

# Aspectos neurobiológicos, genéticos e imunológicos da narcolepsia: revisão integrativa da literatura

Neurobiological, genetic and immunological aspects of narcolepsy: integrative literature review

Alessandra Aparecida Vieira Machado<sup>1</sup> , José Carlos Rosa Pires de Souza<sup>1</sup> , Breno Bottino<sup>2</sup> 

## RESUMO

**Introdução:** A narcolepsia é um distúrbio do sono que causa sérios prejuízos físicos, psicológicos e sociais, podendo causar incapacidade laboral ou acadêmica, total ou parcial. **Objetivo:** Discutir as nuances relacionadas ao paciente com narcolepsia sobre os aspectos neurobiológicos, imunológicos, genéticos e diagnósticos. **Método:** Revisão de literatura do tipo integrativa. As bases de dados utilizadas na busca foram: SciELO, PubMed, LILACS e Science, utilizando-se basicamente os descritores “narcolepsy”, “orexin”, “cataplexy” e “neurobiology”, com o operador booleano “and” ou “or”. **Resultados:** Dos 151 artigos localizados, 23 foram selecionados para análise. A Classificação Internacional de Distúrbios do Sono (ICSD-3) diferencia a narcolepsia em duas patologias, sendo que a do tipo 1 (NT1) é caracterizada por períodos de necessidade irresistível de dormir, cataplexia, e, por vezes, sintomas como alucinações hipnagógicas, paralisia do sono e sono noturno perturbado. Caracteriza-se pela perda de neurônios de hipocretina no hipotálamo, possivelmente ligados a um processo autoimune. Já na NT2, a cataplexia está ausente, e os níveis de hipocretina no Líquor (LCR) são normais. A etiopatogenia e fisiopatologia envolvem diversos aspectos genéticos, imunológicos e hormonais. O diagnóstico é feito com polissonografia, teste de latências múltiplas do sono, tipagem de antígenos leucocitários humanos (HLA), punção lombar para medir o nível de hipocretina no LCR ou neuroimagem na suspeita de narcolepsia secundária a outra patologia. **Conclusão:** As neurociências e outras correlatas avançaram nas descobertas sobre a neurobiologia e a história natural da narcolepsia, entretanto novos estudos devem relacioná-la com outros aspectos como, por exemplo, endocrinológicos.

**Palavras-chave:** Narcolepsia, Orexinas, Neurobiologia, Cataplexia.

## ABSTRACT

**Introduction:** Narcolepsy is a sleep disorder that causes physical, psychological and social damage, which total or partial, work or academic, incapacity. **Objective:** To present the main findings in the scientific literature about the neurobiological, immunological/genetic and diagnostic aspects of narcolepsy. **Method:** Integrative literature review. The databases used in the search were: Scientific Electronic Library Online (SciELO), United States National Library of Medicine (PubMed), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) and Science, basically using the descriptors “narcolepsy”, “orexin”, “cataplexy” and “neurobiology”, with the Boolean operator “and” or “or”. **Results:** We found 151 articles, and 23 were selected for analysis. The International Classification of Sleep Disorders (ICSD-3) differentiates narcolepsy into two pathologies: type 1 (NT1) is characterized by periods of irresistible need for sleep, cataplexy, and sometimes symptoms such as hypnagogic hallucinations, sleep paralysis and disturbed night sleep. It is characterized by the loss of hypocretin neurons in the hypothalamus, possibly linked to an autoimmune process. In type 2 (NT2), cataplexy is absent and CSF hypocretin levels are normal. The etiopathogenesis and pathophysiology involve several genetic, immunological and hormonal aspects. Diagnosis is made with polysomnography, multiple sleep latency testing, human leukocyte antigen (HLA) typing, cerebrospinal fluid (CSF) hypocretin level, or neuroimaging in suspected narcolepsy secondary to another pathology. **Conclusion:** Neurosciences and related fields have advanced in discoveries about the neurobiology and natural history of narcolepsy; however, new studies should relate it to other aspects, such as endocrinology.

