what is typically expected with normal aging.²¹

The DS population is therefore uniquely predisposed to both OSA and AD, but the intersection and the relationship between these disorders have rarely been investigated. Only one study has examined the association between sleep disruptions, assessed through actigraphy, and amyloid accumulation in cognitively stable individuals.²² No study has assessed the sleep architecture or sleep disorders across the AD continuum in adults with DS. Understanding these sleep changes and disorders along the AD continuum is crucial for elucidating the interplay between sleep disruption and AD in this population. Early diagnosis and effective treatment of sleep disturbances could potentially slow neuropathological processes and delay the progression to dementia.

Accordingly, in this study we aimed to assess the prevalence of sleep disorders in adults with DS using both self-reported and objective sleep assessments by nocturnal polysomnography (NPSG) in a large community-based population. Furthermore, we sought to characterize the progression of sleep-related variables across the AD continuum and to investigate age-related differences in these measures between individuals with DS and a healthy control (HC) group composed of cognitively unimpaired euploid adults.

2 | METHODS

2.1 | Study design and participants

This single-center cross-sectional analytical study included 229 adults with DS of both sexes recruited from the population-based Down Alzheimer Barcelona Neuroimaging Initiative (DABNI), established as a multimodal AD biomarker study to comprehensively integrate clinical, cognitive, and biomarker data in adults with DS starting at age 18. Building on the first population-based screening program for neurological conditions in DS, created by the Hospital of Sant Pau and the Catalan Foundation for Down Syndrome in Barcelona, DABNI is a longitudinal cohort designed to advance interventions and clinical research in DSAD using an extensive multimodal biomarker assessment.³ A sample of 78 HC euploid adults from the Sant Pau Initiative on Neurodegeneration (SPIN) cohort²³ in Barcelona was also included. All participants underwent a full medical, neurological, neuropsychological, and sleep evaluation.

The study was approved by the clinical research ethics committee at Sant Pau Hospital following the principles stated in the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from all parents or legal caregivers, and assent was acquired from the participants before enrollment.

2.2 | Clinical assessment

The participants with DS were screened for apolipoprotein E (APOE) haplotype and underwent a comprehensive neurological and neu-

RESEARCH IN CONTEXT

- 1. Systematic review:** The authors conducted a literature review using traditional sources (e.g., PubMed). Prior research has established a bidirectional relationship between sleep disturbances and Alzheimer's disease (AD). Although individuals with Down syndrome (DS), a genetic form of AD, exhibit a high prevalence of sleep disorders, the specific impact of AD pathology on sleep disruption in this population has not been investigated.
- 2. Interpretation:** Our findings suggest that AD pathology exacerbates sleep disturbances in adults with DS, contributing to an accelerated age-related decline in sleep quality compared to healthy controls and suggesting that neurodegeneration may amplify age-related changes in DS.
- 3. Future directions:** Longitudinal and multimodal studies are necessary to explore whether sleep disturbances accelerate the progression to dementia in DS and to validate potential sleep-related biomarkers for AD. Routine objective screening for sleep disorders should be implemented to improve diagnosis and treatment, potentially mitigating cognitive decline in this population.

ropsychological evaluation.^{24,25} Additionally, medical profile data, including body mass index (BMI), presence of hypertension (HT), diabetes mellitus (DM), dyslipidemia (DLP), and current treatments, were collected for each subject.

The *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder, Fifth Edition*, the caregivers' reports of the individuals' best-ever level of functioning, and the score of the Kaufman Brief Intelligence Test (KBIT) Spanish version were used to stratify the level of intellectual disability (ID) as mild, moderate, or severe/profound. Global cognition was assessed using a Spanish version of the Cambridge Cognitive Examination for Older Adults with Down Syndrome (CAMCOG-DS), a cognitive battery that evaluates orientation, language, memory, attention, praxis, abstract thinking, and perception. As in previous studies,^{3,24} after a semi-structured interview with caregivers, a detailed neurological examination, and a neuropsychological assessment, participants were clinically classified into three groups based on their clinical stage in the AD continuum: (1) asymptomatic (aDS) when there was no clinical or neuropsychological suspicion of AD-related cognitive decline; (2) prodromal AD (pDS) when there was evidence of cognitive decline due to AD, but no significant impact on baseline activities of daily living; and (3) AD dementia (dDS) when the cognitive decline impaired daily activities. This classification was made during a consensus meeting between neurologists and neuropsychologists. Individuals with a history of conditions that could affect brain structure or function (such as stroke or traumatic brain injury), and the use of new psychoactive drugs in the 3

months preceding the sleep studies were excluded from the study. Of note, sleep complaints were not considered in the inclusion criteria.

The euploid control group exhibited no cognitive complaints, scoring 0 on the Clinical Dementia Rating scale, and their neuropsychological evaluation was within the normal range for their respective normative groups regarding age and education. None of the participants in the HC group reported any neurological or psychiatric disorders, or other major medical illnesses.

2.3 | Study protocol

All participants underwent a full sleep evaluation with subjective and objective sleep measures. Participants were given a notebook that included sleep questionnaires to be completed by the caregivers in the DS group. The sleep questionnaires included the validated Spanish version of the following scales: the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) to assess patients' self-reports of sleep quality;²⁶ the Epworth Sleepiness Scale (ESS) to evaluate somnolence (with a modification of the last question about the DS person as a passenger in a car while stopped for a few minutes in traffic);²⁷ and the Berlin Questionnaire (BQ), Stop Bang (SB), and the Advanced Platform for Sleep Apnea Syndrome Assessment (PASHOS) Questionnaire to identify participants at risk for OSA syndrome.^{28,29}

All participants underwent full in-laboratory NPSG. Sleep recordings were performed in individual, sound-attenuated, temperature-regulated rooms in the sleep laboratory, and supervised by qualified technicians as described in our previous works.⁷ Briefly, all-night video NPSG recordings included 19 electroencephalography (EEG) channels according to the international electrode placement system, bilateral electrooculogram, four surface mentalis, flexor digitorum superficialis, and anterior tibialis electromyographic channels to register atonia and leg and arm movements, and six channels to monitor respiratory function, including pulse oximetry, oronasal airflow using a thermistor and nasal cannula, thoracoabdominal movements and a microphone to detect snoring electrocardiogram, and a body position sensor.

NPSG sleep data were acquired by means of the Compumedics E Series System with Profusion Sleep Software (Compumedics PSG3 version 3.4). Sleep stages and derived sleep variables were visually scored for 30 second epochs according to the standard criteria for sleep and EEG arousals according to the American Academy of Sleep Medicine guidelines by an accredited technologist.³⁰ See Figure S1 in supporting information for further details regarding the study protocol.

2.4 | Sleep data

The measured sleep architecture parameters were: total sleep time (TST [minutes]), sleep efficiency (SE [%], calculated as TST/time in bed), sleep latency (SL [minutes], defined as the time spent awake until the

first epoch of sleep), wake after sleep onset (WASO), latency to rapid eye movement (REM) sleep (LREM [minutes], defined as the time until the first epoch of REM sleep), the time spent in no-REM (NREM) sleep stages N1 (NREM-N1), N2 (NREM-N2), N3 (NREM-N3) and REM sleep (%), number of awakenings (NAW), arousal index (AI, as number of arousals per hour of sleep), and respiratory arousal index (RA, number of arousals related to respiratory event calculated by the number of apnea or hypopnea events per hour of sleep).

Respiratory variables included average oxygen saturation (basal SpO₂ [%]), oxygen desaturation index (ODI, defined as the number of oxygen desaturations $\geq 3\%$ per hour of sleep), and the percentage of total sleep time during which the oxygen saturation (SpO₂) remains below 90% (T90). The apnea-hypopnea index (AHI) was defined as the sum of all apneas (absence of airflow for ≥ 10 seconds) and all hypopneas (any airflow reduction for at least 10 seconds that resulted in cortical awakening or desaturations $\geq 3\%$) per hour of sleep. For a more precise characterization of this measure, both central AHI (cAHI) and obstructive AHI (oAHI) were analyzed. Participants were categorized into three severity groups of OSA according to the AHI (i.e., sum of all apneas and hypopneas): 5.0 to 14.9 events/hour (mild OSA), 15 to 29.9 events/hour (moderate OSA), and > 30.0 events/hour (severe OSA). For additional analyses detailed in the supporting information, OSA groups were also defined using oAHI measures, but applying the same cutoffs.

2.5 | Statistical analyses

Sample sizes (229 individuals with DS and 78 HCs) were based on effect sizes from previous studies, including our earlier work with 54 DS participants,⁷ which showed sufficient power to detect sleep alterations. In this study, we expanded the DS cohort to enhance statistical power, support subgroup analyses, and better capture population variability. Detailed power calculation methods are provided in the supporting information (1.1). All statistical analyses were performed with R software, version 4.3.3. After confirming with the Shapiro-Wilk test that most of the continuous variables of interest did not follow a normal distribution, we applied general linear models (GLM) when assessing differences between groups: (1) HC versus DS, (2) aDS versus sDS (considering together pDS and dDS), and (3) clinical status within DS (aDS, pDS, dDS)—data shown in supporting information. For sleep variable analyses, age, sex, and BMI were included as covariables in our models for the group comparisons performed between HC and DS, while the comparisons within the DS group were not adjusted by age. After identifying significant group differences through the GLM, post hoc pairwise comparisons were performed using the Tukey honestly significant difference (HSD) test to assess specific differences by-pairs. Chi-squared, or Fisher exact tests (when necessary due to the low frequencies observed), were used for categorical variables, such as sex, clinical data, or OSA status and severity. Also, GLMs adjusted by sex and BMI were carried out to test group interactions in the association between the sleep variables studied and age.

TABLE 1 Participants' demographic characteristics and medical data.

	HC N = 78	DS N = 229	p value	aDS N = 154	sDS N = 75	p value
Age						
mean (SD) years	54.4 (13.3)	42.0 (11.6)	< 0.001***	37.0 (10.3)	52.3 (5.95)	< 0.001***
Sex						
Female, n (%)	46 (59.0)	102 (44.5)	0.038*	65 (42.2%)	37 (49.3%)	0.381
ID			/			0.097
Mild, n (%)		80 (34.9%)		62 (40.3%)	18 (24.0%)	
Moderate, n (%)		116 (50.7%)		72 (46.8%)	44 (58.7%)	
Severe/profound, n (%)		26 (9.4%)		15 (8.7%)	11 (14.7%)	
BMI						
mean (SD) - kg/m ²	25.6 (4.45)	27.9 (5.36)	< 0.001***	28.4 (5.67)	26.8 (4.47)	0.038*
APOE						
ε4 carriers, n (%)	8 (10.3%)	37 (16.2%)	0.545	22 (14.3%)	15 (20.0%)	0.535
Vascular risk factors						
HT, n (%)	13 (16.7%)	6 (2.6%)	< 0.001***	4 (2.6%)	2 (2.7%)	1
DM, n (%)	3 (3.8%)	5 (2.2%)	0.675	4 (2.6%)	1 (1.3%)	0.912
DLP, n (%)	15 (19.2%)	34 (14.8%)	0.416	20 (13.0%)	14 (18.7%)	0.325
Treatment						
Use of any psychotropic medication, n (%)	9 (11.6%)	54 (23.6%)	0.427	32 (20.8%)	22 (29.3%)	0.206

Note: Continuous data are mean (SD) and categorical data are n (%). Statistical differences with asterisks denoting significance thresholds: ***($p < 0.001$), **($p < 0.01$), and *($p < 0.05$).

Abbreviations: aDS, asymptomatic Down syndrome; APOE, apolipoprotein E; BMI, body mass index; DLP, dyslipidemia; DM, diabetes mellitus; DS, Down syndrome; HC, euploid cognitively unimpaired healthy controls; HT, hypertension; ID, intellectual disability; SD, standard deviation; sDS, Down syndrome symptomatic for Alzheimer's disease dementia.

3 | RESULTS

3.1 | Participant characteristics

See Table 1 for demographic data. Individuals in the DS group covered the whole AD continuum: 154 aDS, 25 pDS, and 50 dDS. The HC group was significantly older than the DS group ($t = 7.87$, $P < 0.001$) and, as expected, was significantly higher among those with sDS compared to aDS ($t = 11.85$, $P < 0.001$). Also, there were more females in the HC group than in the DS group ($\chi^2 = 4.293$, $P = 0.038$), but an equal distribution of sexes across the AD continuum in DS participants. No significant between-group differences were found for APOE ε4 status.

The DS participants had a higher BMI than the HCs ($t = 3.409$, $P < 0.001$). A total of 62 adults with DS were obese (BMI > 30 kg/m²), 91 were overweight, and 76 had a normal BMI (BMI 18 to < 25 kg/m²). Only 2.6% of individuals with DS presented with HT, a significantly lower proportion compared to the HC group ($\chi^2 = 18.016$, $P < 0.001$). Additionally, there were no significant differences between groups for dyslipidemia and diabetes mellitus. A substantial number of individuals with DS presented with hypothyroidism ($N = 98$, 42.8%) and epilepsy ($N = 24$, 10.5%), with these conditions becoming more prevalent as AD progresses (hypothyroidism: aDS 39.0% vs. sDS 50.7%, $P > 0.05$; epilepsy: aDS 6.5% vs. sDS

18.7%, $\chi^2 = 5.831$, $P = 0.015$). There were no significant differences regarding treatment between the DS and HC groups.

Moreover, it is important to highlight that there were no significant differences in age, or sleep measures, among DS on medication and those who were not taking an active treatment with psychotropics, except for the subjective measure PSQI ($t = 3.600$, $P < 0.001$; see next section). Further details regarding these measures within the AD continuum in the DS groups are reported in Table S1 in supporting information.

3.2 | Subjective sleep questionnaires

There were no major differences in means of subjective sleep quality or in somnolence measures between HC and DS groups. The ESS questionnaire was the only subjective sleep measure that showed a higher score (i.e., sleepiness) in DS compared to HC individuals ($t = 2.496$, $P = 0.013$; see Table 2).

In the DS group, the mean values of sleep quality and somnolence were within the normal limits: (1) PSQI suggested sleep disorders (PSQI > 5) in 86 participants (37.55%), and (2) ESS suggested somnolence (ESS > 10) in 15 participants (6.55%). However, both measures were able to significantly detect worse sleep quality (PSQI: $t = 3.190$,

TABLE 2 Sleep questionnaire scores for both groups (HC and DS) and within the DS group split by asymptomatic AD (aDS) and symptomatic AD (sDS).

	HC N = 78	DS N = 229	p value	aDS N = 154	sDS N = 75	p value
PSQI						
Mean (SD)	5.35 (3.19)	4.57 (3.25)	0.201	4.14 (2.99)	5.56 (3.60)	0.017*
ESS						
Mean (SD)	5.97 (3.80)	7.04 (5.00)	0.013*	6.06 (4.29)	9.15 (5.75)	< 0.001***
BQ						
High risk, n (%)	5 (6.4%)	20 (8.7%)	0.576	13 (8.4%)	7 (9.3%)	0.921
PASHOS						
Mean (SD)	3.44 (2.69)	5.07 (3.14)	0.297	4.70 (3.07)	4.49 (3.04)	0.175
SB						
High risk, n (%)	2 (2.6%)	15 (8.7%)	0.282	11 (7.1%)	4 (5.3%)	0.285

Note: Continuous data are mean (SD) and categorical data are n (%). Statistical differences (adjusted by age, sex, and BMI) with asterisks denoting significance thresholds: ***($p < 0.001$), **($p < 0.01$), And *($p < 0.05$).

Abbreviations: aDS, asymptomatic Down syndrome; BMI, body mass index; BQ, Berlin Questionnaire; DS, Down syndrome; ESS, Epworth Sleepiness Scale; HC, euploid cognitively unimpaired healthy controls; PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index; SB, Stop Bang; PASHOS, Advanced Platform for Sleep Apnea Syndrome Assessment; SD, standard deviation; sDS, Down syndrome symptomatic for Alzheimer's disease dementia.

$P = 0.017$; remains significant when adjusting by treatment) and an increase in somnolence (ESS: $t = 4.267$, $P < 0.001$) in sDS compared to aDS (see Table S2 in supporting information for further details considering aDS, pDS, and dDS subgroups). None of the OSA screening questionnaires (i.e., BQ, PASHOS, SB) was able to detect differences in OSA risk between HC and DS participants nor across AD stages in the DS group (Table 2).

3.3 | Objective sleep questionnaires

3.3.1 | Sleep macrostructure

Compared to the HC group, adults with DS presented worse sleep maintenance measures, with significantly less TST and SE, and an increased REML (all p values < 0.001 ; see Table 3). Concerning sleep architecture measures, the percentage of superficial sleep (i.e., NREM-N1) was increased in DS (15.6%) in relation to HC participants (11.7%) but did not reach significance. Nevertheless, participants with DS (independent of AD status), significantly showed a higher percentage of NREM-N3 (or SWS; $t = 3.277$, $P < 0.001$) and a marked decrease in REM sleep compared to those in the control group ($t = 11.765$, $P < 0.001$); see Figure 1.

Sleep maintenance and sleep architecture measures worsened across the AD continuum but did not reach significance. As AD progressed, TST and SE decreased, as well as REM sleep (8.37% in aDS, 7.73% in pDS, and 6.72% in dDS; $P = 0.177$), and in NREM-N3 (27.5% in aDS to 23.7% in dDS; $P = 0.223$). See Table S3 in supporting information for further details considering aDS, pDS, and dDS subgroups.

3.3.2 | Respiratory measures

NPSG results showed that hypoxemic OSA sleep-related measures (ODI and T90), SpO₂, and RA index were significantly impaired in individuals with DS compared to the HC group (ODI: $t = 6.328$, $P < 0.001$; T90: $t = 4.458$, $P < 0.001$; SpO₂: $t = 3.870$, $P < 0.001$; RA: $t = 6.146$, $P < 0.001$; see Table 3).

The same statistical differences were replicated within the DS populations when comparing aDS versus sDS (ODI: $t = 3.797$, $P < 0.001$; T90: $t = 3.744$, $P < 0.001$; SpO₂: $t = 2.194$, $P = 0.029$; RA: $t = 3.377$, $P < 0.001$; see Table 3). In addition, the mean AHI (total number, including REM and NREM phases) in sDS was higher compared to aDS individuals ($t = 3.981$, $P < 0.001$), as regarding cAHI ($t = 2.829$, $P = 0.005$), and oAHI measures ($t = 3.1640$, $P = 0.002$). See Figure 2 and Table S3 for results across the AD continuum in DS.

Accordingly, we found a very high prevalence of OSA in adults with DS. OSA was present in 178 (77.7%) DS individuals, with a prevalence of moderate/severe OSA five times higher (52.8%) compared to the prevalence in HC individuals (11.5%; $\chi^2 = 57.766$, $P < 0.001$). The OSA prevalence and severity significantly increased along the AD continuum in DS. OSA was present in 85.3% of sDS, with 64% of them having moderate or severe OSA compared to 74% and 47%, respectively, in aDS (see Figure 3). Comparable proportions for OSA prevalence and severity were detected when the metrics were based on oAHI values rather than AHI (see section 4 and Figure S2 in supporting information).

No significant differences were detected between APOE $\epsilon 4$ carriers and non-carriers for the presence of OSA (78.2% vs. 75.7%) or OSA severity (51.2% vs. 62.2% for moderate-severe status) in DS individuals. In the same line, no significant differences were obtained in any of

TABLE 3 Polysomnography sleep and respiratory data.

	HC N = 78	DS N = 229	p value	aDS N = 154	sDS N = 75	p value
TST						
(min)	356 (64.0)	296 (106)	< 0.001***	302 (108)	284 (102)	0.078
SE						
(%)	76.6 (14.4)	64.1 (22.4)	< 0.001***	65.4 (23.0)	61.4 (21.1)	0.058
WASO						
(min)	141 (64.0)	148 (71.9)	0.717	148 (68.0)	149 (80.0)	0.355
SL						
(min)	29.7 (26.3)	46.1 (64.1)	0.113	45.1 (59.6)	48.1 (72.9)	0.284
REML						
(min)	121 (64.6)	184 (90.4)	< 0.001***	189 (85.0)	173 (101)	0.152
NREM N1						
(%)	11.7 (9.24)	15.6 (14.8)	0.058	15.0 (12.9)	16.8 (18.2)	0.209
NREM N2						
(%)	49.8 (8.25)	48.8 (13.8)	0.569	48.7 (12.3)	49.1 (16.7)	0.505
NREM N3						
(%)	21.2 (8.18)	26.9 (14.7)	0.001***	27.5 (14.2)	25.7 (15.7)	0.189
REM						
(%)	18.2 (6.54)	7.95 (5.89)	< 0.001***	8.37 (5.89)	7.05 (5.83)	0.042*
AHI						
(event/h)	7.74 (13.2)	26.6 (25.1)	< 0.001***	23.6 (24.6)	33.0 (25.2)	< 0.001***
AHI REM						
(event/h)	11.7 (15.8)	23.7 (28.0)	< 0.001***	22.5 (27.0)	26.4 (29.9)	0.260
AHI NREM						
(event/h)	7.17 (14.9)	27.0 (26.5)	< 0.001***	24.0 (26.5)	33.1 (25.4)	< 0.001***
cAHI						
(event/h)	0.0962 (0.627)	0.970 (4.76)	0.327	0.449 (2.20)	2.04 (7.62)	0.005**
oAHI						
(event/h)	7.32 (13.1)	25.2 (24.9)	< 0.001***	22.7 (24.8)	30.3 (24.4)	0.002*
SpO₂						
(%)	95.8 (1.64)	93.9 (6.27)	< 0.001***	94.6 (5.19)	92.5 (7.92)	0.029*
ODI						
(event/h)	6.77 (13.4)	22.7 (24.0)	< 0.001***	20.1 (23.3)	27.9 (24.7)	< 0.001***
T90						
(%)	2.48 (10.2)	9.70 (15.6)	< 0.001***	7.85 (15.1)	13.5 (16.1)	< 0.001***
NAW						
	22.4 (8.59)	23.6 (13.3)	0.418	23.8 (13.0)	23.2 (14.1)	0.618
RA						
(events/h)	5.22 (8.24)	17.0 (17.9)	< 0.001***	15.5 (17.3)	20.2 (18.9)	< 0.001***
AI						
(events/h)	18.5 (15.5)	26.6 (17.9)	< 0.001**	25.6 (17.7)	28.7 (18.4)	0.014*

Note: Continuous data are mean (SD) and categorical data are n (%). Statistical differences (adjusted by age, sex, and BMI) with asterisks denoting significance thresholds: ***($p < 0.001$), **($p < 0.01$), And *($p < 0.05$).

Abbreviations: aDS, asymptomatic Down syndrome; AHI, apnea-hypopnea index; AHI REM, apnea-hypopnea index during rapid eye movement phase; AHI NREM, apnea-hypopnea index during no-rapid eye movement phase; AI, arousal index; BMI, body mass index; cAH, central apnea-hypopnea index; DS, Down syndrome; h, hours; HC, euploid cognitively unimpaired healthy controls; min, minutes; NAW, number of awakenings; NREM N1, NREM N2, NREM N3, no-rapid eye movement stages N1, N2, and N3; ODI, oxygen desaturation index; oAHI, obstructive apnea-hypopnea index; RA, respiratory arousal index; REML, rapid eye movement sleep; SD, standard deviation; sDS, Down syndrome symptomatic for Alzheimer's disease dementia; SE, sleep efficiency; SL, sleep latency; SpO₂, basal oxygen saturation; T90, percentage of oxygen saturation < 90% for more than 30% of the sleep registration period; TST, total sleep time; WASO, wakefulness after sleep onset.

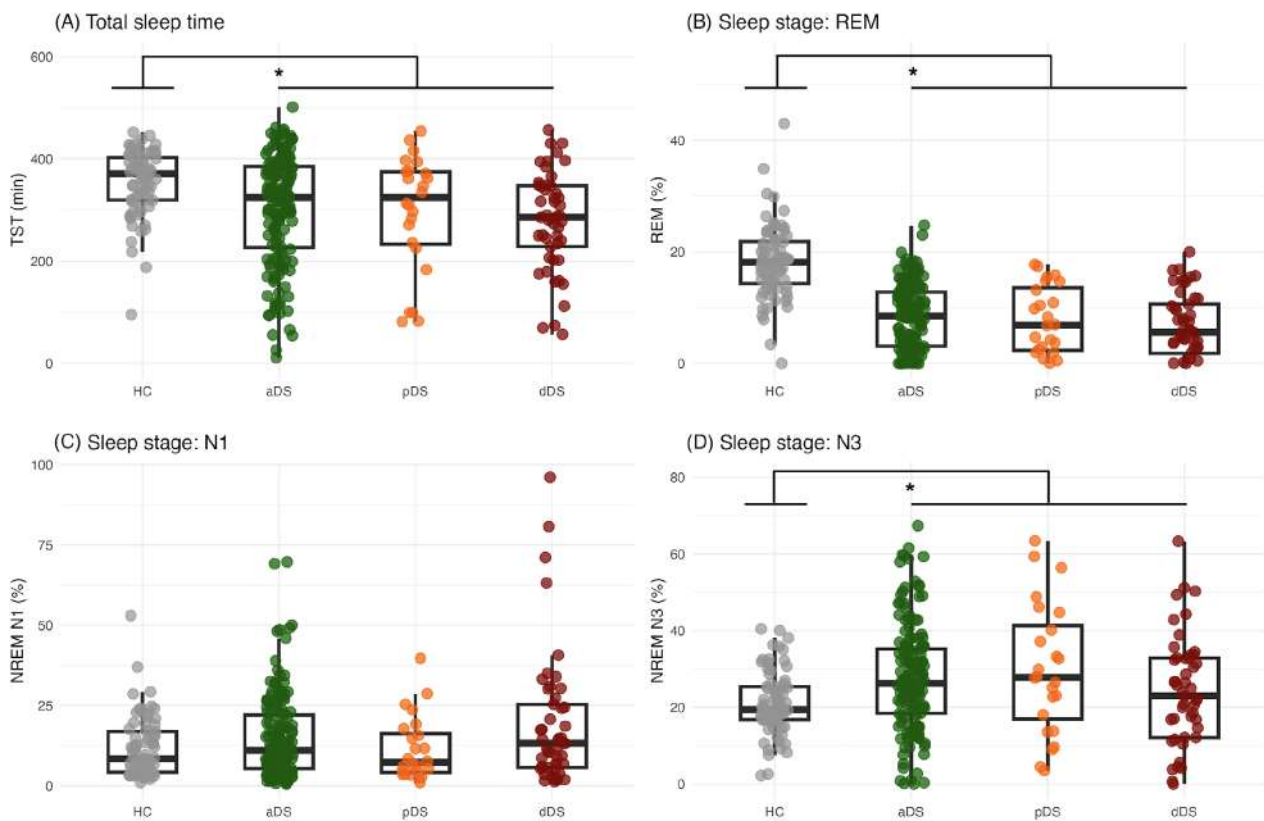


FIGURE 1 Sleep macrostructure objective measures by group. Boxplots for sleep macrostructure variables. Values for (A) TST, (B) REM sleep, (C) N1 sleep stage, and (D) N3 sleep stage are shown by group of diagnosis. Jittered points display individual data within each group: HC (gray), aDS (green), pDS (orange), and dDS (red). The star (*) indicates significant values ($p < 0.05$). aDS, asymptomatic Down syndrome; DS, Down syndrome; dDS, Down syndrome with Alzheimer's disease dementia; HC, euploid cognitively unimpaired healthy controls; min, minutes; NREM N1 and N3, no-rapid eye movement stages N1 and N3; pDS, prodromal Alzheimer's disease Down syndrome; REM, rapid eye movement; TST, total sleep time.

the subjective or objective sleep measures between sexes or within the interaction between age and sex (all p values > 0.05).