**Keywords:** Narcolepsy, Orexins, Neurobiology, Cataplexy.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – Campo Grande (MS), Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – Campo Grande (MS), Brasil.

Endereço para correspondência: Alessandra Aparecida Vieira Machado. Avenida Dom Antônio Barbosa, 4155 – Bairro Santo Amaro, 79115-898 – Campo Grande (MS), Brasil. E-mail: [alessandra.machado@uemms.br](mailto:alessandra.machado@uemms.br)

Trabalho recebido: 26/09/2022. Trabalho aprovado: 08/07/2023. Trabalho publicado: 11/10/2023.

Editor Responsável: Prof. Dr. Eitan Naaman Berezin (Editor-Chefe)

## INTRODUÇÃO

O termo narcolepsia significa ataque de sono, derivado das palavras *narco*, que significa estupor, e *lepsia*, ataques. Segundo a atual Classificação Internacional dos Distúrbios do Sono (ICSD)- 3<sup>(1)</sup>, essa patologia pode estar associada a outros distúrbios, como a paralisia do sono, as alucinações hipnagógicas (do início do sono) e a fragmentação do sono<sup>(2)</sup>. Ela foi descrita por Gelineau, em 1881, como doença com ataques de sono irresistíveis e, em 1916, foi relatada por Hennemberg como a associação de fraqueza muscular a ataques de sono, chamados de ataques de cataplexia. As suas associações com outros distúrbios foram descritas por Kinner Wilson em 1928, com episódios de paralisia do sono, e por Lhermitte Taunay em 1927, com alucinações hipnagógicas<sup>(3)</sup>.

Com a evolução dos conhecimentos sobre a arquitetura do sono e as suas fases, na década de 1960, começou-se a observar a relação dos sintomas da narcolepsia com os fenômenos do sono REM (*Rapid Eyes Moviments*)<sup>(4)</sup>.

A etiopatogenia da narcolepsia tem uma relação direta com a genética e o sistema imunológico do seu portador. Estima-se que a narcolepsia afete aproximadamente 0,02–0,05% da população em todo o mundo<sup>(5)</sup>. A sua sintomatologia é variada, entretanto a sonolência diurna ocorre em todos os pacientes, com graus diferentes de severidade; além deste, apresenta ainda outros sinais e sintomas que lhes são característicos, porém não patognomônicos<sup>(6)</sup>.

O seu diagnóstico costuma ser tardio, o que se presume ser necessária a abordagem massiva sobre o tema; todavia o seu tratamento pode ser eficaz e o seu prognóstico, satisfatório, dependendo da atenção dada ao problema.

## OBJETIVO

Neste contexto, o objetivo do presente estudo é discutir as nuances relacionadas à avaliação do paciente com sonolência diurna excessiva, o diagnóstico da narcolepsia e, em especial, a sua relação com a imunologia, genética e neurobiologia humana.

## MÉTODO

Trata-se de uma revisão bibliográfica do tipo integrativa, um método que tem como objetivo sintetizar os resultados de estudos realizados sobre um tema ou questão, de forma sistemática, organizada e abrangente. Sua característica integrativa decorre do fato de fornecer uma visão ampla de um assunto ou problema, contribuindo para a formação de um conjunto de conhecimentos<sup>(7)</sup>. Esse tipo de estudo deve ser desenvolvido a partir de seis etapas:

1. Identificação do tema e elaboração da questão norteadora;

2. Busca na literatura com aplicação dos critérios de inclusão e exclusão;
3. Categorização dos estudos em quadros;
4. Análise dos estudos;
5. Interpretação dos resultados e, por último;
6. Síntese da revisão integrativa – as duas últimas apresentadas como resultados.

Para guiar a revisão integrativa, formulou-se a seguinte questão: Quais as alterações genéticas, imunológicas e neurobiológicas presentes na narcolepsia, e como é feito o diagnóstico?