Additional analyses examining how the various AHI measures (AHI, cAHI, oAHI) affect differences in sleep architecture are presented in supporting information (Tables S4, S5, and S6).

3.4 | Age-related changes

Significant group interactions (HC vs. DS) in the association with age for somnolence (i.e., ESS), AHI, oAHI, ODI, T90, and RA were observed (see Table S4). The effect of age on these sleep variables was more pronounced in the DS population compared to the HC group for ESS ($t = 2.195$, $P = 0.029$), AHI ($t = 2.715$, $P = 0.007$), oAHI ($t = 2.086$, $P = 0.038$), ODI ($t = 2.850$, $P = 0.005$), T90 ($t = 2.291$, $P = 0.023$), and RA ($t = 2.129$, $P = 0.034$). Although the group interaction did not reach significance, for the NREM-N3 and REM measures, only the DS group exhibited a significant association with age (NREM-N3: $t = -2.396$, $P = 0.017$; REM: $t = -2.775$, $P = 0.006$) that was not identified in the HC group (all p values > 0.05). See Figure 4 and Tables S7 and S8 in supporting information for the correlations between sleep variables

and age, as well as age $\times$ group interactions for HC versus DS and aDS versus sDS, respectively.

4 | DISCUSSION

The present study found that adults with DS experience significantly poorer sleep quality and a higher prevalence of unnoticed OSA compared to cognitively unimpaired euploid controls. Sleep disturbances in individuals with DS seem to be further altered by AD progression, leading to increased sleep fragmentation and greater OSA severity along the AD continuum. Moreover, age-related declines in SWS and REM, as well as elevated sleep disruption and AHI, were more pronounced in adults with DS compared to controls. These findings may reflect the compounding effects of earlier neurodegenerative changes associated with AD in this population.

Our results align with a previous study⁹ emphasizing the high OSA prevalence in adults with DS. In this community-based study, 77.7% of adults with DS were found to have moderate/severe OSA, in stark contrast to the 11.5% prevalence in the control group. This discrepancy, and considering that more than half (52.8%) of the DS participants

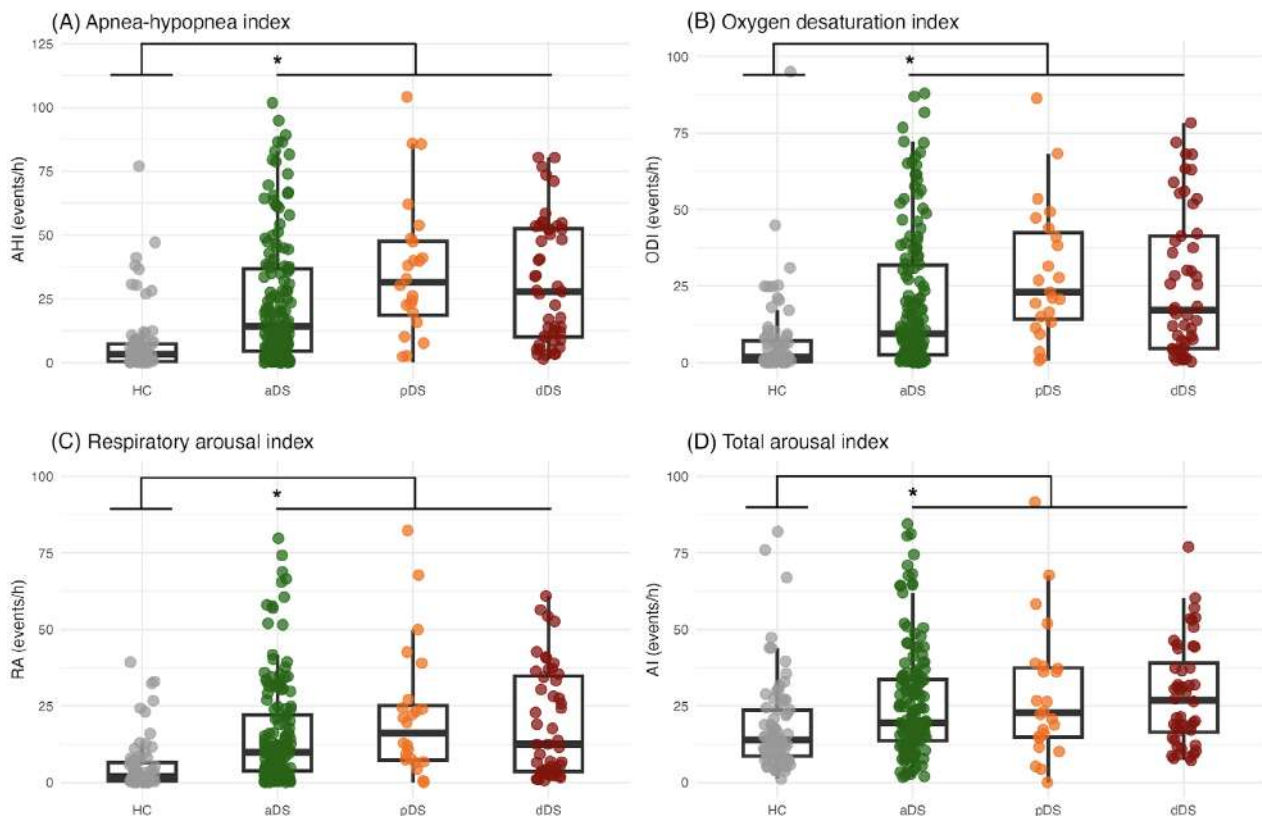


FIGURE 2 Sleep respiratory-related sleep objective measures by group. Boxplots for respiratory-related sleep variables. Values for (A) AHI, (B) ODI, (C) RA, and (D) AI are shown by group of diagnosis. Jittered points display individual data within each group: HC (gray), aDS (green), pDS (orange), and dDS (red). The star (*) indicates significant values ($p < 0.05$). aDS, asymptomatic Down syndrome; AHI, apnea-hypopnea index; AI, arousal index; DS, Down syndrome; dDS, Down syndrome with Alzheimer's disease dementia; HC, euploid cognitively unimpaired healthy controls; ODI, oxygen desaturation index; pDS, prodromal Alzheimer's disease Down syndrome; RA, respiratory arousal index.

exhibited moderate-to-severe OSA, underscores the importance of proactive screening and early intervention. The increased OSA vulnerability in adults with DS is likely attributable to comorbidities such as obesity, hypotonia, and hypothyroidism that exacerbate that OSA risk¹² and increase with aging.

OSA prevalence and severity significantly further increase along AD progression, with 64% of symptomatic DS individuals exhibiting severe OSA compared to 47.4% of asymptomatic individuals. These results are consistent with findings in the euploid population, in which OSA prevalence increases with aging, showing a significantly higher rate in individuals with mild cognitive impairment (MCI) and AD compared to cognitively unimpaired individuals.^{21,31} CSA remained infrequent overall, although it was more prevalent in symptomatic than in asymptomatic DS individuals, likely due to neurodegeneration in brainstem respiratory centers. Importantly, even in the context of AD, OSA events in DS remained predominantly obstructive. To the best of our knowledge, this expected pattern has not been previously described.

Although the cross-sectional nature of our results precludes establishing causality, the observed association between increased OSA frequency and severity with advancing AD stages aligns with

the bidirectional relationship between OSA and AD described in the euploid population.^{19,32,33} Notably, our results showed that as AD progresses, respiratory arousals increase, oxygen desaturation measures worsen, and respiratory events predominantly occur during NREM sleep, a pattern similar to that reported in euploid patients with AD.³⁴ REM-related OSA is typically associated with increased airway collapsibility³⁵ characteristic of DS individuals. The predominance of NREM-related OSA in symptomatic adults may result from impairments in ventilatory control and lower susceptibility to hypoxemia, likely caused by AD-related brainstem pathology. Moreover, individuals with DS are prone to structural lung abnormalities, including reduced alveolar numbers and altered lung architecture that can lead to a decreased functional residual capacity, diminishing the lungs' oxygen reserve, making individuals more susceptible to significant oxygen desaturation during even brief respiratory events.³⁶ This occurs alongside the reduced proportion of REM sleep with AD progression, which further contributes to the shift. Nevertheless, further longitudinal and multimodal sleep studies are needed to clarify whether OSA accelerates AD pathophysiology and advances dementia onset in individuals with DS, as has been observed in the general population.¹⁷ Moreover, we found no significant association between

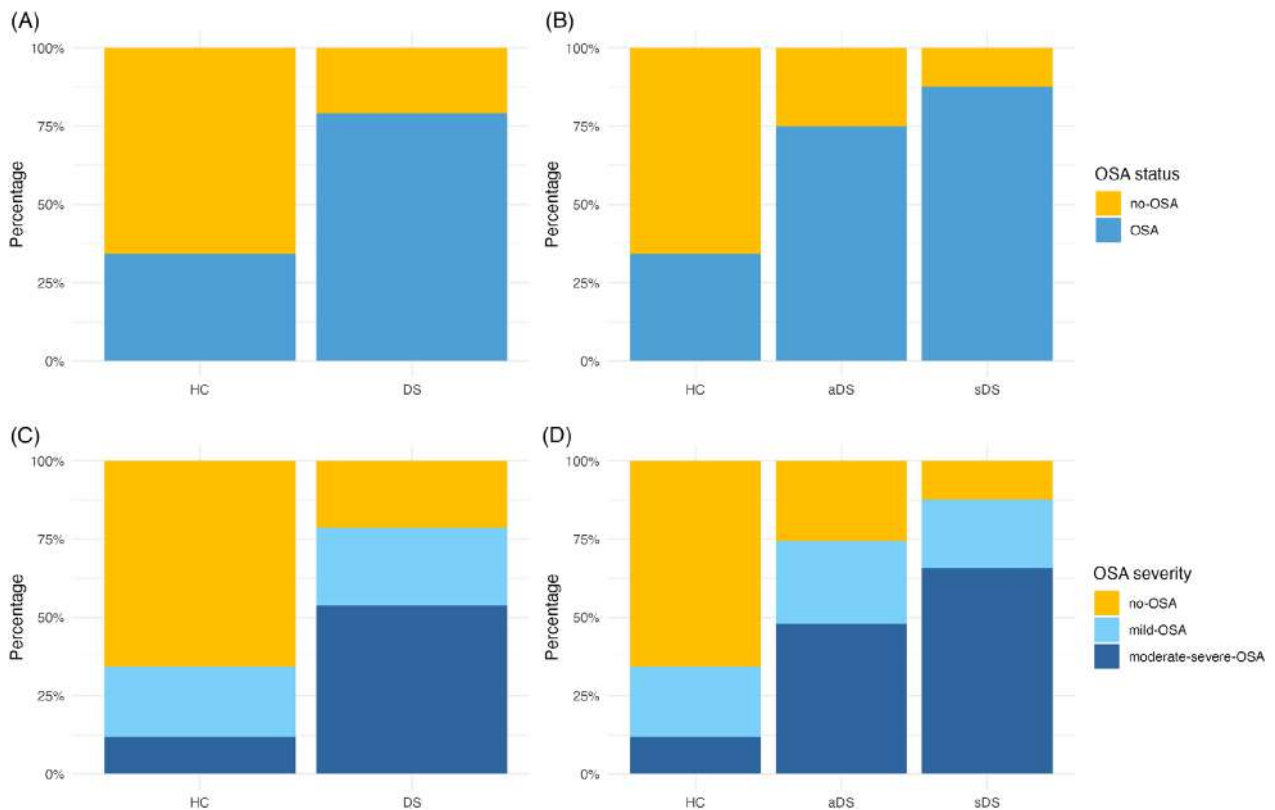


FIGURE 3 Distribution of the OSA prevalence and severity. Stacked bar charts displaying the OSA status by (A) HC, DS; and (B) HC, aDS, sDS, and OSA severity by (C) HC, DS; and (D) HC, aDS, and sDS. aDS, asymptomatic Down syndrome; DS, Down syndrome; HC, euploid cognitively unimpaired healthy controls; OSA, obstructive sleep apnea; sDS, Down syndrome symptomatic for Alzheimer's disease dementia.

APOE $\epsilon 4$, and the prevalence or severity of OSA, in line with findings in euploid elderly AD patients.^{21,37}

In addition to the increases in OSA prevalence and severity, AD progression was associated with declines in sleep quality. Symptomatic DS individuals exhibited poorer sleep efficiency, with a significant increase in the number of nocturnal arousals and a reduction in SWS, as well as a significant reduction in REM sleep compared to asymptomatic adults, aligning with reports in euploid patients with MCI and AD.³⁸

SWS plays a critical role in facilitating the brain's clearance, including A β and tau, through the glymphatic system.¹⁶ Individuals with DS have a genetic predisposition for amyloid overproduction and factors that lead to OSA, which may further exacerbate amyloid accumulation. Notably, SWS is already increased in children with DS.³⁹ The baseline greater SWS in overall individuals with DS compared to healthy controls could hypothetically serve as a compensatory mechanism to enhance amyloid clearance from the lifelong amyloid burden. However, the decrease in SWS as the AD continuum progresses in DS could mean a decline in this protective capacity. In the general population, age-related reductions in SWS have been associated with neuronal loss in the prefrontal cortex (PFC),⁴⁰ white matter degeneration,⁴¹ and OSA-related brain changes.³³ These OSA changes mirror those observed in normal aging and include reductions in gray matter density and white matter integrity within the frontotemporal and hippocampal regions.⁴¹

Furthermore, early accumulation of A β and tau deposits in the PFC has also been linked to declines in slow-wave activity (SWA or SWS quantification).⁴²

Aging in individuals with DS shows similar sleep patterns to euploid controls but with an accelerated decline in SWS and increased OSA severity, suggesting that the aging process is exacerbated by early-onset AD neurodegeneration. In sporadic AD, early neurodegeneration primarily affects the brainstem, basal forebrain, and medial temporal lobe.⁴³ Our group has recently demonstrated in DSAD an early and progressive cortical thinning in the prefrontal cortex, and an accelerated increase in parietotemporal white matter hyperintensity (WMH) in individuals with DS, mirroring the changes seen in sporadic AD.⁴⁴ Additionally, the presence of OSA has been associated with reduced WMH integrity in adults with DS.⁴⁵ Collectively, these structural brain alterations likely contribute to the accelerated age decline in SWS in adults with DS, but multimodal sleep and neuroimaging studies in this population are needed to confirm these data. Besides the clearance function, SWS is also essential for memory consolidation and synaptic homeostasis.⁴⁶ Accordingly, further longitudinal studies in DS are needed to evaluate the impact of SWS disruption on brain changes in relation to cognitive impairment in this population.

A key hallmark of the sleep pattern in adults with DS is the decreased amount of REM sleep compared to euploid controls, which

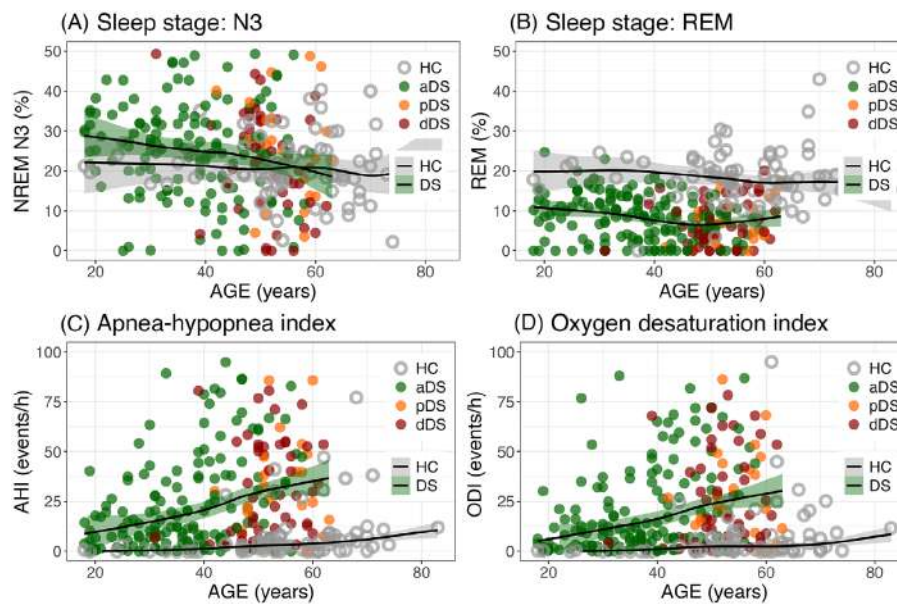


FIGURE 4 Group interactions across sleep variables and age. Scatter plots showing the association between (A) N3 sleep stage, (B) REM sleep, (C) AHI, and (D) ODI with age, by group (HC vs. DS). Individual data points are colored by diagnosis groups: HC (gray), aDS (green), pDS (orange), dDS (red), while locally estimated scatterplot smoothing curves with the confidence interval shaded (black line for HC) and (green line for DS) highlight the overall trend within each group. aDS, asymptomatic Down syndrome; AHI, apnea–hypopnea index; DS, Down syndrome; dDS, Down syndrome with Alzheimer's disease dementia; h, hour; HC, euploid cognitively unimpaired healthy controls; NREM N3, no-REM stages N3; ODI, oxygen desaturation index; pDS, prodromal Alzheimer's disease Down syndrome; REM, rapid eye movement.

further declines along the AD continuum. Recent research indicates that dysfunction in REM sleep might have significant implications for cognitive decline and AD. Indeed, reductions in REM sleep have been associated with cognitive decline and increased dementia risk in MCI and cognitively unimpaired older adults.^{47–49} Atypical, early-onset AD patients exhibit greater REM sleep deficits compared to those seen in late-onset AD.⁵⁰ Interestingly, in cognitively unimpaired *APOE* $\epsilon 4$ carriers, REM sleep was reduced compared to non-carriers⁴⁹ and was associated with diminished subcortical gray matter^{51,52} and increased WMH.⁵² The association between *APOE* and a decrease in REM sleep could suggest that REM sleep is disturbed early in individuals at higher risk of dementia. We did not obtain such a relationship, but further studies with larger samples are needed to evaluate this association in the DS population.

Subjective sleep measures in adults with DS failed to detect sleep disturbances, consistent with previous findings. Although the Epworth questionnaire reported differences between HC and DS individuals, only 6.5% of caregivers reported pathological somnolence (ESS > 10) in participants with DS, a key OSA symptom. Despite worsening sleep quality and somnolence with aging and AD progression, both measures remained within non-pathological ranges and failed to differentiate OSA status. This aligns with findings in euploid populations with MCI and AD, in which habituation to chronic sleep disruptions reduces daytime sleepiness complaints.⁵³ Adults with DS may similarly adapt to long-term OSA and pronounced age-related sleep changes. Furthermore, difficulties in symptom reporting and caregiver misattributions of sleepiness to aging or apathy emphasize the need not only for objec-

tive diagnostic tools but also for specialized questionnaires tailored to individuals with DS. This is especially important given that caregivers can vary in their level of daily involvement and insight, making proxy-reported measures alone potentially suboptimal. Consequently, further research is warranted to develop more reliable and sensitive assessment instruments that will improve the accuracy of diagnosing OSA and other sleep disorders in this population.

To our knowledge, this is the first study to evaluate the impact of AD on sleep in adults with DS across the AD continuum. Strengths include a large, well-characterized, community-based sample spanning a wide age range, along with a control euploid group. The study used rigorous objective sleep assessments using NPSG and subjective sleep measures to provide real-world data comparisons. The absence of referral bias enhances the generalizability of the findings. However, the cross-sectional design limits the ability to establish causal relationships between sleep disruption and AD progression, and the relatively small sample size in the AD subgroups may have restricted the detection of certain statistical differences. As a future direction, investigating the roles of sex and hormonal factors in DS may provide further insights into potential differences in sleep quality.

In conclusion, this study evidenced that adults with DS exhibit an accelerated and distinct pattern of sleep disturbances characterized by a high prevalence of unnoticed OSA, baseline increased SWS, and marked reductions in REM sleep compared to healthy controls. AD progression is associated with impairments in both sleep measures and sleep quality, likely driven by early-onset neurodegenerative changes. The findings underscore the critical need for proactive, objective

screening and management of sleep disorders in this high-risk group. Given the impact of OSA and the role of SWS and REM sleep in waste clearance, cognitive processing, and memory consolidation, longitudinal multimodal studies are essential to elucidate their impact on neurodegeneration and cognitive decline in DS across the AD continuum.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank all study participants, their families, and caregivers from the DABNI and SPIN cohort for their support of, and dedication to, this research. We also would acknowledge the Fundació Catalana Síndrome de Down (<https://fcsd.org/>) for global support. This study was funded by the Instituto de Salud Carlos III (Ministerio de Asuntos Económicos y Transformación Digital, Gobierno de España) through the projects INT21/00073, PI20/01473, and PI23/01786 to JF; PI20/00836 to SG; PI18/00335, PI22/00758, ICI23/00032 to MCI; PI18/00435 to DA; PI14/1561, PI20/01330 to AL; PI22/00307 to AB; the Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas CIBERNED Program 1, and partially jointly funded by Fondo Europeo de Desarrollo Regional, Unión Europea, Una Manera de Hacer Europa. This work was also supported by the National Institutes of Health grants (R01 AG056850; R21 AG056974, R01 AG061566, R01 AG081394 and R61AG066543 and 1RF1AG080769-01 to JF). MCI was also supported by Alzheimer's Association (AARG-22-973966), Global Brain Health Institute (GBHI_ALZ-18-543740), and Jérôme Lejeune Foundation (#1913 cycle 2019B). SG was funded by Global Brain Health Institute (GBHI_ALZ-23-971107), Jérôme Lejeune Foundation (#1801 Cycle 2020), Fundación Tatiana Pérez de Guzmán el Bueno (IIBSP-DOW-2020-151 to JF and SG). JF was also supported by Horizon 2020-Research and Innovation Framework Programme from the European Union (H2020-SC1-BHC-2018-2020). LVA was supported by Instituto de Salud Carlos III through the Sara Borrell Postdoctoral Fellowship "CD23/00235." NZ was supported by Instituto de Salud Carlos III through the Río Hortega Fellowship CM21/00113. JA was supported by Instituto de Salud Carlos III through the Río Hortega Fellowship CM21/00243. JEAI was supported by Instituto de Salud Carlos III through the Río Hortega Fellowship "CM22/00219" and co-funded by the European Union. IRB was supported by Instituto de Salud Carlos III through the Río Hortega Fellowship "CM22/00052" and co-funded by the European Union. LMB was supported by Instituto de Salud Carlos III through the Río Hortega Fellowship CM22/00291 and co-funded by the European Union. AB acknowledges support from Instituto de Salud Carlos III through the Miguel Servet grant "CP20/00038" and co-funded by the European Union, and the Alzheimer's Association "AARG-22-923680" and the Ajuntament de Barcelona, in collaboration with Fundació La Caixa (23S06157-001). CPL is supported by the National Institute on Aging R21AG086880. EB reports grants from National Institute on Aging, National Institutes of Health, 1RF1AG080769-01.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

Juan Fortea reports receiving personal fees for service on the advisory boards, adjudication committees, or speaker honoraria from

AC Immune, Adamed, Alzheon, Biogen, Eisai, Esteve, Fujirebio, Ionis, Laboratorios Carnot, Life Molecular Imaging, Lilly, Lundbeck, Novo Nordisk, Perha, Roche, and Zambón, outside the submitted work. Daniel Alcolea, Alberto Lleó, and Juan Fortea report holding a patent for markers of synaptopathy in neurodegenerative disease (licensed to ADx, EPI8382175.0). Sandra Giménez reports receiving personal fees for service on the advisory boards, speaker honoraria, or educational activities from Esteve, Idorsia, Novo Nordisk, and Bioproject. Maria Carmona-Iragui reports receiving personal fees for service on the advisory boards, speaker honoraria, or educational activities from Esteve, Lilly, Neuraxpharm, Adium, and Roch. Javier Arranz reports receiving personal fees for service on speaker honoraria or educational activities from Lilly, Esteve, Fujirebio-Europe, and Roche diagnostics. Isabel Barroeta reports receiving personal fees for educational activities from Adium. Daniel Alcolea reports receiving personal fees for advisory board services and/or speaker honoraria from Fujirebio-Europe, Roche, Nutricia, Krka Farmacéutica, Lilly, Zambon S.A.U., Grifols, and Esteve, outside the submitted work. Alberto Lleó has served as a consultant or on advisory boards for Almirall, Fujirebio-Europe, Roche, Biogen, Grifols, Novartis, Eisai, Lilly, and Nutricia, outside the submitted work. Lidia Vaqué-Alcázar, Nuole Zhu, Bessy Benezam, Lucia Maure-Blesa, Laura Videla, Íñigo Rodríguez-Baz, Ana Bueno, José Enrique Arriola-Infante, Anne-Sophie Rebillat, Susana Fernandez, Laia Ribas, Sara E. Zsadyani, Alejandra O. Morcillo-Nieto, Christos Panagiotis Lisgaras, Ricardo S. Osorio, and Esther Blessing have nothing to disclose. Author disclosures are available in the [supporting information](#).