A busca dos artigos foi realizada nos seguintes bancos de dados bibliográficos: *National Library of Medicine (PubMed)*, *Scientific Electronic Library Online (SciELO)*, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e *Science Direct*. Para a seleção dos artigos, foram utilizados os seguintes descritores em saúde (DeCS) e Medical Subject Heading (MeSH), combinados com operadores booleanos: “*Narcolepsy/genetics*” OR “*Narcolepsy/immunology*”; “*Neurobiology/narcolepsy*” AND “*Neurobiology*” OR “*cataplexy*”; “*orexin AND hypersomnia*” AND “*orexin/deficiency*” AND “*Orexin/immunology*”; “*brain/narcolepsy*” AND “*neurotransmitters AND narcolepsy*”.

Os critérios de inclusão dos artigos para a presente revisão integrativa foram:

- a. artigos publicados em português, inglês e espanhol, com os resumos disponíveis nas bases de dados selecionadas;
- b. período compreendido entre 2016 até abril de 2021;
- c. artigos publicados cuja metodologia adotada permitissem obter evidências fortes (níveis 1, 2 e 3), ou seja, revisões sistemáticas de múltiplos ensaios clínicos randomizados controlados, meta-análise, ensaios clínicos randomizados controlados individuais ou estudos com delineamento de pesquisa quase-experimental e de artigos que estivessem disponíveis na íntegra para acesso on-line.

Foram excluídos os artigos que não preenchiam os critérios acima, os duplicados e aqueles que, após a análise do título, resumo ou leitura na íntegra, não apresentavam relação com a pergunta norteadora formulada.

Para a coleta de dados dos artigos que foram incluídos na revisão integrativa, foi utilizado um instrumento de coleta, baseado no instrumento validado por Ursi e Gavão<sup>(8)</sup>. As referências identificadas foram enviadas para o *software* gerenciador de bibliografias *EndNote*<sup>®</sup>, e os estudos duplicados foram excluídos. Para a seleção dos artigos, dois revisores independentes analisaram os títulos e os resumos dos estudos. Quando houve dúvida ou discordância, os estudos foram avaliados em grupo por três pesquisadores.

Após o devido levantamento bibliográfico dos artigos, leram-se os seus títulos e resumos, e caso não estivessem dentro do escopo da proposta do estudo, eram descartados; isto é, se não abordassem os temas: neurobiologia da narcolepsia, aspectos genéticos e imunobiológicos bem como diagnóstico da narcolepsia. Desta forma, foi traçada uma linha de raciocínio que englobasse a temática.

## RESULTADOS

Foram localizados, nas bases de dados, o total de 151 artigos. Na Tabela 1 estão descritas as estratégias de busca utilizadas pelos pesquisadores. Dentre os 151 artigos localizados, 117 foram excluídos, dentre os quais: 50 eram artigos duplicados, 45 não eram artigos sobre narcolepsia, e em outros 22, após a leitura do resumo, verificou-se não haver relação com a pergunta norteadora formulada. Finalmente, 34 artigos foram selecionados para leitura integral, e a amostra final foi de 23 artigos. Na Figura 1 consta o fluxograma de seleção e amostragem. A estratégia de busca para a revisão integrativa da literatura e o número de artigos publicados no período de 2016 a abril de 2021, conforme base de dados, constam resumidos na Tabela 1.

Após a análise dos artigos, separamos os resultados conforme as diferentes nuances:

- aspectos neurobiológicos e imunológicos da narcolepsia,
- aspectos genéticos da narcolepsia e
- diagnóstico.

Os resultados da busca, conforme os temas, estão descritos nas Tabelas 2, 3 e 4, respectivamente<sup>(5,9-30)</sup>.