CONSENT STATEMENT

All participants and/or their legally authorized representatives gave written informed consent.

ORCID

Sandra Giménez  <https://orcid.org/0000-0001-8031-2319>

REFERENCES

- Fortea J, Zaman SH, Hartley S, Rafii MS, Head E, Carmona-Iragui M. Alzheimer's disease associated with Down syndrome: a genetic form of dementia. *Lancet Neurol*. 2021;20:930-942. doi:[10.1016/S1474-4422\(21\)00245-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00245-3)
- Jack CR Jr, Andrews JS, Beach TG, et al. Revised criteria for diagnosis and staging of Alzheimer's disease: Alzheimer's Association Workgroup. *Alzheimers Dement*. 2024;20(8):5143-5169. doi:[10.1002/alz.13859](https://doi.org/10.1002/alz.13859)
- Fortea J, Vilaplana E, Carmona-Iragui M, et al. Clinical and biomarker changes of Alzheimer's disease in adults with Down syndrome: a cross-sectional study. *Lancet*. 2020;395:1988-1997.
- Fortea J, Zaman SH, Hartley S, Rafii MS, Head E, Carmona-Iragui M. Alzheimer's disease associated with Down syndrome: a genetic form of dementia. *Lancet Neurol*. 2021;20(11):930-942. doi:[10.1016/S1474-4422\(21\)00245-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00245-3)
- Iulita MF, Garzón Chavez D, Klitgaard Christensen M, et al. Association of Alzheimer disease with life expectancy in people with Down syndrome. *JAMA Netw Open*. 2022;5(5):e2212910. doi:[10.1001/jamanetworkopen.2022.12910](https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.12910)
- Gottlieb DJ, Punjabi NM. Diagnosis and management of obstructive sleep apnea: a review. *JAMA*. 2020;323:1389-1400. doi:[10.1001/jama.2020.351](https://doi.org/10.1001/jama.2020.351)

7. Giménez S, Videla L, Romero S, et al. Prevalence of sleep disorders in adults with Down syndrome: a comparative study of self-reported, acti-graphic, and polysomnographic findings. *J Clin Sleep Med*. 2018;14:1725-1733. doi:10.5664/jcsm.7382
8. Lal C., White D.R., Joseph J.E., van Bakergem K., LaRosa A. Sleep-disordered breathing in Down syndrome. *Chest*. 2015;147:570-579. doi:10.1378/chest.14-0266
9. Ferrario VF, Dellavia C, Zanotti G, Forza C. Soft tissue facial anthropometry in Down syndrome subjects. *J Craniofac Surg*. 2004;15:528-532.
10. Naime S, Weiss M, Lew J, et al. Central breathing abnormalities in children with trisomy 21: Effect of age, sex, and concomitant OSA. *Pediatr Pulmonol*. 2021;56(2):472-478. doi:10.1002/ppul.25157
11. Simson R, Oyekan AA, Ehsan Z, Ingram DG. Obstructive sleep apnea in patients with Down syndrome: current perspectives. *Nat Sci Sleep*. 2018;10:287-293.
12. Giménez S, Altuna M, Blessing E, Osorio RM, Fortea J. Sleep disorders in adults with Down syndrome. *J Clin Med*. 2021;10:3012.
13. Lucey BP. It's complicated: the relationship between sleep and Alzheimer's disease in humans. *Neurobiol Dis*. 2020;144:105031. doi:10.1016/j.nbd.2020.105031
14. Van Egroo M, Narbutas J, Chylinski D, et al. Sleep-wake regulation and the hallmarks of the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Sleep*. 2019;42(4):zsz017. doi:10.1093/sleep/zsz017
15. Ju Y, Ooms SJ, Sutphen C, et al. Slow wave sleep disruption increases cerebrospinal fluid amyloid- β levels. *Brain*. 2017;140:2104-2111.
16. Hablitz LM, Plá V, Giannetto M, et al. Circadian control of brain glymphatic and lymphatic fluid flow. *Nat Commun*. 2020;11:4411. doi:10.1038/s41467-020-18115-2
17. Osorio RS, Varga AW, Bubu OM, et al. Alzheimer's disease neuroimaging initiative. Sleep-disordered breathing advances cognitive decline in the elderly. *Neurology*. 2015;84:1964-1971.
18. Bubu OM, Pirraglia E, Andrade AG, et al. Obstructive sleep apnea and longitudinal Alzheimer's disease biomarker changes. *Sleep*. 2019;42:zsz048. doi:10.1093/sleep/zsz048
19. Sharma RA, Varga AW, Bubu OM, et al. Obstructive sleep apnea severity affects amyloid burden in cognitively normal elderly. A longitudinal study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;197:933-943.
20. Lal C, Ayappa I, Ayas N, et al. The link between obstructive sleep apnea and neurocognitive impairment: an official American Thoracic Society Workshop Report. *Ann Am Thorac Soc*. 2022;19(8):1245-1256. doi:10.1513/AnnalsATS.202205-380ST
21. Gaeta AM, Benítez ID, Jorge C, et al. Prevalence of obstructive sleep apnea in Alzheimer's disease patients. *J Neurol*. 2020;267(4):1012-1022. doi:10.1007/s00415-019-09668-4
22. Cody KA, Piro-Gambetti B, Zammit MD, et al. Association of sleep with cognition and beta amyloid accumulation in adults with Down syndrome. *Neurobiol Aging*. 2020;93:44-51. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2020.04.018
23. Alcolea D, Clarimón J, Carmona-Iragui M, et al. The Sant Pau Initiative on Neurodegeneration (SPIN) cohort: a data set for biomarker discovery and validation in neurodegenerative disorders. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2019;5:597-609. doi:10.1016/j.trci.2019.09.005
24. Videla L, Benejam B, Pegueroles J, et al. Longitudinal clinical and cognitive changes along the Alzheimer disease continuum in Down syndrome. *JAMA Netw Open*. 2022;5:e2225573. doi:10.1001/JAMANETWORKOPEN.2022.25573
25. Benejam B, Videla L, Vilaplana E, et al. Diagnosis of prodromal and Alzheimer's disease dementia in adults with Down syndrome using neuro-psychological tests. *Alzheimers Dement*. 2020;12:e12047. doi:10.1002/dad2.12047
26. Fernández Macías JA, Royuela A. La versión española del índice de la calidad de sueño de Pittsburgh. *Inf Psiquiátrica*. 1996;146:465-472.
27. Chiner E, Arriero JM, Signes-Costa J, Marco J, Fuentes I. Validación de la versión española del test de somnolencia Epworth en pacientes con síndrome de apnea de sueño [Validation of the Spanish version of the Epworth Sleepiness Scale in patients with a sleep apnea syndrome]. *Arch Bronconeumol*. 1999;35(9):422-427. Spanish. doi:10.1016/s0300-2896(15)30037-5
28. Netzer NC, Hoegel JJ, Loube D, et al. Prevalence of symptoms and risk of sleep apnea in primary care. *Chest*. 2003;124(4):1406-1414. doi:10.1378/chest.124.4.1406
29. Peñacoba P, Llauger MA, Fortuna AM, et al. A new tool to screen patients with severe obstructive sleep apnea in the primary care setting: a prospective multicenter study. *BMC Pulm Med*. 2022;22(1):38. doi:10.1186/s12890-022-01827-0
30. Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, et al. Rules for scoring respiratory events in sleep: update 552 of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. Deliberations of the Sleep 553 Apnea Definitions Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med*. 2012;8:597-619.
31. Emamian F, Khazaie H, Tahmasian M, et al. The association between obstructive sleep apnea and Alzheimer's disease: a meta-analysis perspective. *Front Aging Neurosci*. 2016;8:78. doi:10.3389/fnagi.2016.00078
32. Liguori C, Mercuri NB, Izzi F, et al. Obstructive sleep apnea is associated with early but possibly modifiable Alzheimer's disease biomarkers changes. *Sleep*. 2017;40:zsx011. doi:10.1093/sleep/zsx011
33. André C, Rehel S, Kuhn E, et al. Association of sleep-disordered breathing with Alzheimer disease biomarkers in community-dwelling older adults: a secondary analysis of a randomized clinical trial. *JAMA Neurol*. 2020;77:716-724.
34. Hoch CC, Reynolds CF 3rd, Kupfer DJ, Houck PR, Berman SR, Stack JA. Sleep-disordered breathing in normal and pathologic aging. *J Clin Psychiatry*. 1986;47(10):499-503.
35. Joosten SA, Landry SA, Wong A-M, et al. Assessing the physiologic endotypes responsible for REM- and NREM-based OSA. *Chest*. 2021;159:1998-2007.
36. Craven VE, Daw WJ, Wan JWY, Elphick HE. Respiratory and airway disorders in children with Down syndrome: a review of the clinical challenges and management. *Front Pediatr*. 2025;13:1553984. doi:10.3389/fped.2025.1553984
37. Thakre TP, Mantani MR, Kulkarni H. Lack of association of the APOE epsilon 4 allele with the risk of obstructive sleep apnea: meta-analysis and meta-regression. *Sleep*. 2009;32(11):1507-1511. doi:10.1093/sleep/32.11.1507
38. Zhang Y, Ren R, Yang L, et al. Sleep in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of polysomnographic findings. *Transl Psychiatry*. 2022;12(1):136. doi:10.1038/s41398-022-01897-Y
39. Nisbet LC, Phillips NN, Hoban TF, O'Brien LM. Characterization of a sleep architectural phenotype in children with Down syndrome. *Sleep Breath*. 2014;19:1065-1071. doi:10.1007/s11325-014-1094-6
40. Dubé J, Lafortune M, Bedetti C, et al. Cortical thinning explains changes in sleep slow waves during adulthood. *J Neurosci*. 2015;35(20):7795-7807. doi:10.1523/JNEUROSCI.3956-14.2015
41. Romanella SM, Roe D, Tatti E, et al. The sleep side of aging and Alzheimer's disease. *Sleep Med*. 2021;77:209-225. doi:10.1016/j.sleep.2020.05.029
42. Lucey BP, McCullough A, Landsness EC, et al. Reduced non-rapid eye movement sleep is associated with tau pathology in early Alzheimer's disease. *Sci Transl Med*. 2019;11(474):eaau6550.
43. DeTure MA, Dickson DW. The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2019;14(1):32. doi:10.1186/s13024-019-0333-5
44. Morcillo-Nieto AO, Zsadyani SE, Arriola-Infante JE, et al. Characterization of white matter hyperintensities in Down syndrome. *Alzheimers Dement*. 2024;20(9):6527-6541. doi:10.1002/alz.14146
45. Fleming V, Piro-Gambetti B, Bazydlo A, et al. Sleep and white matter in adults with Down syndrome. *Brain Sci*. 2021;11(10):1322. doi:10.3390/brainsci11101322

46. Walker MP. The role of slow wave sleep in memory processing. *J Clin Sleep Med*. 2009;5(2):S20-S26.
47. Petit D, Gagnon JF, Fantini ML, Ferini-Strambi L, Montplaisir J. Sleep and quantitative EEG in neurodegenerative disorders. *J Psychosom Res*. 2004;56(5):487-496. doi:[10.1016/j.jpsychores.2004.02.001](https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2004.02.001)
48. Song Y, Blackwell T, Yaffe K, Ancoli-Israel S, Redline S, Stone KL; Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Group. Relationships between sleep stages and changes in cognitive function in older men: the MrOS Sleep Study. *Sleep*. 2015;38(3):411-421. doi:[10.5665/sleep.4500](https://doi.org/10.5665/sleep.4500)
49. André C, Martineau-Dussault MÈ, Baril AA, et al. Reduced rapid eye movement sleep in late middle-aged and older apolipoprotein E ε4 allele carriers. *Sleep*. 2024;47(7):zsae094. doi:[10.1093/sleep/zsae094](https://doi.org/10.1093/sleep/zsae094)
50. Falgàs N, Walsh CM, Yack L, et al. Alzheimer's disease phenotypes show different sleep architecture. *Alzheimers Dement*. 2023;19(8):3272-3282. doi:[10.1002/alz.12963](https://doi.org/10.1002/alz.12963)
51. Baril AA, Beiser AS, DeCarli C, et al. Greater REM sleep associates with lower subcortical gray matter in APOE4 carriers. *Alzheimers Dement*. 2020;16(suppl 3):e045255.
52. Altendahl M, Cotter DL, Staffaroni AM, et al. REM sleep is associated with white matter integrity in cognitively healthy, older adults. *PLoS One*. 2020;15(7):e0235395. doi:[10.1371/journal.pone.0235395](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235395)
53. Morrell MJ, Finn L, McMillan A, Peppard PE. The impact of ageing and sex on the association between sleepiness and sleep disordered breathing. *Eur Respir J*. 2012;40(2):386-393.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Giménez S, Vaqué-Alcázar L, Zhu N, et al. Impact of Alzheimer's disease on sleep in adults with Down syndrome. *Alzheimer's Dement*. 2025;21:e70400. <https://doi.org/10.1002/alz.70400>

RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

6. RESUMEN GLOBAL DE RESULTADOS

En este apartado se presentan de forma sintética los principales resultados de los tres estudios que componen la presente tesis doctoral. Los hallazgos se describen siguiendo la estructura de los trabajos realizados, con el objetivo de ofrecer una visión global de los resultados obtenidos.

6.1. Biomarcadores de origen astrocitario en el diagnóstico diferencial y pronóstico de la demencia frontotemporal y la enfermedad de Alzheimer

En el primer estudio, de diseño transversal y longitudinal, se analizaron los niveles plasmáticos de GFAP y NfL en individuos con DFT, EA y CN. Los niveles de GFAP plasmático fueron significativamente más elevados en DFT en comparación con los controles, aunque inferiores a los observados en EA. por su parte, las concentraciones de NfL plasmático se encontraron elevadas tanto en DFT como en EA frente a los controles, sin diferencias significativas entre ambas patologías.

El análisis del rendimiento diagnóstico mostró que la combinación de GFAP y NfL plasmáticos mejoró la discriminación entre DFT y EA respecto al uso aislado de cada marcador, especialmente en modelos ajustados por edad, sexo y alelo *APOE*. En la diferenciación entre DFT y controles, el modelo combinado mostró un rendimiento superior al GFAP plasmático aislado. En la comparación entre EA y controles, GFAP plasmático presentó un rendimiento elevado, superior al de NfL en plasma, sin que la combinación mejorase de forma significativa este resultado.

Desde el punto de vista de su asociación con otros marcadores, GFAP plasmático se correlacionó con NfL tanto en plasma como en LCR, con YKL-40 en LCR y con biomarcadores centrales de la EA, incluyendo el cociente $A\beta_{42}/A\beta_{40}$, p-tau181, tau total y la carga amiloide medida mediante PET. En el grupo de DFT, GFAP plasmático se asoció además con el rendimiento cognitivo basal, la escala FTD-FRS y el grosor cortical.

En el análisis longitudinal, los individuos situados en el tercil superior de GFAP plasmático presentaron una peor evolución cognitiva y un mayor riesgo de alcanzar un MMSE < 20 tanto en DFT como en EA, apoyando su utilidad como marcador pronóstico.

6.2. Arquitectura del sueño y biomarcadores de origen astrocitario en adultos cognitivamente sanos

El segundo estudio evaluó la relación entre la arquitectura del sueño, los biomarcadores de origen astrocitario, marcadores de daño axonal y biomarcadores centrales de la EA en adultos CN sin evidencia biológica de la EA.

Un sueño más ligero y fragmentado, reflejado por una mayor duración del sueño N1, mayor vigilia tras el inicio de sueño y un mayor número despertares y transiciones, se asoció con concentraciones más elevadas en LCR de biomarcadores centrales de la EA y de YKL-40 en LCR. Por el contrario, un sueño más profundo y consolidado, reflejado por mayor tiempo total de sueño, mayor duración de N3 y mayor SWA, se relacionó con niveles más bajos de GFAP y YKL-40 en LCR. No se observaron asociaciones significativas entre SWA y biomarcadores centrales de la EA.

En plasma se observó un patrón distinto, donde mayores valores de sueño profundo y del tiempo total de sueño se asoció con concentraciones más elevadas de GFAP y NfL, mientras que el sueño más superficial se relacionó con niveles inferiores de GFAP.

Las asociaciones entre sueño y biomarcadores mostraron sensibilidad a distintos factores de riesgo biológico. La edad se asoció de forma consistente con los niveles de biomarcadores astrocitarios y moduló la asociación observada entre sueño y GFAP plasmático. Asimismo, el alelo *APOE* ϵ 4 modificó la magnitud y la dirección de determinadas relaciones entre parámetros de sueño, incluyendo la SWA, y biomarcadores en LCR.

6.3. Caracterización objetiva del patrón de sueño a lo largo del continuo de la enfermedad de Alzheimer en adultos con síndrome de Down

En el tercer estudio se analizó la arquitectura y los eventos respiratorios del sueño mediante polisomnografía nocturna en adultos con SD y controles euploides CN, evaluando las diferencias basales entre grupos y los cambios asociados a la edad y a la progresión de la EA.

En comparación con los controles, los adultos con SD presentaron un menor tiempo total de sueño y una menor eficiencia del sueño, junto con mayor porcentaje de sueño superficial

(N1) y una mayor latencia del sueño REM. Asimismo, la AOS fue altamente prevalente en el grupo de SD. Estas alteraciones se acentuaron progresivamente a medida que avanzaban los estadios clínicos de la EA.

Uno de los hallazgos más consistentes fue la reducción marcada del sueño REM en los adultos con SD en comparación con los controles, tanto en término de duración absoluta como de porcentaje del tiempo total de sueño. El porcentaje del sueño REM mostró un descenso progresivo con la edad y a lo largo del continuo de la enfermedad, con una afectación más pronunciada en los estadios avanzados.

En contraste, el sueño NREM profundo (N3) mostró una conservación relativa en los adultos con SD en comparación con los controles. Reflejada en un mayor porcentaje relativo de N3. No obstante, dentro de la población con SD se observó una disminución de N3 con el aumento de la edad y con la progresión hacia fases de demencia, siendo este descenso más acusado que el observado en los controles euploides.

RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN

7. RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN

En esta tesis se demuestra que la integración de biomarcadores de origen astrocitario y estudio de parámetros objetivos del sueño mejora la comprensión del proceso fisiopatológico de las enfermedades neurodegenerativas y aporta un valor añadido más allá de la caracterización basada exclusivamente en la proteinopatía predominante de cada entidad. Los resultados ponen de manifiesto que el depósito proteico específico, la actividad astrocitaria, el daño axonal y el sueño forman parte de una red interrelacionada cuya evaluación conjunta permite interpretar de manera más precisa la heterogeneidad clínica y la dinámica de progresión de las enfermedades.

Este enfoque multimodal se ha explorado en tres contextos complementarios. En primer lugar, la incorporación de un marcador de origen astrocitario como el GFAP plasmático junto a biomarcadores más consolidados como el NfL mejora la precisión diagnóstica tanto en la DFT como en la EA, y aporta información pronóstica relevante. En segundo lugar, los resultados muestran que los biomarcadores de origen astrocitario, los biomarcadores centrales de la EA y los parámetros de macro y microarquitectura del sueño se encuentran relacionados en ausencia de enfermedad definida biológicamente. En tercer lugar, en una cohorte caracterizada clínico-biológicamente, ha sido posible describir la evolución de la arquitectura del sueño en los distintos estadios de la enfermedad, apoyando la naturaleza dinámica y bidireccional de la relación entre el sueño y la patología Alzheimer.

A continuación, se discuten con mayor detalle los distintos contextos clínicos abordados, la contribución específica de cada trabajo al campo, la interpretación integrada de los resultados a la luz de la evidencia actual y las hipótesis que se derivan de los resultados obtenidos.

7.1. Valor de GFAP plasmático en el diagnóstico y la estratificación de riesgo en enfermedades neurodegenerativas

En el contexto actual de diagnóstico biológico de las enfermedades neurodegenerativas, los biomarcadores plasmáticos representan una herramienta clave para la caracterización y estratificación de los procesos patológicos de forma accesible y reproducible. En

consecuencia, el GFAP plasmático ha emergido como un biomarcador de la reactividad astrocitaria con un valor complementario a los biomarcadores más consolidados, como los marcadores de daño axonal y las proteínas específicas de cada entidad.

Este avance ha sido particularmente notable en la EA, mientras que en otras entidades su implementación se encuentra aún en fases preliminares. Pese a los avances en la comprensión de las alteraciones neuropatológicas subyacentes a la DLFT y al desarrollo de los biomarcadores moleculares con resultados prometedores para su detección *in vivo*, estos no se han consolidado aún su uso en la práctica clínica. En consecuencia, el diagnóstico continúa basándose fundamentalmente en criterios clínicos, lo que dificulta la identificación precisa de la enfermedad y favorece retrasos diagnósticos y una elevada tasa de error de clasificación (81,101).

El NfL ha demostrado ser un biomarcador útil en la DFT por su sensibilidad al daño axonal y su asociación consistente con la velocidad de progresión clínica. En determinados subtipos dentro del S-DLFT, como vcDFT, la ELA y los síndromes con parkinsonismo atípico, las concentraciones pueden encontrarse especialmente elevadas, confiriendo utilidad en el diagnóstico diferencial con los trastornos psiquiátricos primarios (81,101,143). Ahora bien, el NfL puede encontrarse elevado en otras enfermedades neurodegenerativas y en diversas condiciones neurológicas. Por otro lado, en fases iniciales o en síndrome de progresión lenta de la DFT, sus niveles pueden no estar elevados, lo que limita su rendimiento diagnóstico en estos contextos (11,144).

En la literatura previa, algunos estudios han reportado elevación de GFAP plasmáticos en la DFT y su asociación con mayor afectación clínica y funcional, lo que sugiere que podría aportar valor diagnóstico y/o pronóstico en esta entidad (24,25,137,145). Sin embargo, su potencial diagnóstico, ya sea de forma aislada o en combinación con otros biomarcadores, así como su valor pronóstico, no había sido evaluado de manera sistemática hasta entonces.

Los resultados del primer trabajo de esta tesis muestran que el GFAP y el NfL presentan perfiles diferenciales en la DFT y la EA, con elevación de ambos pero con mayor nivel relativo de GFAP en la EA. Asimismo, el GFAP muestra un rendimiento diagnóstico comparable al NfL en la diferenciación entre DFT y CN y su combinación con NfL mejora la capacidad de diagnóstico diferencial entre DFT y EA.

Nuestro estudio se sitúa entre los primeros en describir de forma sistemática un perfil complementario entre GFAP y NfL plasmáticos. Este patrón ha sido reproducido posteriormente en cohortes independientes de mayor tamaño (29,136,146–148). Estos resultados respaldan que la integración de los biomarcadores de origen astrocitario mejora la caracterización biológica de las enfermedades neurodegenerativas, especialmente cuando se incorporan en un enfoque multimodal junto a marcadores de daño axonal y variables clínicas y demográficas.

Aunque el GFAP plasmático había demostrado un valor pronóstico consistente en la EA, aspecto que se discutirá en la sección siguiente, nuestros resultados amplían esta evidencia en DFT al demostrar su correlación con biomarcadores de daño axonal y con medidas estructurales en RM, así como una progresión clínica y declive funcional más rápidos. Estos hallazgos han sido replicados posteriormente por estudios longitudinales independientes (23,149).

Ahora bien, otros estudios sugieren que la elevación de GFAP plasmático es heterogénea y parece depender del subtipo clínico y molecular (23,100,102,137,146,150–152). En cohortes genéticas de DLFT, la elevación tiende a observarse predominantemente en fases sintomáticas (23,100,146,150). Asimismo, algunos estudios realizados con confirmación neuropatológica muestran que las concentraciones de GFAP se encuentran más elevadas solo en el subgrupo de FTLD-tau (23,136). En nuestro estudio se observa asimismo una tendencia a niveles más altos de GFAP en los grupos PSP/SCB, fenotipos frecuentemente asociados a patología tau subyacente. Sin embargo, el número limitado de participantes en los subgrupos y la ausencia de confirmación neuropatológica dificultan establecer esta conclusión con claridad. Estos resultados ponen de relieve la necesidad de profundizar en el estudio de comportamiento del GFAP en los distintos subtipos de DLFT, con el fin de delimitar su significado biológico y su potencial utilidad en la diferenciación clínica.

En el campo de la EA, el desarrollo de biomarcadores plasmáticos y la aprobación de terapias antiamiloides han impulsado una transformación sustancial en los últimos años. Las técnicas ultrasensibles han permitido la detección de concentraciones extremadamente bajas de proteínas en sangre y el desarrollo de múltiples biomarcadores plasmáticos con potencial aplicabilidad clínica. Entre ellas, el p-tau217 ha destacado por su elevada sensibilidad y especificidad, posicionándose como una herramienta prometedora para el

cribado a gran escala (153). Sin embargo, su aplicación a nivel poblacional aún plantea retos. A diferencia de los biomarcadores centrales de la EA en LCR donde se usan en combinación, en el caso de p-tau217 plasmático se ha propuesto el uso de estrategias de doble punto de corte para mantener niveles de sensibilidad y especificidad comparables a los biomarcadores en LCR y PET (154). Esta estrategia conduce a un grupo considerable de individuos con valores intermedios que requieren pruebas complementarias para su adecuado diagnóstico. Por otro lado, estudios poblacionales han mostrado que aproximadamente el 30% de los individuos mayores de 70 años presentan niveles de p-tau217 compatible con positividad para EA, y un tercio de ellos se encuentra en fases preclínicas, donde la predicción del inicio de síntomas es incierta (155). Asimismo, los ensayos clínicos con anticuerpos monoclonales dirigidos contra el amiloide han demostrado un mayor beneficio cuando estos tratamientos se aplican en fases iniciales, particularmente en presencia de baja carga de tau (156,157). En este contexto, resulta necesaria la identificación de biomarcadores plasmáticos complementarios que permitan refinar el diagnóstico de los individuos con niveles de p-tau217 en rango intermedio, mejorar la predicción de progresión hacia fases sintomáticas y optimizar la selección de pacientes candidatos a terapias modificadoras y a ensayos clínicos.

El GFAP plasmático se reconoce hoy día como un marcador robusto de reactividad astrocitaria en la EA (35,73). En nuestro trabajo, el GFAP plasmático muestra una alta capacidad predictiva para la detección de la patología EA, un hallazgo que ha sido replicado en cohortes contemporáneas e independientes (29,73,77,158). En varios estudios, el GFAP se ha situado entre los biomarcadores plasmáticos con mejor rendimiento diagnóstico tras el p-tau217, e incluso superando al p-tau181 en determinados contextos, como en el SD (158,159).

Asimismo, nuestro trabajo muestra que concentraciones más elevadas de GFAP plasmático se asocian con biomarcadores de mayor gravedad clínica y una progresión cognitiva más acelerada durante el seguimiento. Estudios contemporáneos y posteriores en cohortes independientes han confirmado de manera consistente estos hallazgos, incluso tras ajustar por otros biomarcadores de daño axonal o patología amiloide, lo que respalda su papel como marcador pronóstico (73,76,160–167). Adicionalmente, la combinación de biomarcadores como p-tau217 con GFAP se ha asociado a un deterioro más pronunciado y extendido a múltiples dominios cognitivos cuando ambos se encuentran elevados, en comparación con aquellos casos con p-tau217 elevado, pero niveles bajos de GFAP (168).

Estos hallazgos sugieren que GFAP puede aportar información pronóstica adicional al p-tau217 en la predicción de la conversión a fases sintomáticas y de la progresión clínica.

En relación con su potencial utilidad en la estratificación de riesgo, diversos trabajos han mostrado que niveles elevados de GFAP se asocian con mayor carga de amiloide y con una aceleración de la propagación tau inducida por amiloide a lo largo de los estadios de Braak (75,169). Este patrón sugiere que la reactividad astrocitaria podría situarse en una fase intermedia en la transición desde la acumulación amiloide hacia la propagación de tau, más estrechamente vinculada con la fase sintomática de la enfermedad. De igual modo, otros estudios en participantes CN han mostrado que el GFAP en plasma puede elevarse en fases presintomáticas y se asocian con riesgo de conversión clínica (27,29,163,170,171). En el contexto actual de terapias antiamiloides, la incorporación del GFAP plasmático podría contribuir a una estratificación biológica más precisa, identificando a aquellos individuos con mayor riesgo de progresión clínica y optimizando la selección de candidatos para terapias modificadoras, además de servir como herramienta potencial para la monitorización de la eficacia en nuevos tratamientos.

En conjunto, estos resultados consolidan el GFAP plasmático como un biomarcador que refleja la implicación de la función astrocitaria en diferentes enfermedades neurodegenerativas. El abordaje multimodal que integra el GFAP junto a otros marcadores biológicos contribuye a mejorar la precisión diagnóstica y la estratificación pronóstica en la DFT y la EA. En línea con esta perspectiva, los criterios actualizados NIA-AA 2024 lo han incorporado dentro del dominio de inflamación/neuroglía, reconociendo su valor añadido para una caracterización biológica más precisa de la enfermedad.

7.2. Interacción entre arquitectura del sueño, biomarcadores de origen astrocitario y biomarcadores centrales de la enfermedad de Alzheimer

La creciente evidencia sobre el papel de los astrocitos pone de manifiesto que la activación astrocitaria no es un proceso uniforme. Estudios de transcriptómica de células únicas han identificado subtipos con funciones especializadas en la regulación sináptica, la neuroinflamación y el soporte metabólico, sugiriendo que los biomarcadores de origen astrocitario reflejan procesos biológicos diversos (172). Asimismo, trabajos centrados en el GFAP han descrito una disociación consistente entre sus niveles en LCR y en plasma,

siendo estos últimos los que han mostrado mayor potencial de aplicabilidad clínica (29,30,74). Estos hallazgos subrayan la necesidad de comprender los mecanismos que determinan su dinámica y su interacción con otras vías implicadas en las enfermedades neurodegenerativas.

Entre los procesos potencialmente moduladores, el sueño destaca por su estrecha relación con la homeostasis cerebral y con la fisiopatología de las enfermedades neurodegenerativas. Analizar la interacción entre la arquitectura del sueño, los biomarcadores de origen astrocitario y otros biomarcadores asociados a la EA permite avanzar hacia una comprensión multidimensional e integrada del proceso neurodegenerativo.

La activación astrocitaria y la neuroinflamación ha sido propuesta como un posible vínculo fisiopatológico entre la alteración del sueño y el riesgo aumentado de enfermedades neurodegenerativas. Esta hipótesis es respaldada por estudios previos donde pacientes con trastorno del sueño crónicos presentan niveles más elevados de biomarcadores de origen astrocitario en plasma (134,173), así como en pacientes en fases tempranas de la EA, niveles más altos de YKL-40 en LCR se asocian con peor calidad de sueño (133,174). Sin embargo, resulta difícil establecer si la asociación entre la arquitectura del sueño y la elevación de biomarcadores de origen astrocitario refleja una relación directa o si, por el contrario, está mediada por la presencia de patología de EA, dado que tanto la disrupción del sueño como la elevación de biomarcadores de origen astrocitario pueden manifestarse en fases tempranas de la enfermedad.

Evidencia experimental han demostrado que la activación astrocitaria responde dinámicamente a las variaciones del estado sueño-vigilia. En modelos animales, la privación aguda y crónica de sueño se ha asociado con un aumento de la fagocitosis astrocitaria de elementos sinápticos y con la activación de vías moleculares relacionadas con el recambio sináptico, lo que sugiere que los astrocitos participan activamente en la adaptación del cerebro a la vigilia prolongada (175). Hasta la fecha, la relación entre los biomarcadores de origen astrocitario y la arquitectura del sueño en condiciones fisiológicas ha sido escasamente explorada. Un estudio en participantes CN se ha mostrado asociaciones entre marcadores como GFAP y YKL-40 en LCR y parámetros electroencefalográficos específicos como la actividad sigma rápida y la expresión de huso de sueño en fase N2, incluso tras ajustar por variables demográficas y factores de riesgo genético (176).

El segundo trabajo de esta tesis muestra que la arquitectura del sueño se asocia de forma consistente con los biomarcadores de origen astrocitario: un sueño más superficial y fragmentado se relacionan con concentraciones mayores de GFAP y YKL-40 en LCR, mientras que un sueño más consolidado y profundo se asocian con niveles más bajos. Estos hallazgos amplían la evidencia previa al evaluar la arquitectura global del sueño mediante polisomnografía completa, ofreciendo una visión más integral de su vínculo con la dinámica astrocitaria.

Un aspecto que ha despertado creciente interés en el estudio del sueño es su relación con el sistema glinfático y el aclaramiento de metabolitos en las enfermedades neurodegenerativas. Este sistema se encuentra especialmente activo durante el sueño NREM profundo y constituye uno de los principales mecanismos de eliminación de metabolitos y proteínas neurotóxicas (114,120,177–179). Por ello, se ha postulado que la disfunción del sistema glinfático secundaria a la reducción y fragmentación del sueño profundo podría constituir uno de los mecanismos que contribuyen al aumento del riesgo de EA.

La concentración de β -amiloide y la tau en el espacio intersticial y LCR sigue un patrón diurno (180). En condiciones fisiológicas, sus concentraciones aumentan durante la vigilia y disminuyen durante el sueño profundo, mientras que la privación de sueño se asocia con incrementos agudos de sus niveles (16,118,181,182). Sin embargo, no está claro si esta asociación refleja variaciones en la producción y liberación de estas proteínas o cambios en los mecanismos de aclaramiento dependientes del estado sueño-vigilia. Los resultados del segundo trabajo muestran una asociación positiva entre parámetros de sueño superficial y fragmentado y las concentraciones de proteína tau, mientras que ni la macroarquitectura ni la microarquitectura del sueño profundo se asocian con dichos niveles. Este patrón sugiere que las variaciones observadas podrían estar relacionadas predominantemente con procesos de producción o liberación, más que con alteraciones del sueño profundo vinculado a la actividad glinfática. Este patrón concuerda con observaciones previas que indican que la privación aguda de sueño aumenta las concentraciones de β -amiloide sin cambios en su eliminación, y que la potenciación farmacológica del sueño de ondas lentas no modifica dichos niveles (119).

Adicionalmente, se observa una asociación negativa consistente entre la SWA y los biomarcadores de origen astrocitario en LCR. En cambio, en plasma las concentraciones de GFAP y NfL tienden a asociarse positivamente con SWA. Este patrón plantea la hipótesis de que el sueño profundo podría modular la distribución relativa de biomarcadores entre el LCR y el plasma. Si bien esta interpretación es aún especulativa y requiere confirmación en estudios prospectivos de mayor tamaño, en un estudio transversal de pequeño tamaño, la privación aguda de sueño se ha asociado con un aumento de las concentraciones de b-amiloide y tau en LCR, junto con una disminución concomitante de sus niveles plasmáticos (183). Profundizar en la comprensión de cómo el sueño modula la dinámica compartimental LCR-plasma resulta especialmente relevante en la era actual de los biomarcadores plasmáticos. Un mejor entendimiento de estos mecanismos permitirá interpretar con mayor precisión las variaciones observadas en sangre y optimizar su aplicación clínica, particularmente ante la creciente proyección de su uso en el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad.

Adiferencia de nuestro resultado, estudios en adultos mayores CN han descrito asociaciones entre la reducción del sueño de ondas lentas y mayores concentraciones de β -amiloide en LCR, sugiriendo que la relación entre el sueño profundo y los niveles de biomarcadores centrales de la EA puede cambiar con la edad (121). En efecto, el envejecimiento se asocia a una menor eficiencia y a una arquitectura de sueño más superficial y fragmentada, con reducción del sueño profundo y del sueño REM (184). De forma concomitante, se desarrolla un estado de activación inmunitaria de bajo grado, denominado *inflammaging*, caracterizado por aumento sostenido en la expresión de citocinas proinflamatorias, reducción de factores antiinflamatorios, disfunciones de las células gliales y pérdida progresiva de la capacidad de mantener la homeostasis cerebral (185–187). Además, la funcionalidad del sistema glinfático también se reduce con la edad, lo que se ha vinculado con una menor eficiencia en la eliminación de proteínas implicadas en el proceso neurodegenerativo y el deterioro cognitivo.

Sobre esta base, en los trabajos 1 y 2 de esta tesis se observa que los niveles de biomarcadores de origen astrocitario se asocian de forma consistente con la edad. Asimismo, la edad moderó de manera significativa la relación entre la SWA y los niveles plasmáticos de GFAP. Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la asociación fisiológica entre el sueño profundo y la actividad astrocitaria no es uniforme a lo largo del ciclo vital, sino que podría amplificarse o transformarse en el contexto del envejecimiento.

El alelo *APOE* ε4 constituye el factor de riesgo genético más frecuente para el desarrollo de la EA y se asocia de forma estrecha con los principales procesos fisiopatológicos de la enfermedad. Sin embargo, los mecanismos mediante los cuales confiere un mayor riesgo no se conocen por completo. La evidencia disponible sugiere que este alelo se relaciona con una mayor producción y un menor aclaramiento de b-amiloide, así como con una mayor neurodegeneración asociada a tau y una respuesta neuroinflamatoria más intensa (188). La evidencia experimental indica que los astrocitos con *APOE*4 presentan una menor eficiencia en el metabolismo y transporte de colesterol en comparación con *APOE*3. En microglía, las isoformas de *APOE* modulan la reactividad inflamatoria a través de su interacción con receptores como el receptor desencadenante expresado en células mieloides 2 (TREM-2), asociándose *APOE* ε4 a una respuesta más proinflamatoria en contextos patológicos (189). En este mismo sentido, en estudios murinos, los animales que expresan *APOE*4 presentan una respuesta inflamatoria sistémica y cerebral mayor ante estímulos inflamatorios (190).

Diversos estudios han descrito una mayor prevalencia de alteraciones del sueño en portadores de *APOE* ε4, incluso en ausencia de deterioro cognitivo. Los portadores de este alelo presentan, en promedio, un menor tiempo total de sueño, mayor fragmentación, una arquitectura del sueño menos consolidada, y una reducción del sueño REM, incluso tras ajustar por edad, sexo, estado cognitivo y severidad de AOS (188,191–193). Estos resultados apuntan a una posible disfunción temprana del sistema sueño-vigilia asociada al alelo. No obstante, al no incluir una caracterización biológica de la enfermedad, resulta difícil determinar si estas alteraciones reflejan un efecto primario del alelo sobre la regulación del sueño o una mayor carga patológica de EA subyacente en el grupo portador.

Nuestro trabajo muestra que *APOE* ε4 también modula las asociaciones entre parámetros objetivos de sueño y biomarcadores de origen astrocitario en ausencia de la enfermedad. Estos resultados sugieren que este alelo modifica la asociación entre el sueño y biomarcadores en condiciones fisiológicas, de manera independientes de la patología Alzheimer. Futuros estudios centrados en la dinámica sueño-biomarcador en cohortes enriquecidas por portadores de *APOE* ε4 podrían ayudar a esclarecer los mecanismos a través de los cuales este alelo confiere un mayor riesgo de EA.

En conclusión, en una cohorte de participantes CN clínico-biológicamente caracterizados, un abordaje multimodal que integra estudio de sueño mediante polisomnografía con

biomarcadores de distintos dominios biológicos asociados a la EA ha permitido analizar de forma conjunta procesos que tradicionalmente se han estudiado por separado. Este planteamiento ha facilitado la comprensión de cómo la arquitectura del sueño relaciona con la actividad astrocitaria y con la dinámica de biomarcadores asociados a la EA, así como del papel modulador del envejecimiento y del factor de riesgo genético en estas interacciones. Los resultados apuntan a que diversos factores de riesgo vinculados a la EA podrían confluir en la función astrocitaria, sugiriendo que esta podría constituir un mecanismo intermedio en el desarrollo de la enfermedad.

7.3. Caracterización del patrón de sueño en cohortes clínico-biológicamente definidas

La redefinición clínico-biológica de las enfermedades neurodegenerativas ha permitido estudiar con mayor precisión el papel de las alteraciones del sueño en su fisiopatología. Sin embargo, el análisis de estas interacciones continúa enfrentando retos metodológicos relevantes. Dado el carácter bidireccional de la relación entre sueño y enfermedad neurodegenerativa, la interpretación de la direccionalidad de las asociaciones sigue siendo compleja. Además, la marcada variabilidad interindividual y el curso prolongado de estas enfermedades hacen que los estudios prospectivos con seguimiento de décadas sean logísticamente complejos, costosos, y en muchos casos, poco factibles. Por otra parte, existen múltiples parámetros relacionados con el sueño que reflejan sustratos neurobiológicos solo parcialmente convergentes, lo que dificulta la interpretación aislada de cada medida (15,138).

El estudio del sueño mediante polisomnografía completa en una población con alto riesgo biológico de enfermedades neurodegenerativas puede constituir una estrategia intermedia valiosa. Aunque los estudios transversales en estas cohortes no permiten establecer causalidad, pueden aportar información relevante sobre patrones de asociación en contextos de distinta carga biológica, facilitando la generación de hipótesis mecanísticas y el diseño de estudios longitudinales o de intervención más dirigidos. En esta tesis, esta aproximación se ha aplicado mediante el análisis de los cambios en el patrón de sueño en adultos con SD, una condición genética asociada a alta carga biológica de EA.

A pesar de la evidencia que vincula alteraciones del sueño con la progresión de la EA, la caracterización sistemática de cómo evoluciona la arquitectura del sueño a lo largo del

continuo de la enfermedad sigue siendo limitada. En población general, una duración del sueño excesivamente corta o prolongada se han asociado con mayor carga de amiloide y tau, así como con un mayor riesgo de deterioro cognitivo y demencia. Esto sugiere que la relación no es lineal, sino potencialmente en forma de U (194–196). Los estudios que han evaluado individuos en distintos estadios muestran que los cambios en el patrón de sueño no son homogéneos. La reducción del sueño REM se ha descrito como una de las alteraciones más tempranas y detectable ya en fase de quejas subjetivas de memoria, mientras que el incremento del sueño superficial (N1) y la reducción del sueño profundo (N3) tienden a observarse en fases más avanzadas (139). Estos hallazgos sugieren que las alteraciones del sueño cambian a lo largo del curso de la enfermedad y podrían influir en su progresión mediante diferentes mecanismos dependientes del estadio.

De este modo, el estudio del patrón de sueño en adultos con SD resulta de especial interés, dada la elevada prevalencia de trastornos del sueño en esta población y su evolución casi universal hacia la EA. La relativa homogeneidad facilita la identificación de patrones de alteración del sueño potencialmente vinculados a la fisiopatología de la EA y la formulación de hipótesis mecanísticas.

El tercer trabajo de esta tesis muestra un patrón de sueño basal alterado en esta población. En fases asintomáticas, se observa una reducción del tiempo total de sueño, menor eficacia y una tendencia a mayor fragmentación, replicando en gran medida el fenotipo descrito en portadores de *APOE* ε4 CN y en la población general (191,197). De forma particularmente relevante, este patrón coexistió con una afectación precoz y pronunciada del sueño REM y una relativa preservación del sueño NREM profundo, reflejada en un mayor porcentaje de sueño N3 en comparación con controles, hallazgos también descritos en portadores homocigotos de *APOE* ε4 (191,197,198). Esta convergencia sugiere que determinadas alteraciones del ciclo sueño-vigilia pueden emerger precozmente cuando existe una susceptibilidad biológica, incluso antes del desarrollo de la enfermedad.

Las medidas de mantenimiento del sueño y arquitectura muestran una tendencia a empeorar a lo largo de los diferentes estadios de la EA. Con la progresión de la enfermedad se observa una reducción del tiempo total del sueño y de la eficiencia, junto con una disminución progresiva del sueño REM y del sueño NREM profundo (N3). Si bien estas diferencias entre estadios no alcanzan significación estadística, en el grupo con SD el sueño REM y el N3 se asocian de forma significativa con la edad. Dado que en esta

población la edad constituye el principal determinante de la carga patológica acumulada, esta asociación sugiere que las modificaciones de REM y N3 podrían reflejar cambios vinculados a la evolución de la EA.

En comparación con estudios realizados en población euploide, donde las diferencias entre grupos clínicos tienden a ser más marcadas (139), en la cohorte con SD los cambios entre estadios resultan más sutiles. Esta menor separación categórica podría explicarse por una mayor alteración basal del patrón de sueño y por la mayor homogeneidad biológica de la muestra, en la que la progresión patológica es más uniforme y continua, de modo que las alteraciones del sueño se expresan mejor con un gradiente relacionado con la edad.

En el tercer trabajo de esta tesis se identifican dos parámetros del sueño de particular interés en adultos con SD: la reducción significativa del sueño REM y la elevada frecuencia de eventos respiratorios durante el sueño. Estas alteraciones se observan ya en fases asintomáticas y tienden a agravarse con la edad y a lo largo de los diferentes estadios de la enfermedad. Estos hallazgos sugieren que ambos parámetros podrían estar implicados de forma más directa en la evolución de la enfermedad y construir potenciales dianas para intervenciones dirigidas a optimizar el sueño.

Las alteraciones del sueño REM están descritas en diferentes enfermedades neurodegenerativas. Entre ellas destaca las sinucleinopatías, como la EP, la demencia con cuerpos de Lewy o la atrofia multisistémica. En estas entidades, el trastorno de conducta del sueño REM (TCSR), caracterizado por pesadillas, comportamientos motores complejos y pérdida de atonía muscular propia de esta fase, se ha asociado de forma consistente con la enfermedad y puede preceder en décadas a la aparición de los síntomas motores o cognitivos. En la actualidad, el TCSR se considera un marcador del estadio prodrómico de estas patologías (199).

En la EA, se han descrito reducciones del sueño REM en estadios tempranos antes de inicio de los síntomas cognitivos y tiende a disminuir y fragmentarse progresivamente en estadios más avanzados (139,197,200,201). Estudios poblacionales han observado que la reducción del porcentaje de sueño REM y el aumento de su latencia se asocian con un riesgo aumentado de demencia (201), y se ha propuesto que la afectación temprana de las estructuras y circuitos implicados en la regulación del sueño REM podría construir uno de los mecanismos subyacentes a estas alteraciones.

Sin embargo, en el segundo trabajo de la tesis se observa una relación negativa entre la duración del sueño REM y el nivel de los biomarcadores de origen astrocitario, lo que apoya su relación con la activación astrocitaria en condiciones fisiológicas. Por su parte, el trabajo 3 muestra una marcada reducción del sueño REM incluso en el grupo asintomático, en el cual la carga patológica suele ser considerablemente menor. Estos resultados sugieren la posible existencia de una interacción bidireccional entre el sueño REM y la EA, de modo que alteraciones precoces del sueño REM podrían contribuir a la progresión de la enfermedad, siendo la neuroinflamación y la activación astrocitaria un mecanismo intermedio plausible.

Esta hipótesis se ve respaldada por estudios en modelos experimentales, en los que la privación selectiva de sueño REM se ha asociado con mayor activación microglial, incremento de citocinas proinflamatorias, pérdida sináptica y mayor acumulación de β -amiloide (202). Asimismo, se ha descrito que los astrocitos participan en la regulación del sueño REM a través de mecanismos de señalización intracelular dependientes de calcio, especialmente en el tronco encefálico, pudiendo suprimir su inicio y reducir el número de episodios REM. De manera similar, la astrogliosis en regiones promotoras de REM se ha asociado con su reducción y fragmentación en modelos de EA (203–205). En pacientes con TCSR aislado o enfermedad de Parkinson, las concentraciones plasmáticas de GFAP y NfL se encuentran elevadas independientemente de los niveles de p-tau181, lo que apoya la existencia de una relación entre la disrupción del REM y los biomarcadores de origen astrocitario y de daño axonal en humanos (206,207). Si bien estos resultados no permiten establecer una relación mecanística directa, abren nuevas hipótesis sobre la interacción entre el sueño REM, la activación glial y la neuroinflamación, y su posible contribución a la progresión de la EA.

Por otro lado, la AOS constituye el trastorno primario del sueño más frecuente en adultos mayores en la población general, con una incidencia que aumenta de forma marcada con la edad. Múltiples estudios han demostrado que la presencia de AOS se asocia con un mayor riesgo de EA, posiblemente debido a la fragmentación del sueño y la hipoxia intermitente y a los mecanismos de depuración cerebral (123,125–127). Por ello, la AOS se ha propuesto como un factor de riesgo modificable y una diana terapéutica relevante, dado que dispone de intervenciones eficaces como la presión positiva continua en la vía aérea (CPAP).

En la población con SD, la AOS es notablemente más frecuente y más grave que en la población general debido a las características constitucionales y fisiológicas propias de la trisomía 21(135). Estas alteraciones se han asociado con una mayor carga cortical de patología Alzheimer, mayor afectación cerebrovascular y una edad más temprana de inicio de demencia (208–210). De este modo, la AOS ha adquirido un interés particular en el SD, dada su elevada frecuencia y su carácter potencialmente tratable. Sin embargo, la evidencia disponible proviene de estudios con tamaño muestral limitado y los resultados son variables, probablemente relacionados con diferencias en los criterios de derivación y en los métodos diagnósticos empleados, lo que justifica la necesidad de una exploración sistemática en cohortes poblacionales de mayor tamaño (135).

Nuestro estudio, basado en una evaluación polisomnográfica realizada en una cohorte de base poblacional, ha permitido estimar con mayor robustez la prevalencia de AOS en adultos con SD y analizar su evolución a lo largo de los distintos estadios de la EA. Los resultados confirman una marcada prevalencia de AOS, así como una mayor severidad y mayor grado de hipoxemia nocturna. Asimismo, estos indicadores muestran un empeoramiento progresivo con la edad, siendo más acentuado en los estadios más avanzados de la enfermedad, lo que pone de relieve potencial beneficio de intervenciones tempranas en esta población. Cabe destacar que los cuestionarios de cribaje proporcionados por los familiares no fueron capaces de discriminar adecuadamente el riesgo de AOS, lo que sugiere que una proporción significativa de pacientes podría permanecer infradiagnosticada en ausencia de un cribado sistemático y universal.

En conjunto, el tercer trabajo, basado en la caracterización sistemática del sueño en una cohorte clínico-biológicamente definida, ha permitido delinear la evolución del patrón de sueño a lo largo del continuo de la EA e identificar parámetros especialmente sensibles a la progresión de la enfermedad. Estos resultados generan nuevas hipótesis mecanísticas y aportan implicaciones clínicas directas en términos de cribado e intervención temprana de trastornos del sueño en esta población de alto riesgo.

7.4. Limitaciones

La presente tesis integra varios estudios que abordan de manera multimodal la interacción entre los biomarcadores de origen astrocitario, la arquitectura del sueño y los procesos fisiopatológicos implicados en las enfermedades neurodegenerativas, en el contexto

de cohortes clínico-biológicamente caracterizadas. Este enfoque ha permitido analizar dichos procesos desde una perspectiva más amplia e integrada. No obstante, pese a esta aproximación multidimensional, existen limitaciones metodológicas y conceptuales que deben considerarse para una adecuada interpretación de los resultados.