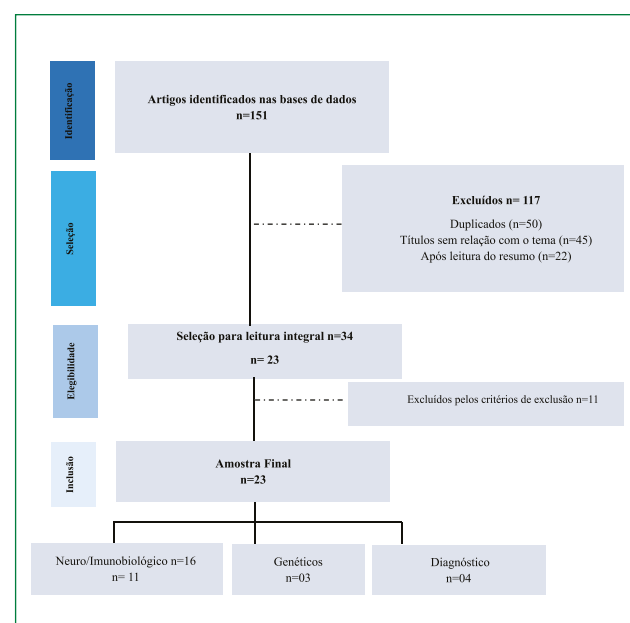
Além dos aspectos neurobiológicos, diversos autores têm demonstrado que os aspectos genéticos estão presentes na narcolepsia. Na Tabela 3, estão listados os resultados da busca bibliográfica.

No que tange ao diagnóstico, a incidência de narcolepsia tipo 1 foi estimada em 0,74 por 100.000 pessoas/ano. Os dados

epidemiológicos sobre narcolepsia tipo 2 são escassos, mas acredita-se que os pacientes com narcolepsia sem cataplexia representem apenas 36% de todos os pacientes com narcolepsia<sup>(28)</sup> e que, por não ser uma doença frequente, o diagnóstico tende a ser tardio. Na Tabela 4, apresentamos o resultado das buscas de publicações sobre diagnóstico na narcolepsia.

## DISCUSSÃO

No que diz respeito aos aspectos neurobiológicos e imunológicos da narcolepsia, estudos apontam que se origina de anormalidades no sistema orexinérgico, cujos níveis de orexina ou hipocretina (HCR) mostram-se reduzidos no líquido cefalorraquidiano (LCR), ou seja, abaixo de 110 pg/mL<sup>(15)</sup>. Como se sabe, a orexina é produzida no hipotálamo lateral e atua na



**Figura 1** - Fluxograma de seleção e amostragem. Estratégia de busca e seleção dos artigos.

**Tabela 1** - Estratégia de busca para a revisão integrativa da literatura e número de artigos publicados no período de 2016 a abril de 2021, conforme base de dados.

Estratégia	Nº de artigos conforme base de dados				Total
	SciELO	PubMed	LILACS	Science Direct	
Termo Mesh "Narcolepsy/genetics" OR "Narcolepsy/immunology"	08	02	07	23	40
"Neurobiology/narcolepsy" AND "Neurobiology" OR "cataplexy"	01	58	10	30	99
"orexin AND hypersomnia" AND "orexin/deficiency" AND "Orexin/immunology"	0	1	0	1	2
"brain/narcolepsy" AND "neurotransmitters AND narcolepsy"	0	2	2	6	10
Total geral de artigos localizados					151

**Tabela 2** – Síntese integrativa dos artigos selecionados referente aos aspectos neurobiológicos e imunológicos da narcolepsia.

Autor	Objetivo	Conclusão
Barateau et al. <sup>(9)</sup>	Comparar os níveis de monoaminas no LCR em pacientes com narcolepsia tipo 1 (NT1), narcolepsia tipo 2 (NT2) e indivíduos saudáveis.	Não houve diferenças marcantes entre as monoaminas no LCR, seus metabólitos e níveis de amina, e poucas associações entre eles e parâmetros clínicos ou neurofisiológicos chave entre os pacientes com narcolepsia tipo 1(NT1) e NT2/hipersonia com relação aos pacientes sem tais distúrbios.
Black et al. <sup>(10)</sup>	Avaliar a presença de comorbidade em pacientes com diagnóstico de narcolepsia nos Estados Unidos.	O diagnóstico de narcolepsia esteve associado a uma ampla gama de comorbidades, dentre as quais estão: doenças mentais, doenças do sistema digestivo e diabetes; as taxas foram significativamente mais altas do que os controles combinados.
Fink et al. <sup>(11)</sup>	O objetivo desta revisão foi examinar as redes neurais que controlam diferencialmente o sistema nervoso autônomo durante a vigília <i>versus</i> o sono.	Esta revisão resume o conhecimento sobre os seguintes distúrbios clínicos: insônia, apneia do sono, síndrome das pernas inquietas, movimento rápido dos olhos (REM), transtorno do comportamento do sono e narcolepsia cataplexia.
Hasegawa et al. <sup>(12)</sup>	Identificar o alvo da jusante que medeia os efeitos anticatapléuticos dos neurônios da serotonina no núcleo dorsal da rafe e que também enviam projeções generalizadas por todo o cérebro para esclarecer ainda mais a fisiopatologia da narcolepsia e a regulação do sono/vigília pelos neurônios da orexina.	A ativação optogenética de neurônios da serotonina no núcleo dorsal da rafe da amígdala suprime os episódios de cataplexia em camundongos narcolépticos orexina-ataxina3; Restaurar receptores de orexina na amígdala de Ox1r -/- Ox2r -/- Camundongos não podem suprimir episódios de cataplexia.
Hu e Chen <sup>(13)</sup>	Descrever estudos experimentais em animais relacionando distúrbios do SNC, incluindo narcolepsia ao neurotransmissor de histamina.	Esta revisão resume as descobertas de modelos animais e pesquisas clínicas sobre o papel da histamina e seus receptores no cérebro para o tratamento de distúrbios do SNC. Sugere-se que o neurotransmissor modulador de histamina esteja envolvido em vários distúrbios do SNC.
Beltrán et al. <sup>(14)</sup>	Verificar se clones de células T de doenças específicas poderiam ser detectados no sangue de pacientes com narcolepsia tipo 1 (NT1).	Evidências convergentes apontam para o envolvimento das células T na patogênese da narcolepsia tipo 1 (NT1). Foi detectado viés no uso das famílias TRAV3 e TRAV8, com motivos CDR3 $\alpha$ públicos presentes apenas em células T CD4 + de pacientes com NT1. Esses achados podem oferecer uma ferramenta única para identificar antígenos relevantes para a doença.
Jennum et al. <sup>(15)</sup>	Investigar se os biomarcadores de fluido cefalorraquidiano (CSF) da neurodegeneração são alterados na narcolepsia, a fim de avaliar se a deficiência de hipocretina e o padrão anormal de vigília na narcolepsia levam à neurodegeneração.	Os níveis de $\beta$ -amilóide foram menores em pacientes com NT1 (375,4 $\pm$ 143,5 pg/mL) e NT2 (455,9 $\pm$ 65,0 pg/mL) em comparação com os controles (697,9 $\pm$ 167,3 pg/mL, $p < 0,05$ ). Além disso, em pacientes com narcolepsia tipo 1, os níveis de T-tau (79,0 $\pm$ 27,5 pg/mL) e P-tau181 (19,1 $\pm$ 4,3 pg/mL) foram inferiores aos de 4,3 pg/mL. Nos controles (162,2 $\pm$ 49,9 pg/mL e 33,8 $\pm$ 9,2 pg/mL, $p < 0,05$ ). Os níveis de $\alpha$ -sinucleína, NF-L e CHI3L1 em CSF de pacientes com narcolepsia foram semelhantes aos de indivíduos saudáveis.
Orjatsalo et al. <sup>(16)</sup>	Testar se os pacientes com NT1 têm autoanticorpos contra receptor autônomo $\beta$ 2 adrenérgico, receptores muscarínicos M2 ou receptores de nocicepção.	Todos os pacientes do estudo (n=10) foram positivos para autoanticorpos receptores M2 muscarínicos ( $p < 0,001$ ), 9/10 foram positivos para autoanticorpos contra receptores nocicepticos ( $p < 0,001$ ) e 5/10 foram positivos para $\beta$ 2 autoanticorpos receptores adrenérgicos ( $p < 0,001$ ). Pacientes com narcolepsia tipo 1 abrigavam autoanticorpos ativados contra receptores muscarínicos M2, receptores de nocicepção e receptores adrenérgicos $\beta$ 2. A conexão entre narcolepsia tipo 1, queixas autônomas e a morbidade cardiovascular presumida pode estar associada à ocorrência de autoanticorpos receptores adrenérgicos $\beta$ 2. Por outro lado, a presença dos autoanticorpos pode ser secundária à destruição das vias hipocretinas.
Ramberger et al. <sup>(17)</sup>	Investigar a reatividade CD4 t-cell específica de orexina/HCRT em células mononucleares periféricas (PBMC) de pacientes com narcolepsia tipo 1 e controles saudáveis.	Não foi possível confirmar neste estudo um papel significativo das células T específicas da orexina/hcrt em pacientes com narcolepsia tipo 1.