En primer lugar, en el estudio centrado en biomarcador de origen astrocitario plasmático como herramienta diagnóstica y pronóstica, los pacientes con DFT no contaban con confirmación anatomopatológica, por lo que no puede descartarse completamente la presencia de heterogeneidad biológica intragrupo. No obstante, todos los pacientes fueron evaluados mediante un protocolo clínico exhaustivo y la presencia de EA fue excluida sistemáticamente mediante biomarcadores fisiopatológicos. Asimismo, el tamaño muestral de los subgrupos no permitió explorar en particular el comportamiento diferencial de los biomarcadores según la sospecha de subtipo clínico patológico. En consecuencia, los resultados deben interpretarse principalmente a nivel del espectro global de la DFT, teniendo en cuenta esta heterogeneidad intragrupo.

El diseño observacional y transversal de los estudios que integran la arquitectura del sueño, los biomarcadores y la EA impide establecer relaciones causales entre estos procesos. Este diseño es adecuado para identificar asociaciones tempranas en cohortes bien caracterizadas desde el punto de vista biológico, pero no permite determinar la direccionalidad de estas asociaciones. La confirmación de estas relaciones requerirá estudios longitudinales con evaluaciones repetidas de sueño y biomarcadores.

Otra limitación relevante es el tamaño muestral moderado, particularmente en el estudio que combina polisomnografía con biomarcadores. A pesar de ello, la cohorte incluida está profundamente caracterizada desde el punto de vista clínico y biológico, y los análisis estadísticos se han ajustado cuidadosamente por factores de confusión relevantes, lo que permite identificar asociaciones consistentes, aunque reduce la capacidad para explorar interacciones complejas.

Finalmente, la relación entre el sueño, el sistema de depuración y la dinámica de los biomarcadores en enfermedades neurodegenerativas constituye un ámbito de investigación todavía incipiente. Una parte de la interpretación fisiopatológica de los resultados se apoya necesariamente en evidencia procedente de modelos animales, dado que los mecanismos subyacentes han sido escasamente explorados en estudios humanos.

En consecuencia, el marco integrador propuesto debe entenderse como una aproximación conceptual orientada a la generación de hipótesis, cuya validación mecánica requerirá estudios longitudinales y estrategias multimodales adicionales.

CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

- 1) Los resultados de la presente tesis demuestran que abordar las enfermedades neurodegenerativas desde un enfoque multidimensional incorporando biomarcadores de origen astrocitario y parámetros objetivos del sueño mejora la comprensión de su fisiopatología y favorece una caracterización biológica más precisa, aportando valor diagnóstico y pronóstico adicional.
- 2) Los hallazgos de esta tesis apoyan la hipótesis de que los astrocitos participan en múltiples niveles de la fisiopatología de las enfermedades neurodegenerativas y podrían constituir un mecanismo mediador entre diferentes dominios patológicos. La incorporación de estos biomarcadores permite estudiar *in vivo* la actividad astrocitaria y contribuye a conectar los distintos procesos fisiopatológicos implicados en la enfermedad.
- 3) El estudio de cohortes clínico-biológicamente caracterizadas, como la población con SD, ha permitido contextualizar las alteraciones del sueño dentro del continuo fisiopatológico de la enfermedad. Esta aproximación facilita una comprensión más integrada y ajustada a la complejidad del proceso, y pone de manifiesto la importancia de cohortes bien caracterizadas como base para avanzar hacia modelos explicativos más precisos de las enfermedades neurodegenerativas.

FUTURAS DIRECCIONES

9. FUTURAS DIRECCIONES

A partir de los resultados obtenidos, se plantean varias líneas de investigación futuras que constituyen una continuación natural del trabajo realizado en esta tesis. Estas líneas se sustentan de cohortes activas, metodologías ya implementadas y análisis actualmente en curso, y están orientadas a profundizar en el papel de los biomarcadores de origen astrocitario y el estudio del sueño en la caracterización multidimensional de los mecanismos implicados en el desarrollo y la evolución de las enfermedades neurodegenerativas, así como en la detección precoz, la estratificación de riesgo y el seguimiento de la progresión.

Si bien a lo largo de la discusión se han planteado diversas hipótesis derivadas de los resultados obtenidos, en esta sección se presenta líneas de investigación más inmediata y factible, orientadas a su implementación en el entorno actual del trabajo y en las cohortes ya disponibles.

En el contexto actual de implementación de biomarcadores plasmáticos como herramienta diagnóstica a gran escala y ante la llegada de terapias modificadoras de la enfermedad, resulta fundamental identificar biomarcadores accesibles, escalables y mínimamente invasivos que mejoren la precisión diagnóstica, la estratificación del riesgo de progresión y la monitorización de la respuesta terapéutica. En este escenario, la evidencia disponible indica que los niveles plasmáticos de GFAP se eleva de forma muy precoz en la EA y sugiere que la activación astrocitaria podría situarse en una posición intermedia entre la patología amiloide y el depósito neurofibrilar de tau (29,75,211). Dado que los biomarcadores plasmáticos de tau fosforilada, y en particular p-tau217, ya se encuentra integrado en la práctica investigadora y en muchos casos en la clínica, resulta pertinente evaluar si la incorporación de GFAP plasmático permite refinar el diagnóstico biológico, especialmente en individuos con valores cercanos a los puntos de corte diagnósticos, optimizando así el rendimiento diagnóstico y pronóstico de estrategias no invasivas.

La elevada prevalencia de individuos asintomáticos con niveles de p-tau217 compatibles con el diagnóstico biológico para EA ha generado una considerable inquietud en la comunidad científica y clínica, ya que el inicio de los síntomas y el curso clínico muestran una marcada variabilidad interindividual. Estudios recientes han explorado el uso de p-tau217 para estimar la edad de inicio de síntomas en estos individuos, demostrando un error mediano estimado de 3 a 3,7 años. Cabe destacar que la correlación entre la edad

predicha y la edad real de inicio de los síntomas es únicamente moderada, lo que limita su utilidad predictiva a nivel individual (212). Considerando que el GFAP plasmático ha mostrado un potencial pronóstico prometedor, se plantea que su incorporación a modelos basados en p-tau217 podría mejorar la precisión en la estimación de la edad de conversión sintomática y optimizar la selección de candidatos para intervenciones terapéuticas.

Los hallazgos de esta tesis apoyan una visión bidireccional y dinámica de la relación entre el sueño y la evolución de la EA, en la que la actividad astrocitaria emerge como un potencial mecanismo mediador. Dado que múltiples estudios, incluidos los resultados aquí presentados, muestran que los biomarcadores de origen astrocitario se asocian de forma consistente con un perfil de sueño más superficial y fragmentado (173,174), y considerando que la arquitectura del sueño cambia a lo largo de la evolución de la enfermedad, cabe plantear que un patrón de sueño más desfavorable podría relacionarse con una mayor activación astrocitaria y un estado proinflamatorio, contribuyendo potencialmente a la progresión de la enfermedad. Sobre esta base, se propone analizar los cambios en la arquitectura del sueño en relación con biomarcadores de origen astrocitario a lo largo de los distintos estadios de la EA, así como su impacto sobre la progresión clínica evaluada mediante estudio neuropsicológico, técnicas de neuroimagen y medidas de funcionalidad. La aplicación de aproximaciones pseudotemporales, utilizando la edad como aproximación a la carga patológica acumulada en cohortes con alto riesgo biológico como SD, podría permitir una mejor comprensión de los mecanismos mediante los cuales el sueño contribuye al desarrollo y progresión de la enfermedad, así como facilitar la identificación de posibles dianas y ventanas terapéuticas para intervenciones dirigidas al sueño.

Asimismo, a pesar del papel clave del sueño REM en la plasticidad sináptica, la consolidación de la memoria y otras funciones cognitivas superiores, su relación con los biomarcadores vinculados a la fisiopatología de la EA sigue siendo un ámbito relativamente poco explorado. La afectación precoz del sueño REM en la enfermedad sugiere que su estudio conjunto con biomarcadores de origen astrocitario, de tau y de neurodegeneración podría aportar información relevante sobre mecanismos tempranos de disfunción neuronal y sináptica (139). El desarrollo de estudios que conecten el sueño REM con los biomarcadores y con el rendimiento cognitivo y funcional constituye una línea de investigación especialmente prometedora para avanzar en la comprensión de los mecanismos que vinculan la disfunción del sueño con la heterogeneidad clínica y la progresión de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Nichols E, Steinmetz JD, Vollset SE, Fukutaki K, Chalek J, Abd-Allah F, et al. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Public Health*. 2022 Feb;7(2):e105–25. doi:10.1016/S2468-2667(21)00249-8
2. Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, Chui H, Corey–Bloom J, Relkin N, et al. Practice parameter: Diagnosis of dementia (an evidence-based review): Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2001 May 8;56(9):1143–53. doi:10.1212/WNL.56.9.1143
3. Beach TG, Monsell SE, Phillips LE, Kukull W. Accuracy of the Clinical Diagnosis of Alzheimer Disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005–2010. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2012 Apr;71(4):266–73. doi:10.1097/NEN.0b013e31824b211b
4. Beach TG, Monsell SE, Phillips LE, Kukull W. Accuracy of the Clinical Diagnosis of Alzheimer Disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005–2010. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2012 Apr;71(4):266–73. doi:10.1097/NEN.0b013e31824b211b
5. Balasa M, Gelpi E, Martín I, Antonell A, Rey MJ, Grau-Rivera O, et al. Diagnostic accuracy of behavioral variant frontotemporal dementia consortium criteria (FTDC) in a clinico-pathological cohort. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2015 Dec;41(7):882–92. doi:10.1111/nan.12194
6. Simuni T, Chahine LM, Poston K, Brumm M, Buracchio T, Campbell M, et al. A biological definition of neuronal α -synuclein disease: towards an integrated staging system for research. *Lancet Neurol*. 2024 Feb;23(2):178–90. doi:10.1016/S1474-4422(23)00405-2
7. Grossman M, Seeley WW, Boxer AL, Hillis AE, Knopman DS, Ljubenov PA, et al. Frontotemporal lobar degeneration. *Nat Rev Dis Primer*. 2023 Aug 10;9(1):40. doi:10.1038/s41572-023-00447-0
8. Jack CR, Andrews JS, Beach TG, Buracchio T, Dunn B, Graf A, et al. Revised criteria for diagnosis and staging of Alzheimer’s disease: Alzheimer’s Association Workgroup. *Alzheimers Dement*. 2024 Aug;20(8):5143–69. doi:10.1002/alz.13859
9. Dubois B, Villain N, Schneider L, Fox N, Campbell N, Galasko D, et al. Alzheimer Disease as a Clinical-Biological Construct—An International Working Group Recommendation. *JAMA Neurol*. 2024 Dec 1;81(12):1304. doi:10.1001/jamaneurol.2024.3770
10. Hansson O, Blennow K, Zetterberg H, Dage J. Blood biomarkers for Alzheimer’s disease in clinical practice and trials. *Nat Aging*. 2023 May 18;3(5):506–19. doi:10.1038/s43587-023-00403-3

11. Hansson O. Biomarkers for neurodegenerative diseases. *Nat Med*. 2021 Jun;27(6):954–63. doi:10.1038/s41591-021-01382-x
12. Verkhratsky A, Nedergaard M. Physiology of Astroglia. *Physiol Rev*. 2018 Jan 1;98(1):239–389. doi:10.1152/physrev.00042.2016
13. Liddelow SA, Barres BA. Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. *Immunity*. 2017 Jun;46(6):957–67. doi:10.1016/j.immuni.2017.06.006
14. Khakh BS, Sofroniew MV. Diversity of astrocyte functions and phenotypes in neural circuits. *Nat Neurosci*. 2015 Jul;18(7):942–52. doi:10.1038/nn.4043
15. Bubu OM, Mortimer J, Umasabor-Bubu O, Sebastião YV, Wen Y, Schwartz S, et al. Sleep, Cognitive impairment, and Alzheimer's disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sleep*. 2017 Jan 1;40(1). doi:10.1093/sleep/zsw032
16. Lucey BP. It's complicated: The relationship between sleep and Alzheimer's disease in humans. *Neurobiol Dis*. 2020 Oct;144:105031. doi:10.1016/j.nbd.2020.105031
17. Sprecher KE, Kosciak RL, Carlsson CM, Zetterberg H, Blennow K, Okonkwo OC, et al. Poor sleep is associated with CSF biomarkers of amyloid pathology in cognitively normal adults. *Neurology*. 2017 Aug;89(5):445–53. doi:10.1212/wnl.0000000000004171
18. Verkhratsky A, Butt A, Li B, Illes P, Zorec R, Semyanov A, et al. Astrocytes in human central nervous system diseases: a frontier for new therapies. *Signal Transduct Target Ther*. 2023 Oct 13;8(1):396. doi:10.1038/s41392-023-01628-9
19. Escartin C, Galea E, Lakatos A, O'Callaghan JP, Petzold GC, Serrano-Pozo A, et al. Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions. *Nat Neurosci*. 2021 Mar;24(3):312–25. doi:10.1038/s41593-020-00783-4
20. Zhao Y, Huang Y, Cao Y, Yang J. Astrocyte-Mediated Neuroinflammation in Neurological Conditions. *Biomolecules*. 2024 Sep 25;14(10):1204. doi:10.3390/biom14101204
21. Lee HG, Lee JH, Flausino LE, Quintana FJ. Neuroinflammation: An astrocyte perspective. *Sci Transl Med*. 2023 Nov 8;15(721). doi:10.1126/scitranslmed.adi7828
22. Hol EM, Pekny M. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system. *Curr Opin Cell Biol*. 2015 Feb;32:121–30. doi:10.1016/j.ceb.2015.02.004
23. Sheth U, Öijerstedt L, Heckman MG, White LJ, Heuer HW, Lario Lago A, et al. Comprehensive cross-sectional and longitudinal comparisons of plasma glial fibrillary acidic protein and neurofilament light across FTD spectrum disorders. *Mol Neurodegener*. 2025 Mar 12;20(1):30. doi:10.1186/s13024-025-00821-4

24. Heller C, Chan E, Foiani MS, Todd E, Russell LL, Greaves CV, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein and neurofilament light chain are measures of disease severity in semantic variant primary progressive aphasia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2021 Apr;92(4):455–6. doi:10.1136/jnnp-2020-325085
25. Benussi A, Ashton NJ, Karikari TK, Gazzina S, Premi E, Benussi L, et al. Serum Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) Is a Marker of Disease Severity in Frontotemporal Lobar Degeneration. Arighi A, editor. *J Alzheimers Dis*. 2020 Sep 29;77(3):1129–41. doi:10.3233/JAD-200608
26. Varma V, An Y, Kac P, Bilgel M, Moghekar A, Loeffler T, et al. Longitudinal progression of blood biomarkers reveals a key role of astrocyte reactivity in preclinical Alzheimer's disease [Internet]. 2024 [cited 2025 Jun 19]. Available from: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2024.01.25.24301779> doi:10.1101/2024.01.25.24301779
27. Milà-Alomà M, Salvadó G, Gispert JD, Vilor-Tejedor N, Grau-Rivera O, Sala-Vila A, et al. Amyloid beta, tau, synaptic, neurodegeneration, and glial biomarkers in the preclinical stage of the Alzheimer's *continuum*. *Alzheimers Dement*. 2020 Oct;16(10):1358–71. doi:10.1002/alz.12131
28. Pereira JB, Janelidze S, Smith R, Mattsson-Carlsson N, Palmqvist S, Teunissen CE, et al. Plasma GFAP is an early marker of amyloid- β but not tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain*. 2021 Dec 16;144(11):3505–16. doi:10.1093/brain/awab223
29. Benedet AL, Milà-Alomà M, Vrillon A, Ashton NJ, Pascoal TA, Lussier F, et al. Differences Between Plasma and Cerebrospinal Fluid Glial Fibrillary Acidic Protein Levels Across the Alzheimer Disease Continuum. *JAMA Neurol*. 2021 Dec 1;78(12):1471. doi:10.1001/jamaneurol.2021.3671
30. Chatterjee P, Pedrini S, Stoops E, Goozee K, Villemagne VL, Asih PR, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein is elevated in cognitively normal older adults at risk of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry*. 2021 Jun;11(1):27. doi:10.1038/s41398-020-01137-1
31. Simrén J, Weninger H, Brum WS, Khalil S, Benedet AL, Blennow K, et al. Differences between blood and cerebrospinal fluid glial fibrillary Acidic protein levels: The effect of sample stability. *Alzheimers Dement*. 2022 Sep 14;alz.12806. doi:10.1002/alz.12806
32. Jessen NA, Munk ASF, Lundgaard I, Nedergaard M. The Glymphatic System: A Beginner's Guide. *Neurochem Res*. 2015 Dec;40(12):2583–99. doi:10.1007/s11064-015-1581-6
33. Plog BA, Dashnaw ML, Hitomi E, Peng W, Liao Y, Lou N, et al. Biomarkers of Traumatic Injury Are Transported from Brain to Blood via the Glymphatic System. *J Neurosci*. 2015 Jan 14;35(2):518–26. doi:10.1523/JNEUROSCI.3742-14.2015
34. Bakula D, Vrkljan N, Ratkajec V, Glavcic G, Miler M, Pelajic S, et al. YKL-40 as a biomarker in various inflammatory diseases: A review. *Biochem Medica*. 2024 Feb 15;34(1):42–56. doi:10.11613/BM.2024.010502

35. Querol-Vilaseca M, Colom-Cadena M, Pegueroles J, San Martín-Paniello C, Clarimon J, Belbin O, et al. YKL-40 (Chitinase 3-like I) is expressed in a subset of astrocytes in Alzheimer's disease and other tauopathies. *J Neuroinflammation*. 2017 Dec;14(1):118. doi:10.1186/s12974-017-0893-7
36. Bonnef-Barkay D, Bissel SJ, Kofler J, Starkey A, Wang G, Wiley CA. Astrocyte and Macrophage Regulation of YKL-40 Expression and Cellular Response in Neuroinflammation. *Brain Pathol*. 2012 Jul;22(4):530–46. doi:10.1111/j.1750-3639.2011.00550.x
37. Alcolea D, Vilaplana E, Suárez-Calvet M, Illán-Gala I, Blesa R, Clarimón J, et al. CSF sAPP β , YKL-40, and neurofilament light in frontotemporal lobar degeneration. *Neurology*. 2017 Jul 11;89(2):178–88. doi:10.1212/WNL.0000000000004088
38. Illán-Gala I, Alcolea D, Montal V, Dols-Icardo O, Muñoz L, De Luna N, et al. CSF sAPP β , YKL-40, and NfL along the ALS-FTD spectrum. *Neurology*. 2018 Oct 23;91(17). doi:10.1212/WNL.0000000000006383
39. Janelidze S, Mattsson N, Stomrud E, Lindberg O, Palmqvist S, Zetterberg H, et al. CSF biomarkers of neuroinflammation and cerebrovascular dysfunction in early Alzheimer disease. *Neurology*. 2018 Aug 28;91(9). doi:10.1212/WNL.0000000000006082
40. Llorens F, Thüne K, Tahir W, Kanata E, Diaz-Lucena D, Xanthopoulos K, et al. YKL-40 in the brain and cerebrospinal fluid of neurodegenerative dementias. *Mol Neurodegener*. 2017 Dec;12(1):83. doi:10.1186/s13024-017-0226-4
41. Olsson B, Hertz J, Lautner R, Zetterberg H, Nägga K, Höglund K, et al. Microglial Markers are Elevated in the Prodromal Phase of Alzheimer's Disease and Vascular Dementia. *J Alzheimers Dis*. 2012 Dec 3;33(1):45–53. doi:10.3233/JAD-2012-120787
42. Pelkmans W, Shekari M, Brugulat-Serrat A, Sánchez-Benavides G, Minguillón C, Fauria K, et al. Astrocyte biomarkers GFAP and YKL-40 mediate early Alzheimer's disease progression. *Alzheimers Dement*. 2024 Jan;20(1):483–93. doi:10.1002/alz.13450
43. Holper S, Loveland P, Churilov L, Italiano D, Watson R, Yassi N. Blood Astrocyte Biomarkers in Alzheimer Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neurology*. 2024 Aug 13;103(3):e209537. doi:10.1212/WNL.0000000000209537
44. Mader S, Brimberg L. Aquaporin-4 Water Channel in the Brain and Its Implication for Health and Disease. *Cells*. 2019 Jan 27;8(2):90. doi:10.3390/cells8020090
45. Kovacs GG, Lee VM, Trojanowski JQ. Protein astroglialopathies in human neurodegenerative diseases and aging. *Brain Pathol*. 2017 Sep;27(5):675–90. doi:10.1111/bpa.12536
46. Dickson DW, Kouri N, Murray ME, Josephs KA. Neuropathology of Frontotemporal Lobar Degeneration-Tau (FTLD-Tau). *J Mol Neurosci*. 2011 Nov;45(3):384–9. doi:10.1007/s12031-011-9589-0

47. Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*. 2018 Jan;25(1):59–70. doi:10.1111/ene.13439
48. Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, Holstege H, Chételat G, Teunissen CE, et al. Alzheimer's disease. *The Lancet*. 2021 Apr;397(10284):1577–90. doi:10.1016/S0140-6736(20)32205-4
49. Graff-Radford J, Yong KXX, Apostolova LG, Bouwman FH, Carrillo M, Dickerson BC, et al. New insights into atypical Alzheimer's disease in the era of biomarkers. *Lancet Neurol*. 2021 Mar;20(3):222–34. doi:10.1016/S1474-4422(20)30440-3
50. Gorno-Tempini ML, Hillis AE, Weintraub S, Kertesz A, Mendez M, Cappa SF, et al. Classification of primary progressive aphasia and its variants. *Neurology*. 2011 Mar 15;76(11):1006–14. doi:10.1212/WNL.0b013e31821103e6
51. Dubois B, Villain N, Schneider L, Fox N, Campbell N, Galasko D, et al. Alzheimer Disease as a Clinical-Biological Construct—An International Working Group Recommendation. *JAMA Neurol*. 2024 Dec 1;81(12):1304. doi:10.1001/jamaneurol.2024.3770
52. Bateman RJ, Aisen PS, De Strooper B, Fox NC, Lemere CA, Ringman JM, et al. Autosomal-dominant Alzheimer's disease: a review and proposal for the prevention of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2011 Jan 6;3(1):1. doi:10.1186/alzrt59 PubMed PMID: 21211070; PubMed Central PMCID: PMC3109410.
53. Dai MH, Zheng H, Zeng LD, Zhang Y. The genes associated with early-onset Alzheimer's disease. *Oncotarget*. 2018 Mar 13;9(19):15132–43. doi:10.18632/oncotarget.23738
54. Fortea J, Zaman SH, Hartley S, Rafi MS, Head E, Carmona-Iragui M. Alzheimer's disease associated with Down syndrome: a genetic form of dementia. *Lancet Neurol*. 2021 Nov;20(11):930–42. doi:10.1016/S1474-4422(21)00245-3
55. Robinson JL, Lee EB, Xie SX, Rennert L, Suh E, Bredenberg C, et al. Neurodegenerative disease concomitant proteinopathies are prevalent, age-related and APOE4-associated. *Brain*. 2018 Jul 1;141(7):2181–93. doi:10.1093/brain/awy146
56. Verghese PB, Castellano JM, Holtzman DM. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2011 Mar;10(3):241–52. doi:10.1016/S1474-4422(10)70325-2
57. Fortea J, Pegueroles J, Alcolea D, Belbin O, Dols-Icardo O, Vaqué-Alcázar L, et al. APOE4 homozygosity represents a distinct genetic form of Alzheimer's disease. *Nat Med*. 2024 May;30(5):1284–91. doi:10.1038/s41591-024-02931-w
58. Hardy J, Selkoe DJ. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science*. 2002 Jul 19;297(5580):353–6. doi:10.1126/science.1072994

59. Karran E, Mercken M, Strooper BD. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2011 Sep;10(9):698–712. doi:10.1038/nrd3505
60. Karran E, De Strooper B. The amyloid cascade hypothesis: are we poised for success or failure? *J Neurochem*. 2016 Oct;139(S2):237–52. doi:10.1111/jnc.13632
61. Serrano-Pozo A, Muzikansky A, Gómez-Isla T, Growdon JH, Betensky RA, Frosch MP, et al. Differential Relationships of Reactive Astrocytes and Microglia to Fibrillar Amyloid Deposits in Alzheimer Disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2013 Jun;72(6):462–71. doi:10.1097/NEN.0b013e3182933788
62. Coulthard EJ, Love S. A broader view of dementia: multiple co-pathologies are the norm. *Brain*. 2018 Jul 1;141(7):1894–7. doi:10.1093/brain/awy153
63. Palmqvist S, Mattsson N, Hansson O, for the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Cerebrospinal fluid analysis detects cerebral amyloid- β accumulation earlier than positron emission tomography. *Brain*. 2016 Apr;139(4):1226–36. doi:10.1093/brain/aww015
64. Schindler SE, Gray JD, Gordon BA, Xiong C, Batrla-Utermann R, Quan M, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers measured by Elecsys assays compared to amyloid imaging. *Alzheimers Dement*. 2018 Nov;14(11):1460–9. doi:10.1016/j.jalz.2018.01.013
65. Landau SM, Lu M, Joshi AD, Pontecorvo M, Mintun MA, Trojanowski JQ, et al. Comparing positron emission tomography imaging and cerebrospinal fluid measurements of β -amyloid. *Ann Neurol*. 2013 Dec;74(6):826–36. doi:10.1002/ana.23908
66. Alcolea D, Pegueroles J, Muñoz L, Camacho V, López-Mora D, Fernández-León A, et al. Agreement of amyloid PET and CSF biomarkers for Alzheimer's disease on Lumipulse. *Ann Clin Transl Neurol*. 2019 Sep;6(9):1815–24. doi:10.1002/acn3.50873
67. Mattsson-Carlsson N, Andersson E, Janelidze S, Ossenkoppele R, Insel P, Strandberg O, et al. A β deposition is associated with increases in soluble and phosphorylated tau that precede a positive Tau PET in Alzheimer's disease. *Sci Adv*. 2020 Apr 17;6(16):eaaz2387. doi:10.1126/sciadv.aaz2387
68. Arranz AM, De Strooper B. The role of astroglia in Alzheimer's disease: pathophysiology and clinical implications. *Lancet Neurol*. 2019 Apr;18(4):406–14. doi:10.1016/S1474-4422(18)30490-3
69. Preman P, Alfonso-Triguero M, Alberdi E, Verkhatsky A, Arranz AM. Astrocytes in Alzheimer's Disease: Pathological Significance and Molecular Pathways. *Cells*. 2021 Mar 4;10(3):540. doi:10.3390/cells10030540

70. Perbet R, Zufferey V, Leroux E, Parietti E, Espourteille J, Culebras L, et al. Tau Transfer via Extracellular Vesicles Disturbs the Astrocytic Mitochondrial System. *Cells*. 2023 Mar 23;12(7):985. doi:10.3390/cells12070985
71. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, Plogg BA, Peng W, Gundersen GA, et al. A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid β . *Sci Transl Med*. 2012 Aug 15;4(147). doi:10.1126/scitranslmed.3003748
72. Tarasoff-Conway JM, Carare RO, Osorio RS, Glodzik L, Butler T, Fieremans E, et al. Clearance systems in the brain—implications for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2015 Aug;11(8):457–70. doi:10.1038/nrneurol.2015.119
73. Sánchez-Juan P, Valeriano-Lorenzo E, Ruiz-González A, Pastor AB, Rodrigo Lara H, López-González F, et al. Serum GFAP levels correlate with astrocyte reactivity, post-mortem brain atrophy and neurofibrillary tangles. *Brain J Neurol*. 2024 May 3;147(5):1667–79. doi:10.1093/brain/awae035 PubMed PMID: 38634687; PubMed Central PMCID: PMC11068326.
74. Pereira JB, Janelidze S, Smith R, Mattsson-Carlgrén N, Palmqvist S, Teunissen CE, et al. Plasma GFAP is an early marker of amyloid- β but not tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain*. 2021 Dec 16;144(11):3505–16. doi:10.1093/brain/awab223
75. Bellaver B, Povala G, Ferreira PCL, Ferrari-Souza JP, Leffa DT, Lussier FZ, et al. Astrocyte reactivity influences amyloid- β effects on tau pathology in preclinical Alzheimer's disease. *Nat Med*. 2023 Jul;29(7):1775–81. doi:10.1038/s41591-023-02380-x
76. Guo T, Li A, Sun P, He Z, Cai Y, Lan G, et al. Astrocyte reactivity is associated with tau tangle load and cortical thinning in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2024 Jul 30;19(1):58. doi:10.1186/s13024-024-00750-8
77. Montoliu-Gaya L, Alcolea D, Ashton NJ, Pegueroles J, Levin J, Bosch B, et al. Plasma and cerebrospinal fluid glial fibrillary acidic protein levels in adults with Down syndrome: a longitudinal cohort study. *eBioMedicine*. 2023 Apr;90:104547. doi:10.1016/j.ebiom.2023.104547
78. Heneka MT, Gauthier S, Chandekar SA, Hviid Hahn-Pedersen J, Bentsen MA, Zetterberg H. Neuroinflammatory fluid biomarkers in patients with Alzheimer's disease: a systematic literature review. *Mol Psychiatry*. 2025 Jun;30(6):2783–98. doi:10.1038/s41380-025-02939-9
79. Craig-Schapiro R, Perrin RJ, Roe CM, Xiong C, Carter D, Cairns NJ, et al. YKL-40: A Novel Prognostic Fluid Biomarker for Preclinical Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry*. 2010 Nov;68(10):903–12. doi:10.1016/j.biopsych.2010.08.025
80. Bang J, Spina S, Miller BL. Frontotemporal dementia. *The Lancet*. 2015 Oct;386(10004):1672–82. doi:10.1016/S0140-6736(15)00461-4

81. Boeve BF, Boxer AL, Kumfor F, Pijnenburg Y, Rohrer JD. Advances and controversies in frontotemporal dementia: diagnosis, biomarkers, and therapeutic considerations. *Lancet Neurol*. 2022 Mar;21(3):258–72. doi:10.1016/S1474-4422(21)00341-0
82. Logroschino G, Piccininni M, Graff C, Hardiman O, Ludolph AC, Moreno F, et al. Incidence of Syndromes Associated With Frontotemporal Lobar Degeneration in 9 European Countries. *JAMA Neurol*. 2023 Mar 1;80(3):279. doi:10.1001/jamaneurol.2022.5128
83. Coyle-Gilchrist ITS, Dick KM, Patterson K, Vázquez Rodríguez P, Wehmann E, Wilcox A, et al. Prevalence, characteristics, and survival of frontotemporal lobar degeneration syndromes. *Neurology*. 2016 May 3;86(18):1736–43. doi:10.1212/WNL.0000000000002638
84. Rascofsky K, Hodges JR, Knopman D, Mendez MF, Kramer JH, Neuhaus J, et al. Sensitivity of revised diagnostic criteria for the behavioural variant of frontotemporal dementia. *Brain*. 2011 Sep;134(9):2456–77. doi:10.1093/brain/awr179
85. Armstrong MJ, Litvan I, Lang AE, Bak TH, Bhatia KP, Borroni B, et al. Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. *Neurology*. 2013 Jan 29;80(5):496–503. doi:10.1212/WNL.0b013e31827f0fd1
86. Snowden JS, Rollinson S, Thompson JC, Harris JM, Stopford CL, Richardson AMT, et al. Distinct clinical and pathological characteristics of frontotemporal dementia associated with C9ORF72 mutations. *Brain J Neurol*. 2012 Mar;135(Pt 3):693–708. doi:10.1093/brain/awr355 PubMed PMID: 22300873; PubMed Central PMCID: PMC3286329.
87. Neumann M, Mackenzie IRA. Review: Neuropathology of non-tau frontotemporal lobar degeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2019 Feb;45(1):19–40. doi:10.1111/nan.12526
88. Mackenzie IRA, Neumann M. Molecular neuropathology of frontotemporal dementia: insights into disease mechanisms from postmortem studies. *J Neurochem*. 2016 Aug;138(S1):54–70. doi:10.1111/jnc.13588
89. Elahi FM, Miller BL. A clinicopathological approach to the diagnosis of dementia. *Nat Rev Neurol*. 2017 Aug;13(8):457–76. doi:10.1038/nrneurol.2017.96
90. Greaves CV, Rohrer JD. An update on genetic frontotemporal dementia. *J Neurol*. 2019 Aug;266(8):2075–86. doi:10.1007/s00415-019-09363-4
91. Grossman M, Seeley WW, Boxer AL, Hillis AE, Knopman DS, Ljubenov PA, et al. Frontotemporal lobar degeneration. *Nat Rev Dis Primer*. 2023 Aug 10;9(1):40. doi:10.1038/s41572-023-00447-0
92. Del Campo M, Zetterberg H, Gandy S, Onyike CU, Oliveira F, Udeh-Momoh C, et al. New developments of biofluid-based biomarkers for routine diagnosis and disease trajectories in frontotemporal dementia. *Alzheimers Dement*. 2022 Nov;18(11):2292–307. doi:10.1002/alz.12643

93. Ulugut Erkoyun H, Groot C, Heilbron R, Nelissen A, Van Rossum J, Jutten R, et al. A clinical-radiological framework of the right temporal variant of frontotemporal dementia. *Brain*. 2020 Sep 1;143(9):2831–43. doi:10.1093/brain/awaa225
94. Younes K, Borghesani V, Montembeault M, Spina S, Mandelli ML, Welch AE, et al. Right temporal degeneration and socioemotional semantics: semantic behavioural variant frontotemporal dementia. *Brain*. 2022 Nov 21;145(11):4080–96. doi:10.1093/brain/awac217
95. Grimm M, Respondek G, Stamelou M, Arzberger T, Ferguson L, Gelpi E, et al. How to apply the movement disorder society criteria for diagnosis of progressive supranuclear palsy. *Mov Disord*. 2019 Aug;34(8):1228–32. doi:10.1002/mds.27666
96. Höglinger GU, Respondek G, Stamelou M, Kurz C, Josephs KA, Lang AE, et al. Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: The movement disorder society criteria: MDS Clinical Diagnostic Criteria for PSP. *Mov Disord*. 2017 Jun;32(6):853–64. doi:10.1002/mds.26987
97. Strong MJ, Abrahams S, Goldstein LH, Woolley S, McLaughlin P, Snowden J, et al. Amyotrophic lateral sclerosis - frontotemporal spectrum disorder (ALS-FTSD): Revised diagnostic criteria. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener*. 2017 Apr 3;18(3–4):153–74. doi:10.1080/21678421.2016.1267768
98. Chatterjee M, Özdemir S, Fritz C, Möbius W, Kleineidam L, Mandelkow E, et al. Plasma extracellular vesicle tau and TDP-43 as diagnostic biomarkers in FTD and ALS. *Nat Med*. 2024 Jun;30(6):1771–83. doi:10.1038/s41591-024-02937-4
99. Hansson O, Edelmayer RM, Boxer AL, Carrillo MC, Mielke MM, Rabinovici GD, et al. The Alzheimer's Association appropriate use recommendations for blood biomarkers in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2022 Dec;18(12):2669–86. doi:10.1002/alz.12756
100. Fenoglio C, Serpente M, Arcaro M, Carandini T, Sacchi L, Pintus M, et al. Inflammatory plasma profile in genetic symptomatic and presymptomatic Frontotemporal Dementia – A GENFI study. *Brain Behav Immun*. 2024 Nov;122:231–40. doi:10.1016/j.bbi.2024.08.030
101. Liampas I, Kyriakouloupoulou P, Karakoida V, Kavvoura PA, Sgantzios M, Bogdanos DP, et al. Blood-Based Biomarkers in Frontotemporal Dementia: A Narrative Review. *Int J Mol Sci*. 2024 Nov 4;25(21):11838. doi:10.3390/ijms252111838
102. Abu-Rumeileh S, Steinacker P, Polisch B, Mammana A, Bartoletti-Stella A, Oeckl P, et al. CSF biomarkers of neuroinflammation in distinct forms and subtypes of neurodegenerative dementia. *Alzheimers Res Ther*. 2020 Dec;12(1):2. doi:10.1186/s13195-019-0562-4

103. Thompson AG, Turner MR. Untangling neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019 Jul 11;jnnp-2019-321242. doi:10.1136/jnnp-2019-321242
104. Woollacott IOC, Nicholas JM, Heller C, Foiani MS, Moore KM, Russell LL, et al. Cerebrospinal Fluid YKL-40 and Chitotriosidase Levels in Frontotemporal Dementia Vary by Clinical, Genetic and Pathological Subtype. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2020;49(1):56–76. doi:10.1159/000506282
105. Alcolea D, Irwin DJ, Illán-Gala I, Muñoz L, Clarimón J, McMillan CT, et al. Elevated YKL-40 and low sAPP β :YKL-40 ratio in antemortem cerebrospinal fluid of patients with pathologically confirmed FTLD. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019 Feb;90(2):180–6. doi:10.1136/jnnp-2018-318993
106. Baranwal N, Yu PK, Siegel NS. Sleep physiology, pathophysiology, and sleep hygiene. *Prog Cardiovasc Dis*. 2023 Mar;77:59–69. doi:10.1016/j.pcad.2023.02.005
107. Artiushin G, Sehgal A. The Glial Perspective on Sleep and Circadian Rhythms. *Annu Rev Neurosci*. 2020 Jul 8;43(1):119–40. doi:10.1146/annurev-neuro-091819-094557
108. Sadeh A. III. SLEEP ASSESSMENT METHODS. *Monogr Soc Res Child Dev*. 2015 Mar;80(1):33–48. doi:10.1111/mono.12143
109. Garofalo S, Picard K, Limatola C, Nadjar A, Pascual O, Tremblay MÈ. Role of Glia in the Regulation of Sleep in Health and Disease. *Compr Physiol*. 2020;10:26.
110. Carvalhas-Almeida C, Serra J, Moita J, Cavadas C, Álvaro AR. Understanding neuron-glia crosstalk and biological clocks in insomnia. *Neurosci Biobehav Rev*. 2023 Apr;147:105100. doi:10.1016/j.neubiorev.2023.105100
111. Macheda T, Roberts K, Lyons DN, Higgins E, Ritter KJ, Lin A ling, et al. Chronic Intermittent Hypoxia Induces Robust Astroglia in an Alzheimer's Disease-Relevant Mouse Model. *Neuroscience*. 2019 Feb;398:55–63. doi:10.1016/j.neuroscience.2018.11.040
112. Zhang P, Tan CW, Chen GH, Ge YJ, Xu J, Xia L, et al. Patients with chronic insomnia disorder have increased serum levels of neurofilaments, neuron-specific enolase and S100B: does organic brain damage exist? *Sleep Med*. 2018 Aug;48:163–71. doi:10.1016/j.sleep.2017.12.012
113. Irwin MR, Vitiello MV. Implications of sleep disturbance and inflammation for Alzheimer's disease dementia. *Lancet Neurol*. 2019 Mar;18(3):296–306. doi:10.1016/S1474-4422(18)30450-2
114. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, Plogg BA, Peng W, Gundersen GA, et al. A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid β . *Sci Transl Med*. 2012 Aug 15;4(147). doi:10.1126/scitranslmed.3003748

115. Szlufik S, Kopeć K, Szleszkowski S, Koziorowski D. Glymphatic System Pathology and Neuroinflammation as Two Risk Factors of Neurodegeneration. *Cells*. 2024 Feb 5;13(3):286. doi:10.3390/cells13030286
116. Miner B, Kryger MH. Sleep in the Aging Population. *Sleep Med Clin*. 2017 Mar;12(1):31–8. doi:10.1016/j.jsmc.2016.10.008 PubMed PMID: 28159095; PubMed Central PMCID: PMC5300306.
117. Li J, Vitiello MV, Gooneratne NS. Sleep in Normal Aging. *Sleep Med Clin*. 2018 Mar;13(1):1–11. doi:10.1016/j.jsmc.2017.09.001
118. Ju YES, Ooms SJ, Sutphen C, Macauley SL, Zangrilli MA, Jerome G, et al. Slow wave sleep disruption increases cerebrospinal fluid amyloid- β levels. *Brain*. 2017 Aug 1;140(8):2104–11. doi:10.1093/brain/awx148
119. Lucey BP, Hicks TJ, McLeland JS, Toedebusch CD, Boyd J, Elbert DL, et al. Effect of sleep on overnight cerebrospinal fluid amyloid β kinetics. *Ann Neurol*. 2018 Jan;83(1):197–204. doi:10.1002/ana.25117
120. Lucey BP, McCullough A, Landsness EC, Toedebusch CD, McLeland JS, Zaza AM, et al. Reduced non-rapid eye movement sleep is associated with tau pathology in early Alzheimer's disease. *Sci Transl Med*. 2019 Jan 9;11(474):eaau6550. doi:10.1126/scitranslmed.aau6550
121. Varga AW, Wohlleber ME, Giménez S, Romero S, Alonso JF, Ducca EL, et al. Reduced Slow-Wave Sleep Is Associated with High Cerebrospinal Fluid A β 42 Levels in Cognitively Normal Elderly. *Sleep*. 2016 Nov 1;39(11):2041–8. doi:10.5665/sleep.6240
122. Carvalho DZ, St Louis EK, Knopman DS, Boeve BF, Lowe VJ, Roberts RO, et al. Association of Excessive Daytime Sleepiness With Longitudinal β -Amyloid Accumulation in Elderly Persons Without Dementia. *JAMA Neurol*. 2018 Jun 1;75(6):672. doi:10.1001/jamaneurol.2018.0049
123. Sharma RA, Varga AW, Bubu OM, Pirraglia E, Kam K, Parekh A, et al. Obstructive Sleep Apnea Severity Affects Amyloid Burden in Cognitively Normal Elderly. A Longitudinal Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018 Apr 1;197(7):933–43. doi:10.1164/rccm.201704-0704OC
124. Bubu OM, Brannick M, Mortimer J, Umasabor-Bubu O, Sebastião YV, Wen Y, et al. Sleep, Cognitive impairment, and Alzheimer's disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sleep*. 2017 Jan 1;40(1). doi:10.1093/sleep/zsw032
125. Osorio RS, Gumb T, Pirraglia E, Varga AW, Lu S en, Lim J, et al. Sleep-disordered breathing advances cognitive decline in the elderly. *Neurology*. 2015 May 12;84(19):1964–71. doi:10.1212/WNL.0000000000001566

126. Owen JE, Benediktsdottir B, Cook E, Olafsson I, Gislason T, Robinson SR. Alzheimer's disease neuropathology in the hippocampus and brainstem of people with obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2021 Mar 12;44(3):zsaa195. doi:10.1093/sleep/zsaa195
127. Bubu OM, Pirraglia E, Andrade AG, Sharma RA, Gimenez-Badia S, Umasabor-Bubu OQ, et al. Obstructive sleep apnea and longitudinal Alzheimer's disease biomarker changes. *Sleep*. 2019 Jun 11;42(6):zsz048. doi:10.1093/sleep/zsz048
128. Van Egroo M, Koshmanova E, Vandewalle G, Jacobs HIL. Importance of the locus coeruleus-norepinephrine system in sleep-wake regulation: Implications for aging and Alzheimer's disease. *Sleep Med Rev*. 2022 Apr;62:101592. doi:10.1016/j.smrv.2022.101592
129. Mander BA, Marks SM, Vogel JW, Rao V, Lu B, Saletin JM, et al. β -amyloid disrupts human NREM slow waves and related hippocampus-dependent memory consolidation. *Nat Neurosci*. 2015 Jul;18(7):1051–7. doi:10.1038/nn.4035
130. Jacobs HIL, Becker JA, Kwong K, Engels-Domínguez N, Prokopiou PC, Papp KV, et al. In vivo and neuropathology data support locus coeruleus integrity as indicator of Alzheimer's disease pathology and cognitive decline. *Sci Transl Med*. 2021 Sep 22;13(612):eabj2511. doi:10.1126/scitranslmed.abj2511
131. Targa A, Dakterzada F, Benítez I, López R, Pujol M, Dalmases M, et al. Decrease in sleep depth is associated with higher cerebrospinal fluid neurofilament light levels in patients with Alzheimer's disease. *Sleep*. 2021 Feb 12;44(2). doi:10.1093/sleep/zsaa147
132. Postnov D, Semyachkina-Glushkovskaya O, Litvinenko E, Kurths J, Penzel T. Mechanisms of Activation of Brain's Drainage during Sleep: The Nightlife of Astrocytes. *Cells*. 2023 Nov 20;12(22):2667. doi:10.3390/cells12222667
133. Fjell AM, Idland AV, Sala-Llonch R, Watne LO, Borza T, Brækhus A, et al. Neuroinflammation and Tau Interact with Amyloid in Predicting Sleep Problems in Aging Independently of Atrophy. *Cereb Cortex*. 2018 Aug 1;28(8):2775–85. doi:10.1093/cercor/bhx157
134. Zhang P, Li YX, Zhang ZZ, Yang Y, Rao JX, Xia L, et al. Astroglial Mechanisms Underlying Chronic Insomnia Disorder: A Clinical Study. *Nat Sci Sleep*. 2020 Oct;Volume 12:693–704. doi:10.2147/NSS.S263528
135. Giménez S, Altuna M, Blessing E, Osorio RM, Fortea J. Sleep Disorders in Adults with Down Syndrome. *J Clin Med*. 2021 Jul 6;10(14):3012. doi:10.3390/jcm10143012
136. Cousins KAQ, Shaw LM, Chen-Plotkin A, Wolk DA, Van Deerlin VM, Lee EB, et al. Distinguishing Frontotemporal Lobar Degeneration Tau From TDP-43 Using Plasma Biomarkers. *JAMA Neurol*. 2022 Nov 1;79(11):1155. doi:10.1001/jamaneurol.2022.3265
137. Oeckl P, Halbgebauer S, Anderl-Straub S, Steinacker P, Huss AM, Neugebauer H, et al. Glial Fibrillary Acidic Protein in Serum is Increased in Alzheimer's Disease and Correlates with Cognitive Impairment. *J Alzheimer's Dis*. 2019 Jan 22;67(2):481–8. doi:10.3233/JAD-180325

138. Casagrande M, Forte G, Favieri F, Corbo I. Sleep Quality and Aging: A Systematic Review on Healthy Older People, Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Jul 11;19(14):8457. doi:10.3390/ijerph19148457
139. Liguori C, Placidi F, Izzi F, Spanetta M, Mercuri NB, Di Pucchio A. Sleep dysregulation, memory impairment, and CSF biomarkers during different levels of neurocognitive functioning in Alzheimer's disease course. *Alzheimers Res Ther*. 2020 Dec;12(1):5. doi:10.1186/s13195-019-0571-3
140. Zhu N, Santos-Santos M, Illán-Gala I, Montal V, Estellés T, Barroeta I, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein and neurofilament light chain for the diagnostic and prognostic evaluation of frontotemporal dementia. *Transl Neurodegener*. 2021 Dec 10;10(1):50. doi:10.1186/s40035-021-00275-w
141. Zhu N, Altuna M, Arranz J, Rodríguez-Baz Í, Sanchez-Saudinós MB, Videla L, et al. Sleep-related changes in astrocytic biomarkers are modulated by *APOE* ϵ 4 genotype in cognitively unimpaired adults. *Brain Commun*. 2025 Nov 7;fcf437. doi:10.1093/braincomms/fcaf437
142. Giménez S, Vaqué-Alcázar L, Zhu N, Benejam B, Arranz J, Maure-Blesa L, et al. Impact of Alzheimer's disease on sleep in adults with Down syndrome. *Alzheimers Dement*. 2025 Jul;21(7):e70400. doi:10.1002/alz.70400
143. Ashton NJ, Janelidze S, Al Khleifat A, Leuzy A, Van Der Ende EL, Karikari TK, et al. A multicentre validation study of the diagnostic value of plasma neurofilament light. *Nat Commun*. 2021 Jun 7;12(1):3400. doi:10.1038/s41467-021-23620-z
144. Davydow DS, Brasfield M, Morrow CB, Staffaroni AM, Pontone GM, Asken BM. Neurofilament Light Chain and Differentiation of Behavioral Variant Frontotemporal Dementia From Psychiatric Disorders: A Systematic Review. *JAMA Psychiatry*. 2025 Sep 10. doi:10.1001/jamapsychiatry.2025.2429
145. Marelli C, Hourregue C, Gutierrez LA, Paquet C, Menjot de Champfleury N, De Verbizier D, et al. Cerebrospinal Fluid and Plasma Biomarkers do not Differ in the Presenile and Late-Onset Behavioral Variants of Frontotemporal Dementia. Borroni B, editor. *J Alzheimers Dis*. 2020 Apr 7;74(3):903–11. doi:10.3233/JAD-190378
146. Benussi A, Cantoni V, Rivolta J, Archetti S, Micheli A, Ashton N, et al. Classification accuracy of blood-based and neurophysiological markers in the differential diagnosis of Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *Alzheimers Res Ther*. 2022 Oct 13;14(1):155. doi:10.1186/s13195-022-01094-5
147. Doecke JD, Bellomo G, Vermunt L, Alcolea D, Halbgebauer S, In 't Veld S, et al. Diagnostic performance of plasma A β 42/40 ratio, p-tau181, GFAP, and NfL along the continuum of Alzheimer's disease and non-AD dementias: An international multi-center study. *Alzheimers Dement*. 2025 Jun;21(6):e14573. doi:10.1002/alz.14573

148. Gómez-Tortosa E, Agüero-Rabes P, Ruiz-González A, Wagner-Reguero S, Téllez R, Mahillo I, et al. Plasma Biomarkers in the Distinction of Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia. *Int J Mol Sci*. 2025 Jan 30;26(3):1231. doi:10.3390/ijms26031231
149. Chouliaras L, Thomas A, Malpetti M, Donaghy P, Kane J, Mak E, et al. Differential levels of plasma biomarkers of neurodegeneration in Lewy body dementia, Alzheimer's disease, frontotemporal dementia and progressive supranuclear palsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2022 Jun;93(6):651–8. doi:10.1136/jnnp-2021-327788
150. Heller C, Foiani MS, Moore K, Convery R, Bocchetta M, Neason M, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein is raised in progranulin-associated frontotemporal dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2020 Mar;91(3):263–70. doi:10.1136/jnnp-2019-321954
151. Benussi A, Ashton NJ, Karikari TK, Gazzina S, Premi E, Benussi L, et al. Serum Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) Is a Marker of Disease Severity in Frontotemporal Lobar Degeneration. Arighi A, editor. *J Alzheimer's Dis*. 2020 Sep 29;77(3):1129–41. doi:10.3233/JAD-200608
152. Van Der Ende EL, Heller C, Sogorb-Esteve A, Swift IJ, McFall D, Peakman G, et al. Elevated CSF and plasma complement proteins in genetic frontotemporal dementia: results from the GENFI study. *J Neuroinflammation*. 2022 Sep 5;19(1):217. doi:10.1186/s12974-022-02573-0
153. Ashton NJ, Brum WS, Di Molfetta G, Benedet AL, Arslan B, Jonaitis E, et al. Diagnostic Accuracy of a Plasma Phosphorylated Tau 217 Immunoassay for Alzheimer Disease Pathology. *JAMA Neurol*. 2024 Mar 1;81(3):255. doi:10.1001/jamaneurol.2023.5319
154. Palmqvist S, Warmenhoven N, Anastasi F, Pilotto A, Janelidze S, Tideman P, et al. Plasma phospho-tau217 for Alzheimer's disease diagnosis in primary and secondary care using a fully automated platform. *Nat Med*. 2025 Jun;31(6):2036–43. doi:10.1038/s41591-025-03622-w
155. Aarsland D, Sunde AL, Tovar-Rios DA, Leuzy A, Fladby T, Zetterberg H, et al. Prevalence of Alzheimer's disease pathology in the community. *Nature*. 2026 Feb 5;650(8100):182–6. doi:10.1038/s41586-025-09841-y
156. Sims JR, Zimmer JA, Evans CD, Lu M, Ardayfio P, Sparks J, et al. Donanemab in Early Symptomatic Alzheimer Disease: The TRAILBLAZER-ALZ 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2023 Aug 8;330(6):512. doi:10.1001/jama.2023.13239
157. Van Dyck CH, Swanson CJ, Aisen P, Bateman RJ, Chen C, Gee M, et al. Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 2023 Jan 5;388(1):9–21. doi:10.1056/NEJMoa2212948
158. Huber H, Arranz J, Arslan B, Leuzy A, Kittel O, Di Molfetta G, et al. Plasma p-tau217 as a biomarker of Alzheimer's disease pathology in individuals with Down syndrome. *Nat Commun*. 2025 Nov 10;16(1):9900. doi:10.1038/s41467-025-65882-x