Continua...

Tabela 2 – Continuação.

Autor	Objetivo	Conclusão
Sakai et al. (18)	Examinar se a degradação anormal do peptídeo HCRT-1 ocorreu em pacientes com narcolepsia tipo 1 e 2.	Os picos relacionados ao HCRT-1 estavam ausentes nos pacientes com narcolepsia tipo 1 com deficiência de HCRT-1. É importante ressaltar, também, que a quantidade total do peptídeo hcrt-1 (picos 3 e 4) diminuiu significativamente no tipo 1 não deficiente e tende a diminuir em pacientes narcolépticos tipo 2, embora os níveis no LCR mensurados com RIA (radioimunoensaio) fossem equivalentes nos controles saudáveis.
Singh et al. (19)	Realizar revisão de literatura sobre a neurobiologia e a psicofarmacologia nos distúrbios do sono.	Reforça a importância de estudos sobre a expressão de alvos específicos de receptores cerebrais e substituição/restauração celular, pois tais estudos têm se mostrado promissores. Novos desenvolvimentos na farmacologia relacionada aos distúrbios do sono são inevitáveis e aguardadas pelos muitos pacientes que sofrem com eles.
Szabo et al. (20)	Realizar revisão de literatura sobre a neurobiologia e a farmacologia na narcolepsia.	Narcolepsia é uma doença incapacitante que provavelmente é subdiagnosticada. Atualmente, os tratamentos disponíveis estão associados à melhora sintomática. Dado o espectro da doença, diferentes etiologias e heterogeneidade da apresentação da doença, estratégias terapêuticas na narcolepsia muitas vezes requerem alvos multimodais e polifarmácia. Reconhecimento e caracterização de regiões neuroanatômicas centrais, como o LC, DR e amígdala, suas vias neurais e neurotransmissores associados, como NE, 5-HT, histamina e GABA (bem como o GHB metabólica GABA), levaram a uma melhor compreensão do estado da doença da narcolepsia.
Uchida et al. (21)	Identificar outros neurônios envolvidos na narcolepsia com cataplexia.	Identificamos uma população de neurônios glicocinérgicos na medula ventral que desempenha um papel importante na indução da atonia muscular durante o sono REM. Ele envia projeções axonais quase exclusivamente para motoneurons na medula espinhal e tronco cerebral, exceto para aqueles que inervam músculos extraoculares, enquanto outros neurônios glicocinérgicos na mesma região também enviam projeções para outras regiões, incluindo núcleos monoaminérgicos. Além disso, esses neurônios recebem entradas diretas de várias regiões do tronco cerebral, incluindo neurônios glutamatérgicos no núcleo tegmental sublaterodorsal (SLD). O silenciamento genético dessa via resultou no sono REM sem atonia e em uma diminuição da cataplexia quando aplicado a camundongos narcolépticos. Este trabalho identificou uma população neural envolvida na geração de atonia muscular durante o sono REM e a cataplexia.
Wang et al. (22)	Acredita-se que a <i>Lipocalin-type prostaglandin D synthase</i> (LPGDS) é um plausível indutor do sono. Assim, o estudo objetiva comparar os níveis de <i>GLPum serum</i> no LCR de pacientes agrupados com hipersonia de origem central, incluindo aqueles com NT1, NT2 e hipersonia idiopática (HI), aqueles em controles saudáveis.	Os níveis de L-PGDS no LCR e soro foram 22-25% menores em indivíduos de controle do que em pacientes com NT1, NT2 e HI. Em contraste com diferenças significativas nos níveis de HCRT-1, e nos níveis de L-PGDS no LCR e soro L-PGDS, foram comparáveis entre NT1, NT2 e IH ( $p > 0,05$ ), exceto para GLPS de soro ligeiramente menor em HI do que em NT1 ( $p = 0,01$ ). O soro L-PGDS correlacionou-se modesta e negativamente à latência do sono no MSLT ( $r = -0,227$ , $p = 0,007$ ) em sujeitos hipersômicos.
Pedersen et al. (23)	Testar o reconhecimento de células T CD8 de 1.183 peptídeos expressos em neurônios de hipocretina e detectar tais células em pacientes NT1 em comparação com controles saudáveis.	Observou-se uma série de diferenças no perfil de reconhecimento de células T CD8 entre pacientes NT1 e controles saudáveis expressando HLA-DQB1*06:02 e hipótese de que a combinação de um certo nível de reatividade de células T CD8 e expressão HLA-DQB1*06:02 é necessária para o desenvolvimento do NT1.
Mahoney et al. (24)	Investigar se a ativação seletiva e quimiógena de neurônios no núcleo central da amígdala (CeA) GABAérgicos em camundongos KO orexina aumenta a cataplexia sob condições básicas e sob condições que provavelmente provocam emoções positivas. Além disso, testamos se a inibição quimiógena seletiva desses neurônios reduz a cataplexia sob as mesmas condições.	Constataram que a cataplexia é substancialmente aumentada pela ativação seletiva de neurônios GABAérgicos no núcleo central da amígdala (CeA). Também demonstraram que a inibição desses neurônios reduz a cataplexia promovida pela recompensa.