159. Montoliu-Gaya L, Alcolea D, Ashton NJ, Pegueroles J, Levin J, Bosch B, et al. Plasma and cerebrospinal fluid glial fibrillary acidic protein levels in adults with Down syndrome: a longitudinal cohort study. *eBioMedicine*. 2023 Apr;90:104547. doi:10.1016/j.ebiom.2023.104547
160. Chatterjee P, Pedrini S, Stoops E, Goozee K, Villemagne VL, Asih PR, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein is elevated in cognitively normal older adults at risk of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry*. 2021 Jan 11;11(1):27. doi:10.1038/s41398-020-01137-1
161. De Meyer S, Blujdea ER, Schaevebeke J, Reinartz M, Luckett ES, Adamczuk K, et al. Longitudinal associations of serum biomarkers with early cognitive, amyloid and grey matter changes. *Brain*. 2024 Mar 1;147(3):936–48. doi:10.1093/brain/awad330
162. Matthews DC, Kinney JW, Ritter A, Andrews RD, Toledano Strom EN, Lukic AS, et al. Relationships between plasma biomarkers, tau PET, FDG PET, and volumetric MRI in mild to moderate Alzheimer's disease patients. *Alzheimers Dement Transl Res Clin Interv*. 2024 Jul;10(3):e12490. doi:10.1002/trc2.12490
163. Pereira JB, Janelidze S, Smith R, Mattsson-Carlgrén N, Palmqvist S, Teunissen CE, et al. Plasma GFAP is an early marker of amyloid- β but not tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain*. 2021 Dec 16;144(11):3505–16. doi:10.1093/brain/awab223
164. Peretti DE, Boccalini C, Ribaldi F, Scheffler M, Marizzoni M, Ashton NJ, et al. Association of glial fibrillary acid protein, Alzheimer's disease pathology and cognitive decline. *Brain*. 2024 Dec 3;147(12):4094–104. doi:10.1093/brain/awae211
165. Shir D, Graff-Radford J, Hofrenning EI, Lesnick TG, Przybelski SA, Lowe VJ, et al. Association of plasma glial fibrillary acidic protein (GFAP) with neuroimaging of Alzheimer's disease and vascular pathology. *Alzheimers Dement Diagn Assess Dis Monit*. 2022 Jan;14(1):e12291. doi:10.1002/dad2.12291
166. Stocker H, Beyer L, Perna L, Rujescu D, Holleczek B, Beyreuther K, et al. Association of plasma biomarkers, p-tau181, glial fibrillary acidic protein, and neurofilament light, with intermediate and long-term clinical Alzheimer's disease risk: Results from a prospective cohort followed over 17 years. *Alzheimers Dement*. 2023 Jan;19(1):25–35. doi:10.1002/alz.12614
167. Verberk IMW, Laarhuis MB, Van Den Bosch KA, Ebenau JL, Van Leeuwenstijn M, Prins ND, et al. Serum markers glial fibrillary acidic protein and neurofilament light for prognosis and monitoring in cognitively normal older people: a prospective memory clinic-based cohort study. *Lancet Healthy Longev*. 2021 Feb;2(2):e87–95. doi:10.1016/S2666-7568(20)30061-1
168. Wu C, Chen L, Fatima H, Gatchel J, Das S, Kivisäkk P, et al. Combined use of plasma p-tau217, NFL, and GFAP predicts domain-specific cognitive decline in cognitively unimpaired and MCI individuals. *Alzheimers Dement*. 2025 Dec;21(12):e70934. doi:10.1002/alz.70934

169. Pan F, Huang L, Wang Y, Huang Q, Guan Y, Li Y, et al. Plasma P-tau217, GFAP, and NfL as biomarkers for Alzheimer's disease: role in disease stratification, pathological progression, and cognitive decline. *Alzheimers Dement*. 2025 Dec;21(12):e70987. doi:10.1002/alz.70987
170. Fernández-Matarrubia M, Valera-Barrero A, Renuncio-García M, Aguilera M, Lage C, López-García S, et al. Early microglial and astrocyte reactivity in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2025 Aug;21(8):e70502. doi:10.1002/alz.70502
171. Chatterjee P, Pedrini S, Stoops E, Goozee K, Villemagne VL, Asih PR, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein is elevated in cognitively normal older adults at risk of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry*. 2021 Jan 11;11(1):27. doi:10.1038/s41398-020-01137-1
172. Mathys H, Davila-Velderrain J, Peng Z, Gao F, Mohammadi S, Young JZ, et al. Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease. *Nature*. 2019 Jun 20;570(7761):332–7. doi:10.1038/s41586-019-1195-2
173. Zhang P, Tan CW, Chen GH, Ge YJ, Xu J, Xia L, et al. Patients with chronic insomnia disorder have increased serum levels of neurofilaments, neuron-specific enolase and S100B: does organic brain damage exist? *Sleep Med*. 2018 Aug;48:163–71. doi:10.1016/j.sleep.2017.12.012
174. Targa A, Dakterzada F, Benítez I, López R, Pujol M, Dalmau M, et al. Decrease in sleep depth is associated with higher cerebrospinal fluid neurofilament light levels in patients with Alzheimer's disease. *Sleep*. 2021 Feb 12;44(2):zsaa147. doi:10.1093/sleep/zsaa147
175. Bellesi M, De Vivo L, Chini M, Gilli F, Tononi G, Cirelli C. Sleep Loss Promotes Astrocytic Phagocytosis and Microglial Activation in Mouse Cerebral Cortex. *J Neurosci*. 2017 May 24;37(21):5263–73. doi:10.1523/JNEUROSCI.3981-16.2017
176. Mander BA, Dave A, Lui KK, Sprecher KE, Berisha D, Chappel-Farley MG, et al. Inflammation, tau pathology, and synaptic integrity associated with sleep spindles and memory prior to β -amyloid positivity. *SLEEP*. 2022 Sep 8;45(9):zsac135. doi:10.1093/sleep/zsac135
177. Varga AW, Wohlleber ME, Giménez S, Romero S, Alonso JF, Ducca EL, et al. Reduced Slow-Wave Sleep Is Associated with High Cerebrospinal Fluid A β 42 Levels in Cognitively Normal Elderly. *Sleep*. 2016 Nov 1;39(11):2041–8. doi:10.5665/sleep.6240
178. Ju YES, Ooms SJ, Sutphen C, Macauley SL, Zangrilli MA, Jerome G, et al. Slow wave sleep disruption increases cerebrospinal fluid amyloid- β levels. *Brain*. 2017 Aug 1;140(8):2104–11. doi:10.1093/brain/awx148
179. Brown RE, Basheer R, McKenna JT, Strecker RE, McCarley RW. Control of Sleep and Wakefulness. *Physiol Rev*. 2012 Jul;92(3):1087–187. doi:10.1152/physrev.00032.2011

180. Lucey BP, Mawuenyega KG, Patterson BW, Elbert DL, Ovod V, Kasten T, et al. Associations Between β -Amyloid Kinetics and the β -Amyloid Diurnal Pattern in the Central Nervous System. *JAMA Neurol.* 2017 Feb 1;74(2):207. doi:10.1001/jamaneurol.2016.4202
181. Lucey BP, Mawuenyega KG, Patterson BW, Elbert DL, Ovod V, Kasten T, et al. Associations Between β -Amyloid Kinetics and the β -Amyloid Diurnal Pattern in the Central Nervous System. *JAMA Neurol.* 2017 Feb 1;74(2):207. doi:10.1001/jamaneurol.2016.4202
182. Lucey BP, Bateman RJ. Amyloid- β diurnal pattern: possible role of sleep in Alzheimer's disease pathogenesis. *Neurobiol Aging.* 2014 Sep;35:S29–34. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.035
183. Liu H, Barthélemy NR, Ovod V, Bollinger JG, He Y, Chahin SL, et al. Acute sleep loss decreases CSF-to-blood clearance of Alzheimer's disease biomarkers. *Alzheimers Dement.* 2023 Jul;19(7):3055–64. doi:10.1002/alz.12930
184. Ohayon MM, Carskadon MA, Guilleminault C, Vitiello MV. Meta-Analysis of Quantitative Sleep Parameters From Childhood to Old Age in Healthy Individuals: Developing Normative Sleep Values Across the Human Lifespan. *Sleep.* 2004 Oct;27(7):1255–73. doi:10.1093/sleep/27.7.1255
185. Franceschi C, Garagnani P, Parini P, Giuliani C, Santoro A. Inflammaging: a new immune–metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2018 Oct;14(10):576–90. doi:10.1038/s41574-018-0059-4
186. Garaschuk O, Semchyshyn HM, Lushchak VI. Healthy brain aging: Interplay between reactive species, inflammation and energy supply. *Ageing Res Rev.* 2018 May;43:26–45. doi:10.1016/j.arr.2018.02.003
187. Labarta-Bajo L, Allen NJ. Astrocytes in aging. *Neuron.* 2025 Jan;113(1):109–26. doi:10.1016/j.neuron.2024.12.010
188. André C, Martineau-Dussault MÈ, Baril AA, Marchi NA, Daneault V, Lorrain D, et al. Reduced rapid eye movement sleep in late middle-aged and older apolipoprotein E ϵ 4 allele carriers. *SLEEP.* 2024 Jul 11;47(7):zsae094. doi:10.1093/sleep/zsae094
189. Jackson RJ, Hyman BT, Serrano-Pozo A. Multifaceted roles of APOE in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2024 Aug;20(8):457–74. doi:10.1038/s41582-024-00988-2 PubMed PMID: 38906999; PubMed Central PMCID: PMC12185264.
190. Lynch JR, Tang W, Wang H, Vitek MP, Bennett ER, Sullivan PM, et al. APOE Genotype and an ApoE-mimetic Peptide Modify the Systemic and Central Nervous System Inflammatory Response. *J Biol Chem.* 2003 Dec;278(49):48529–33. doi:10.1074/jbc.M306923200
191. Drogos LL, Gill SJ, Tyndall AV, Raneri JK, Parboosingh JS, Naef A, et al. Evidence of association between sleep quality and APOE ϵ 4 in healthy older adults: A pilot study. *Neurology.* 2016 Oct 25;87(17):1836–42. doi:10.1212/wnl.0000000000003255

192. Kahya M, Vidoni E, Burns JM, Thompson AN, Meyer K, Siengsukon CF. The Relationship Between Apolipoprotein $\epsilon 4$ Carrier Status and Sleep Characteristics in Cognitively Normal Older Adults. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 2017 Sep;30(5):273–9. doi:10.1177/0891988717720301
193. Spira AP, An Y, Peng Y, Wu MN, Simonsick EM, Ferrucci L, et al. APOE Genotype and Nonrespiratory Sleep Parameters in Cognitively Intact Older Adults. *Sleep*. 2017 Aug 1;40(8). doi:10.1093/sleep/zsx076
194. Chen C, Zhang M, Wang Z, Deng J, Bao Y, Shi J, et al. Associations among sleep quality, sleep duration, and Alzheimer's disease biomarkers: A systematic review and meta-analysis. *Alzheimers Dement*. 2025 Mar;21(3):e70096. doi:10.1002/alz.70096
195. Tang S, Liu R, Ren J, Song L, Dong L, Qin Y, et al. Association of objective sleep duration with cognition and brain aging biomarkers in older adults. *Brain Commun*. 2024 May 3;6(3):fcae144. doi:10.1093/braincomms/fcae144
196. Yoon SH, Kim HK, Lee JH, Chun JH, Sohn YH, Lee PH, et al. Association of Sleep Disturbances With Brain Amyloid and Tau Burden, Cortical Atrophy, and Cognitive Dysfunction Across the AD Continuum. *Neurology*. 2023 Nov 21;101(21). doi:10.1212/WNL.0000000000207917
197. André C, Martineau-Dussault MÈ, Baril AA, Marchi NA, Daneault V, Lorrain D, et al. Reduced rapid eye movement sleep in late middle-aged and older apolipoprotein E $\epsilon 4$ allele carriers. *SLEEP*. 2024 Jul 11;47(7):zsae094. doi:10.1093/sleep/zsae094
198. Tranah GJ, Yaffe K, Nievergelt CM, Parimi N, Glymour MM, Ensrud KE, et al. APOE $\epsilon 4$ and slow wave sleep in older adults. *PloS One*. 2018;13(1):e0191281. doi:10.1371/journal.pone.0191281 PubMed PMID: 29370207; PubMed Central PMCID: PMC5784964.
199. Iranzo A, Cochen De Cock V, Fantini ML, Pérez-Carbonell L, Trotti LM. Sleep and sleep disorders in people with Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2024 Sep;23(9):925–37. doi:10.1016/S1474-4422(24)00170-4
200. André C, Champetier P, Rehel S, Kuhn E, Tournon E, Ourry V, et al. Rapid Eye Movement Sleep, Neurodegeneration, and Amyloid Deposition in Aging. *Ann Neurol*. 2023 May;93(5):979–90. doi:10.1002/ana.26604
201. Pase MP, Himali JJ, Grima NA, Beiser AS, Satizabal CL, Aparicio HJ, et al. Sleep architecture and the risk of incident dementia in the community. *Neurology*. 2017 Sep 19;89(12):1244–50. doi:10.1212/WNL.0000000000004373
202. Liu S, Meng Y, Wang N, Lei Q, He L, Hong X, et al. Disturbance of REM sleep exacerbates microglial activation in APP/PS1 mice. *Neurobiol Learn Mem*. 2023 Apr;200:107737. doi:10.1016/j.nlm.2023.107737

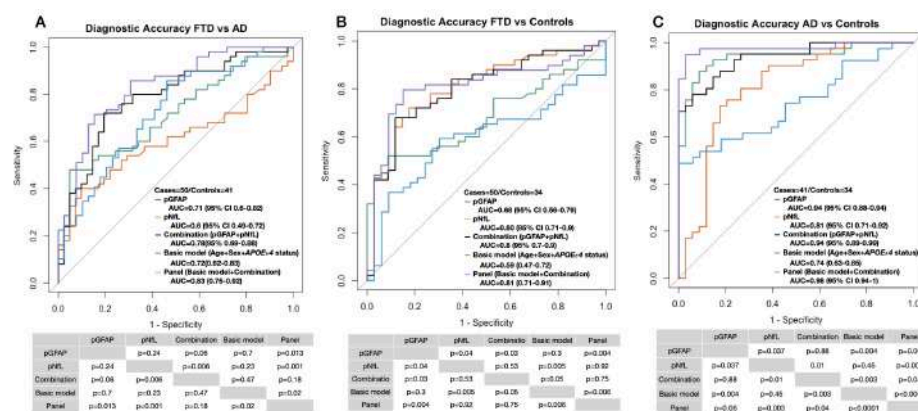
203. Drew VJ, Park M, Kim T. GABA-Positive Astrogliosis in Sleep-Promoting Areas Associated with Sleep Disturbance in 5XFAD Mice. *Int J Mol Sci.* 2023 Jun 2;24(11):9695. doi:10.3390/ijms24119695
204. Foley J, Blutstein T, Lee S, Erneux C, Halassa MM, Haydon P. Astrocytic IP3/Ca2+ Signaling Modulates Theta Rhythm and REM Sleep. *Front Neural Circuits.* 2017 Jan 23;11. doi:10.3389/fncir.2017.00003
205. Kurogi Y, Sanagi T, Ono D, Tsunematsu T. Chemogenetic activation of astrocytes modulates sleep–wakefulness states in a brain region-dependent manner. *Sleep Adv.* 2024 Jan 1;5(1):zpae091. doi:10.1093/sleepadvances/zpae091
206. Teng X, Mao S, Wu H, Shao Q, Zu J, Zhang W, et al. The relationship between serum neurofilament light chain and glial fibrillary acidic protein with the REM sleep behavior disorder subtype of Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2023 Apr;165(2):268–76. doi:10.1111/jnc.15780
207. Liguori C, Fernandes M, Zatti C, Carpi M, Tolassi C, Testone G, et al. Plasma NfL, GFAP and pTau181 in patients with Isolated REM Sleep Behaviour Disorder. *Sleep.* 2025 Jun 9;zsaf163. doi:10.1093/sleep/zsaf163
208. Larsen FK, Baksh RA, McGlinchey E, Langballe EM, Benejam B, Beresford-Webb J, et al. Age of Alzheimer's disease diagnosis in people with Down syndrome and associated factors: Results from the Horizon 21 European Down syndrome consortium. *Alzheimers Dement.* 2024 May;20(5):3270–80. doi:10.1002/alz.13779
209. Yoon DM, Plante D, Fleming V, Handen B, Lao P, Peven J, et al. Preliminary Investigation of Obstructive Sleep Apnea and Alzheimer's Disease in Down Syndrome. *Sleepj.* 2025 Jul 23;zpaf044. doi:10.1093/sleep/zpaf044
210. Lao P, Zimmerman ME, Hartley SL, Gutierrez J, Keator D, Igwe KC, et al. Obstructive sleep apnea, cerebrovascular disease, and amyloid in older adults with Down syndrome across the Alzheimer's continuum. *SLEEP Adv.* 2022 Jan 1;3(1):zpac013. doi:10.1093/sleepadvances/zpac013
211. Chatterjee P, Pedrini S, Doecke JD, Thota R, Villemagne VL, Doré V, et al. Plasma A β 42/40 ratio, p-tau181, GFAP, and NfL across the Alzheimer's disease continuum: A cross-sectional and longitudinal study in the AIBL cohort. *Alzheimers Dement.* 2023 Apr;19(4):1117–34. doi:10.1002/alz.12724
212. Petersen KK, Milà-Alomà M, Li Y, Du L, Xiong C, Tosun D, et al. Predicting onset of symptomatic Alzheimer's disease with plasma p-tau217 clocks. *Nat Med.* 2026 Feb 19. doi:10.1038/s41591-026-04206-y

ANEXOS

11. ANEXOS

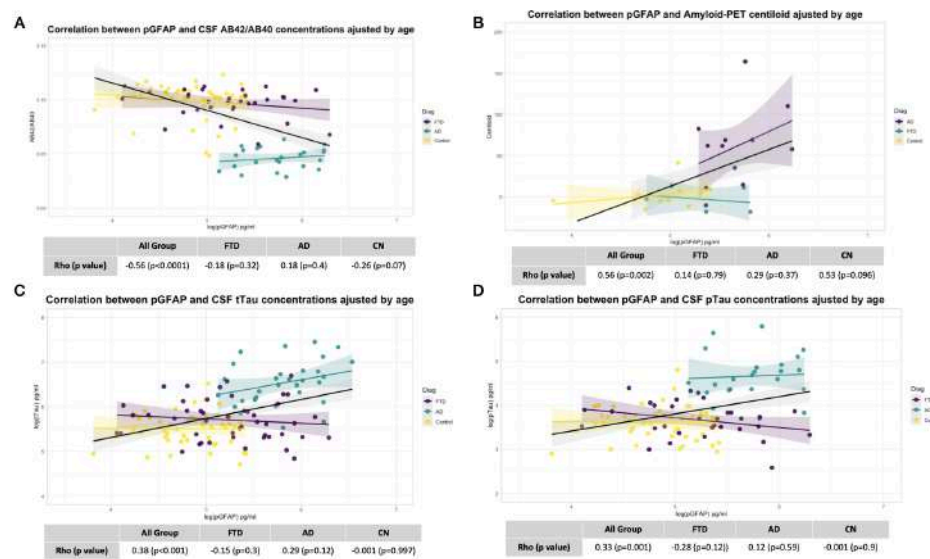
11.1. Anexo 1: Material suplementario artículo nº1: Proteína glial fibrilar ácida y neurofilamento de cadena ligera en plasma para la evaluación diagnóstica y pronóstica de demencia frontotemporal

Additional data 1: Diagnostic accuracy of plasma biomarkers and their combination to differentiate between FTD, AD and CN in age-matched group



Receiver operating characteristic curves (ROC) for plasma GFAP, plasma neurofilament light, their combination, a basic model with risk factors (age, sex and APOE) and a combination of plasma biomarkers with additional risk factors to assess the accuracy to discriminate FTD from AD (A), FTD from normal cognitively normal (B), and AD from cognitively normal (C) in age matched group. Abbreviations: AUC = area under the curve; pGFAP = plasma Glial fibrillary acidic protein; pNfL = plasma Neurofilament light; FTD = Frontotemporal dementia; AD = Alzheimer's Disease; CN = cognitively normal participants

Additional data 2: The correlation of pGFAP with CSF AD-specific biomarkers



Correlation of pGFAP with CSF A β 42/A β 40 ratio (A), Amyloid-PET centiloid (B), CSF total Tau (C) and CSF phosphorylated Tau (D) in the whole sample, FTD, AD and normal cognitively. All the correlation analysis are adjusted by age and sex. Abbreviations: pGFAP = plasma Glial fibrillary acidic protein; A β 42/A β 40 = A β 42/A β 40 ratio; tTau = total Tau; pTau = phosphorylated Tau; FTD = Frontotemporal dementia; AD = Alzheimer's Disease; CN = Cognitively normal participants

11.2. Anexo 2: Material suplementario artículo nº 2: Los cambios en biomarcadores de origen astrocitario relacionados con el sueño son modulados por el alelo APOE ε4 en personas cognitivamente sanas

Supplementary Table 1. Associations of age with NPSG sleep parameters and biofluid biomarkers (Spearman's rho, 95%CI)

Biofluid markers						
CSF Aβ40	CSF Aβ42	CSF pTau	CSF tTau	CSF YKL-40	CSF GFAP	
-0.03 [-0.30, 0.25]	-0.16 [-0.39, 0.10]	0.14 [-0.16, 0.43]	0.25 [-0.04, 0.49]	0.62 [0.37, 0.79]	0.47 [0.18, 0.69]	
Plasma GFAP	Plasma NfL					
0.47 [0.23, 0.66]	0.66 [0.47, 0.79]					
NPSG-related parameters						
TST	WASO	SE	Stage N1 (min)	Stage N2 (min)	Stage N3 (min)	
-0.26 [-0.52, 0.027]	-0.12 [-0.41, 0.19]	-0.26 [-0.53, 0.04]	0.34 [0.07, 0.57]	-0.24 [-0.50, 0.05]	-0.15 [-0.43, 0.14]	
Stage REM (min)	Number of stage shifts	TNA	SWA	AHI	T90	
-0.26 [-0.50, 0.01]	0.35 [0.10, 0.56]	0.33 [0.04, 0.57]	-0.39 [-0.62, -0.12]	0.44 [0.17, 0.66]	0.34 [0.05, 0.60]	

Note: Values represent Spearman's correlation coefficients (rho) with 95% confidence intervals obtained by bootstrap resampling (5,000 iterations). Correlations were considered statistically significant when the 95% confidence interval excluded 0, and significant correlations are shown in bold. Abbreviations: CSF, cerebrospinal fluid; YKL-40, chitinase-3-like protein 1; GFAP, glial fibrillary acidic protein; NfL, neurofilament light chain; Aβ40, amyloid-β 1-40; Aβ42, amyloid-β 1-42; pTau181, tau protein phosphorylated at threonine 181; tTau, total tau; NPSG, nocturnal polysomnography; TST, total sleep time; WASO, wake after sleep onset; SE, sleep efficiency; TNA, total number of arousals, stage shift, number of transitions between sleep stages; SWA, average slow wave activity; AHI, apnea-hypopnea index; T90, time proportion with oxygen saturation below 90% during sleep; OSA, obstructive sleep apnea; PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index; ESS, Epworth Sleepiness Scale; BQ, Berlin Questionnaire.

Supplementary table 2. Correlations between biofluid biomarkers (Spearman's rho, 95% CI)

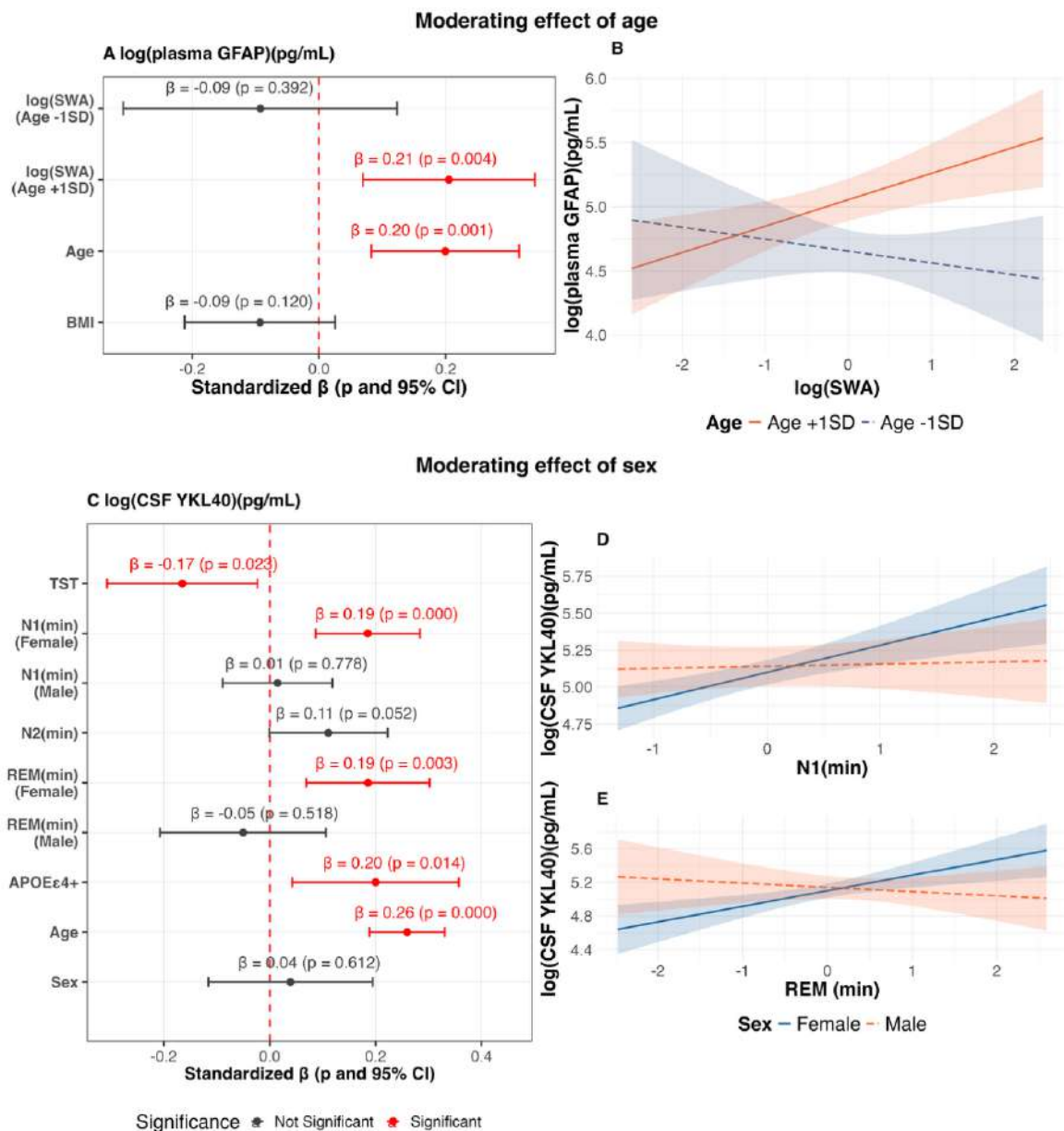
	CSF A β 40	CSF A β 42	CSF pTau	CSF tTau	CSF YKL-40	CSF GFAP	Plasma GFAP	Plasma NfL
CSF A β 40	1.00	0.79 [0.57, 0.93]	0.88 [0.77, 0.94]	0.69 [0.45, 0.85]	0.3 [0.02, 0.53]	0.11 [-0.19, 0.39]	-0.2 [-0.46, 0.11]	-0.17 [-0.42, 0.12]
CSF A β 42	0.79 [0.57, 0.93]	1.00	0.66 [0.44, 0.82]	0.45 [0.18, 0.68]	0.02 [-0.27, 0.31]	0.16 [-0.13, 0.45]	-0.17 [-0.44, 0.12]	-0.23 [-0.48, 0.04]
CSF pTau	0.88 [0.77, 0.94]	0.66 [0.44, 0.82]	1.00	0.77 [0.55, 0.92]	0.4 [0.14, 0.62]	0.19 [-0.12, 0.47]	-0.12 [-0.41, 0.19]	-0.04 [-0.3, 0.24]
CSF tTau	0.69 [0.45, 0.85]	0.45 [0.18, 0.68]	0.77 [0.55, 0.92]	1.00	0.54 [0.33, 0.68]	0.12 [-0.2, 0.4]	0.02 [-0.28, 0.31]	0.05 [-0.21, 0.31]
CSF YKL-40	0.3 [0.02, 0.53]	0.02 [-0.27, 0.31]	0.4 [0.14, 0.62]	0.54 [0.33, 0.68]	1.00	0.27 [-0.03, 0.53]	0.26 [-0.06, 0.52]	0.34 [0.05, 0.58]
CSF GFAP	0.11 [-0.19, 0.39]	0.16 [-0.13, 0.45]	0.19 [-0.12, 0.47]	0.12 [-0.2, 0.4]	0.27 [-0.03, 0.53]	1.00	0.32 [0.03, 0.56]	0.22 [-0.06, 0.46]
Plasma GFAP	-0.2 [-0.46, 0.11]	-0.17 [-0.44, 0.12]	-0.12 [-0.41, 0.19]	0.02 [-0.28, 0.31]	0.26 [-0.06, 0.52]	0.32 [0.03, 0.56]	1.00	0.71 [0.48, 0.85]
Plasma NfL	-0.17 [-0.42, 0.12]	-0.23 [-0.48, 0.04]	-0.04 [-0.3, 0.24]	0.05 [-0.21, 0.31]	0.34 [0.05, 0.58]	0.22 [-0.06, 0.46]	0.71 [0.48, 0.85]	1.00

Note: Values represent Spearman's correlation coefficients (rho) with 95% confidence intervals obtained by bootstrap resampling (5,000 iterations). Correlations were considered statistically significant when the 95% confidence interval excluded 0, and significant correlations are shown in bold. Abbreviations: CSF, cerebrospinal fluid; YKL-40, chitinase-3-like protein 1; GFAP, glial fibrillary acidic protein; NfL, neurofilament light chain; A β 40, amyloid- β 1-40; A β 42, amyloid- β 1-42; pTau181, tau protein phosphorylated at threonine 181; tTau, total tau.

Supplementary Table 3. Participant characteristics by sex group: demographic, clinical, biomarker, and sleep architecture parameters (N=51)

Sociodemographic and Clinical Characteristics					
	Female (N = 36)	Male (N = 15)		p value	
Age (years)	54 [9]**	64 [11]**		0.009	
Education (years)	19 [6]	15 [7]		0.3	
APOEε4+	10 (28%)	3 (20%)		0.8	
MMSE	30 [1]	29 [1]		0.061	
Hypertension	4 (11%)*	7 (47%)*		0.015	
Dyslipidemia	7 (19%)	6 (40%)		0.2	
Diabetes	1 (2.8%)	1 (6.7%)		>0.9	
Antidepressant Treatment	3 (8.3%)	1 (6.7%)		1	
Hypnotic Treatment	4 (11.1%)	0 (0%)		0.24	
BMI (kg/m2)	23.7 [5.4]	24.0 [3.0]		0.3	
Time from NPSG to biofluid collection (days)	1 [9]	1 [3]		0.6	
Fluid Biomarkers					
CSF YKL-40 (pg/mL)	161 [87]	232 [57]		0.008	
CSF GFAP (pg/mL)	6,216 [3,563]	7,228 [4,976]		0.2	
Plasma GFAP (pg/mL)	100 [88]	138 [89]		0.3	
Plasma NFL (pg/mL)	6.8 [4.2]	9.1 [6.0]		0.092	
CSF Aβ40	11,732 [4,601]	10,323 [1,697]		0.13	
CSF Aβ42	1,199 [561]	1,035 [380]		0.094	
CSF pTau181 (pg/mL)	34 [12]	32 [8]		0.7	
CSF tTau (pg/mL)	256 [114]	243 [77]		0.5	
PSG Sleep Architecture Parameters					
Total Sleep Time (minutes)		379 [61]*	333 [59]*		0.038
Wake after sleep onset (minutes)		158 [93]	128 [75]		0.055
Sleep efficiency (%)		85 [10]*	73 [16]*		0.022
Sleep latency (min)		19 [23]	27 [15]		0.4
Stage N1 (min) / (%)		45 [36]/13 [12]	31 [50]/12 [16]		0.9/0.6
Stage N2 (min) / (%)		187 [58]/51 [9]	157 [53]/48 [10]		0.057/0.5
Stage N3 (min) / (%)		73 [30]/20 [8]	72 [36]/19 [10]		0.3/0.5
Stage REM (min) / (%)		67 [25]/18 [5.2]	73 [34]/19.0 [9.0]		0.6 / 0.2
Number of stage shift		157 [63]	157 [69]		0.8
Number of Arousal		13 [10]	15 [12]		>0.9
Number of Awakening		19 [7]	24 [6]		0.084
Log10(Mean Slow Wave Activity)		222 [162]	228 [254]		0.8
PSG Respiratory Parameters					
OSA (AHI>5)		7 (19%)*	8 (53%)*		0.022
Moderate/Severe OSA (AHI>15)		3 (8.3%)	2 (13%)		0.6
AHI (events/hour)		3 [4]*	6 [8]*		0.046
T90 (%)		0.10 [0.43]	0.20 [1.40]		0.6
Sleep questionnaire scores					
PSQI		4 [3]	4 [4]		0.8
ESS		4 [6]	5 [4]		> 0.9
BQ (high risk)		2 (5.7%)	1 (6.7%)		> 0.9

Note: Values are presented as median [IQR] or n (%). Statistical comparisons were performed using the Wilcoxon rana-sum test for continuous variables and Fisher's exact test for categorical variables. Significance levels: p>0.05 (*), p<0.001 (**), p<0.0001 (***). Abbreviations: APOEε4+, carrier of one or two APOE ε4 alleles; MMSE, Mini-Mental state examination; BMI, body mass index; CSF, cerebrospinal fluid; YKL-40, chitinase-3-like protein 1; GFAP, glial fibrillary acidic protein; NFL, neurofilament light chain; Aβ40, Amyloid-β 1-40; Aβ42, Amyloid-β 1-42; pTau181, tau protein phosphorylated at threonine 181; tTau, total tau; NPSG, nocturnal polysomnography; AHI, apnea-hypopnea index; T90, time proportion with oxygen saturation below 90% during sleep; OSA, obstructive sleep apnea; PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index; ESS, Epworth Sleepiness Scale; BQ, Berlin Questionnaire.



Supplementary Figure 1. Moderating effect of age and sex on the associations between sleep parameters and fluid biomarkers.

(Panels A and C, left) Forest plots showing standardized regression coefficients (dots indicating β), 95% confidence intervals (bars) and p -values from multivariate models including interaction terms between age or sex and sleep parameters, adjusted for age, sex, APOE genotype, BMI and OSA where appropriate. Statistically significant effects ($p < 0.05$ and 95% CI not including zero) are shown in red. Biomarkers and skewed sleep parameters (e.g., SWA) were log-transformed prior to analysis ($N = 47$ for models with CSF biomarkers; $N = 51$ for models with plasma biomarkers).

(Panels B, D, and E, right) Interaction plots illustrating stratified associations between sleep parameters and biomarkers. For age, lines represent predicted associations at

mean age (green solid line), 1 SD below the mean (blue dashed line), and 1 SD above the mean (pink dashed line), with shaded areas indicating 95% confidence intervals. For sex, lines represent predicted associations for women (blue) and men (orange), with shaded areas indicating 95% confidence intervals.

Abbreviations: *log* = logarithmic transformation; *CSF* = cerebrospinal fluid; *GFAP* = glial fibrillary acidic protein; *YKL40* = chitinase-3-like protein 1; *TST* = total sleep time; *N1(min)* = N1 stage duration; *N2(min)* = N2 stage duration; *N3(min)* = N3 stage duration; *REM(min)* = REM stage duration; *SWA* = average slow-wave activity; *APOE ε4+* = *APOE ε4* carrier; *BMI* = body mass index.

Supplementary Table 4. Summary of moderation models by Age and Sex				
	RSE	Adjusted R2	F-statistic	p value
Age x SWA interaction on astrocytic fluid biomarkers				
log(plasma GFAP)	0.3937	0.2836	5.75	0.0008
Sex x sleep microarchitecture interaction on astrocytic fluid biomarkers				
log(CSF YKL-40)	0.2131	0.6824	13.35	<0.0001

11.3. Anexo 3: Material suplementario artículo nº 3: El impacto de la enfermedad de Alzheimer en el sueño en pacientes con síndrome de Down

SUPPLEMENTARY MATERIAL FOR:

Impact of Alzheimer's Disease on sleep in adults with down syndrome.

Sandra Giménez^{1,2,3*} Lúdia Vaqué-Alcázar^{2,4*}, Bessy Benejam^{2,5}, Javier Arranz², Lucia Maure-Blesa², Laura Videla^{2,3,5}, Maria Carmona-Iragui^{2,3,5}, Nuole Zhu², Isabel Barroeta^{2,3}, Íñigo Rodríguez-Baz^{2,3}, Alexandre Bejanin^{2,3}, José Enrique Arriola-Infante^{2,3}, Ana Bueno², Susana Fernandez⁵, Laia Ribas^{2,3}, Sara E. Zsadyani², Alejandra O. Morcillo-Nieto², Daniel Alcolea^{2,3}, Christos Panagiotis Lisgaras^{6,7}, Esther Blessing^{6,7}, Ricardo S Osorio^{6,7}, Alberto Lleó^{2,3}, Juan Fortea^{2,3,5}.

1. Multidisciplinary Sleep Unit, Respiratory Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Biomedical Research Institute Sant Pau (IIB SANT PAU), Sant Quintí 77-79, 08041, Barcelona, Spain.
2. Sant Pau Memory Unit, Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Biomedical Research Institute Sant Pau (IIB SANT PAU), Universitat Autònoma de Barcelona, Sant Quintí 77-79, 08041, Barcelona, Spain.
3. Center of Biomedical Investigation Network for Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), Melchor Fernández Almagro 3, 28029, Madrid, Spain.
4. Department of Medicine, Faculty of Medicine and Health Sciences, Institute of Neurosciences, University of Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain.
5. Barcelona Down Medical Center, Fundació Catalana de Síndrome de Down, Comte Borrell 201-203, 08029, Barcelona, Spain.
6. Department of Psychiatry, New York University Langone Health, One, Park Ave, NY 10016, New York, United States of America.
7. The Nathan S. Kline Institute for Psychiatric Research, New York State Office of Mental Health, 140 Old Orangeburg Rd, NY 10962, Orangeburg, United States of America.

*Sandra Giménez and Lúdia Vaqué-Alcázar contributed equally to this work and share first authorship.

Corresponding author:

Sandra Giménez, MD, PhD.

Sant Pau Memory Unit - Department of Neurology, Institut de Recerca Sant Pau

Sant Quintí 77-79, 08041, Barcelona, Spain.

1. Participant Characteristics

Table S1. DS's participants demographic characteristics and medical data across the AD continuum (aDS, pDS, and dDS).

	aDS N=154	pDS N=25	dDS N=50	p-value
AGE mean (SD) - years	37.0 (10.3)	53.9 (5.79)	51.4 (5.91)	<0.001 ***
SEX Female, n (%)	65 (42.2%)	11 (44.0%)	26 (52.0%)	0.480
ID Mild, n (%) Moderate, n (%) Severe/profound, n (%)	62 (40.3%) 72 (46.8%) 15 (8.7%)	6 (24.0%) 15 (60.0%) 3 (12.0%)	12 (24.0%) 29 (58.0%) 8 (16.0%)	0.032 *
BMI mean (SD) - kg/m ²	28.4 (5.67)	27.3 (5.37)	26.5 (3.93)	0.096
APOE ε4-carriers, n (%)	22 (14.3%)	8 (32.0%)	7 (14.0%)	0.106
VASCULAR RISK FACTORS HT, n (%) DM, n (%) DLP, n (%)	4 (2.6%) 4 (2.6%) 20 (13.0%)	1 (4.0%) 1 (4.0%) 7 (28.0%)	1 (2.0%) 0 (0%) 7 (14.0%)	0.896 0.462 0.168
TREATMENT Use of any psychotropic medication, n (%)	32 (20.8%)	5 (20.0%)	17 (34.0%)	0.145

Notes: Continues data are mean (SD) and categorical data are n (%). Statistical differences with asterisks denoting significance thresholds: ***($p<0.001$), **($p<0.01$), and *($p<0.05$). *Abbreviations:* DS, Down syndrome; aDS, asymptomatic Down syndrome; pDS, prodromal Down syndrome; dDS, Down syndrome with Alzheimer's disease dementia; SD, standard deviation; ID, intellectual disability; BMI, body mass index; APOE, apolipoprotein E; HT, hypertension; DM, diabetes mellitus; DLP, Dyslipidemia.

As expected, age increase along the AD continuum, and both pDS ($z=8.582$, $p<0.001$) and dDS ($z=9.701$, $p<0.001$) group were older than aDS, despite there were no significant differences between symptomatic group (even being the pDS the oldest one; mean age 53.9 ± 5.79 years). Moreover, although the global Chi-squared test indicated a significant association between ID

and groups across the AD continuum in DS, none of the individual pairwise comparisons did so after adjusting for multiple tests. This suggests that while there is a general association, there were no strong or specific differences between pairs of clinical diagnosis in relation to ID level. The other variables shown in Table S1 assessing participants demographics, vascular risk factors and treatment did not show significant differences across the AD continuum.

2. Subjective sleep questionnaires

Table S2. Sleep questionnaire scores across the AD continuum (aDS, pDS, and dDS) within the DS group.

	aDS N=154	pDS N=25	dDS N=50	p-value
PSQI Mean (SD)	4.14 (2.99)	5.43 (3.44)	5.62 (3.72)	0.014 *
ESS Mean (SD)	6.06 (4.29)	8.76 (6.02)	9.33 (5.69)	<0.001 ***
BQ High risk, n (%)	13 (8.4%)	0 (0%)	7 (14.0%)	0.114
PASHOS Mean (SD)	4.70 (3.07)	5.45 (3.17)	4.49 (3.04)	0.051
SB High risk, n (%)	1 (7.1%)	1 (4.0%)	3 (6.0%)	0.590

Notes: Continuous data are mean (SD) and categorical data are n (%). Statistical differences (adjusted by age, sex, and BMI) with asterisks denoting significance thresholds: ***($p < 0.001$), **($p < 0.01$), and *($p < 0.05$). Abbreviations: DS, Down syndrome; aDS, asymptomatic Down syndrome; pDS, prodromal Down syndrome; dDS, Down syndrome with Alzheimer's disease dementia; SD, standard deviation; PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index; ESS, Epworth Sleepiness Scale; BQ, Berlin Questionnaire; SB, Stop Bang; PASHOS; Advanced Platform for Sleep Apnea Syndrome Assessment

Following the same findings identified in the comparison between asymptomatic and symptomatic participants within the DS group stated in the main manuscript, we only identified group differences for the PSQI and ESS subjective sleep questionnaires along the AD continuum (PSQI: $F=4.305$, $p=0.014$, and ESS: $F=8.448$, $p<0.001$). Specifically, the dDS group obtained significantly higher scores than aDS for PSQI and we identified an increase as AD

progress across the groups (aDS < pDS: $z=2.468$, $p=0.035$; aDS < dDS: $z=3.872$, $p<0.001$) when the ESS scores were evaluated.

3. Objective sleep measures

Table S3. Polysomnography sleep and respiratory data across the AD continuum (aDS, pDS, and dDS).

	aDS N=154	pDS N=25	dDS N=50	p-value
TST (min)	302 (108)	296 (114)	279 (96.6)	0.260
SE (%)	65.4 (23.0)	62.4 (24.1)	60.9 (19.6)	0.299
WASO (min)	148 (68.0)	157 (89.6)	146 (75.6)	0.760
SL (min)	45.1 (59.6)	57.8 (94.6)	43.4 (60.1)	0.655
REML (min)	189 (85.0)	160 (96.1)	181 (104)	0.318
NREM N1 (%) (min)	15.0 (12.9) 41.2 (34.5)	11.5 (9.90) 30.8 (26.4)	19.3 (20.7) 43.9 (41.3)	0.094 0.341
NREM N2 (%) (min)	48.7 (12.3) 146 (67.6)	46.8 (16.4) 145 (81.6)	50.3 (16.9) 146 (75.6)	0.470 0.958
NREM N3 (%) (min)	27.5 (14.2) 81.3 (48.5)	29.9 (17.1) 85.8 (53.2)	23.7 (14.7) 68.8 (48.0)	0.223 0.190
REM (%) (min)	8.37 (5.89) 28.6 (23.0)	7.73 (6.07) 24.0 (19.6)	6.72 (5.74) 20.7 (18.5)	0.177 0.048*
AHI (event/h)	23.6 (24.6)	36.0 (27.4)	31.6 (24.3)	0.008 *
AHI REM (event/h)	22.5 (27.0)	29.5 (28.5)	24.9 (30.8)	0.516
AHI NREM (event/h)	24.0 (26.5)	36.2 (27.8)	31.5 (24.3)	0.019 *

SpO₂ (%)	94.6 (5.19)	90.3 (11.4)	93.6 (5.34)	0.007 **
ODI (event/h)	20.1 (23.3)	32.5 (26.9)	25.6 (23.5)	0.024 *
T90 (%)	7.85 (15.1)	13.5 (14.1)	13.5 (17.1)	0.039 *
NAW	23.8 (13.0)	20.2 (16.0)	24.6 (12.9)	0.473
RA (events/h)	15.5 (17.3)	21.7 (21.2)	19.4 (17.8)	0.055
AI (events/h)	25.6 (17.7)	28.7 (21.7)	28.7 (16.7)	0.288

Notes: Continues data are mean (SD) and categorical data are n (%). Statistical differences (adjusted by age, sex, and BMI) with asterisks denoting significance thresholds: ***($p<0.001$), **($p<0.01$), and *($p<0.05$). Abbreviations: DS, Down syndrome; aDS, asymptomatic Down syndrome; pDS, prodromal Down syndrome; dDS, Down syndrome with Alzheimer's disease dementia; SD, standard deviation; TST, total sleep time; SE, sleep efficiency; WASO, wakefulness after sleep onset; SL, sleep latency; REML, rapid eyes movement sleep; NREM N1, NREM N2, NREM N3, no-REM stages N1, N2, and N3; AHI, apnea-hypopnea index; AHI REM, apnea-hypopnea index during REM phase; AHI NREM, apnea-hypopnea index during no-REM phase; SpO₂, basal oxygen saturation; ODI, oxygen desaturation index; T90, percentage of oxygen saturation <90% for more than 30% of the sleep registration period; NAW, number of awakenings; RA, respiratory arousal index; AI, arousal index; min, minutes; h, hours.

The group comparisons across the AD continuum mimic the same trend described when we assessed the differences between asymptomatic and symptomatic participants within the DS group (aDS vs. sDS). There were no significant differences regarding sleep macrostructure variables, and despite sleep maintenance measures worsened across the AD continuum the groups differences did not reach significance except for REM phase ($F=3.071$, $p=0.048$) when measure as time in minutes in the comparison between aDS vs dDS ($z=2.630$, $p=0.022$). However, we detected differences among the respiratory-related variables (ODI: $F=3.788$, $p=0.024$; T90: $F=3.293$, $p=0.039$; SpO₂: $F=5.004$, $p=0.007$). When evaluating pairwise differences, we identified that both pDS ($z= 3.041$, $p=0.007$) and dDS ($z=2.888$, $p=0.011$) exhibited worse profiles compared to aDS in ODI. Additionally, pDS showed a worse profile than aDS in SpO₂ ($z=3.098$, $p=0.005$). Significant differences in T90 were observed between dDS and aDS ($z=3.442$, $p=0.001$).

Furthermore, significant differences were found in the AD continuum in DS for total AHI ($F=4.851$, $p<0.001$) and AHI during the non-REM phase ($F=4.019$, $p=0.019$). In both AHI measures, aDS exhibited lower values than pDS (AHI: $z=2.832$, $p=0.013$; AHI NREM: $z=2.633$, $p=0.022$) and dDS (AHI: $z=4.015$, $p=0.003$; AHI NREM: $z=3.001$, $p=0.008$), while no statistical differences were found between the symptomatic groups.

4. Age-related changes

Table S4. Associations between age and subjective sleep questionnaires and objective sleep measures (polysomnography sleep and respiratory data) for HC, DS and HC*DS interaction.

	HC (p-value)	DS (p-value)	HC*DS interaction (p-value)
PSQI	0.819	0.039	0.154
ESS	0.985	<0.001***	0.029*
PASHOS	0.053	0.277	0.517
TST	0.359	0.039*	0.466
SE	0.226	0.026*	0.536
WASO	0.084	0.721	0.240
SL	0.794	0.896	0.839
REML	0.542	0.907	0.765
NREM N1			
(%)	0.174	0.102	0.755
(min)	0.152	0.430	0.670
NREM N2			
(%)	0.512	0.086	0.159
(min)	0.211	0.935	0.433
NREM N3			
(%)	0.833	0.017*	0.163
(min)	0.845	<0.001***	0.042*
REM			
(%)	0.746	0.006**	0.216
(min)	0.187	<0.001***	0.608
AHI	0.016*	<0.001***	0.007**
AHI REM	0.004**	0.044*	0.826
AHI NREM	0.043*	<0.001***	0.020*

SpO₂	<0.001***	0.05**	0.402
ODI	0.077	<0.001***	0.005**
T90	0.186	<0.001***	0.023*
NAW	0.047	0.603	0.384
RA	0.018*	<0.001***	0.034*
AI	0.243	<0.001***	0.204

Notes: Statistical differences (adjusted by sex and BMI) with asterisks denoting significance thresholds: ***($p < 0.001$), **($p < 0.01$), and *($p < 0.05$). Abbreviations: *DS*, Down syndrome; *PSQI*, Pittsburgh Sleep Quality Index; *ESS*, Epworth Sleepiness Scale; *PASHOS*, Advanced Platform for Sleep Apnea Syndrome Assessment; *TST*, total sleep time; *SE*, sleep efficiency; *WASO*, wakefulness after sleep onset; *SL*, sleep latency; *REML*, rapid eyes movement sleep; *NREM N1*, *NREM N2*, *NREM N3*, no-REM stages N1, N2, and N3; *AHI*, apnea-hypopnea index; *AHI REM*, apnea-hypopnea index during REM phase; *AHI NREM*, apnea-hypopnea index during no-REM phase; *SpO₂*, basal oxygen saturation; *ODI*, oxygen desaturation index; *T90*, percentage of oxygen saturation <90% for more than 30% of the sleep registration period; *NAW*, number of awakenings; *RA*, respiratory arousal index; *AI*, arousal index; *min*, minutes.