LCR: líquido cefalorraquidiano; NT1: narcolepsia tipo 1; NT2: narcolepsia tipo 2; REM: rapid eyes movement; SNC: sistema nervoso central; HCRT: hipocretina-1; RIA: radioimunoensaio; LC: locus coeruleus; DR: rafe dorsal; NE: neurônios de norepinefrina; GABA: ácido gama-aminobutírico; GHB: gama-hidroxitirato; SLD: núcleo tegmental sublaterodorsal; L-PGDS: prostaglandina D sintase do tipo lipocalina; MSLT: teste de latências múltiplas do sono.



**Tabela 3** – Síntese integrativa dos artigos selecionados referente aos aspectos genéticos da narcolepsia.

Autor	Objetivo	Conclusão
Lorenzoni et al. <sup>(25)</sup>	Analisar se há correlação entre narcolepsia, esclerose múltipla (EM) e o alelo HLA-DQB1*06:02.	O estudo sugere não haver correlações significantes entre narcolepsia, EM e HLA-DQB1*06:02. Somente o HLA-DQB1*06:02 não foi suficiente para desenvolver narcolepsia em pacientes com EM. Embora o pequeno número de pacientes com EM com HLA-DQB1 * 06: 02 possa influenciar nossos achados, esses dados sugerem que o HLA-DQB1 * 06: 02 sozinho não é suficiente para pacientes com EM desenvolverem narcolepsia.
Capittini et al. <sup>(26)</sup>	Avaliar a utilidade dos testes de HLA para o diagnóstico de Narcolepsia em quatro grandes grupos étnicos: asiáticos, afro-americanos, ameríndios e caucasianos.	HLA-DQB1*06:02 conferiu um risco aumentado para NT1 e, em menor grau, NT2 em todas as etnias, porém não foi encontrada relação entre hipersonia/hipersonia idiopática e HLA-DQB1*06:02.
Veatch et al. <sup>(27)</sup>	Investigar sobre os papéis pleiotrópicos dos genes que influenciam tanto o sono quanto as doenças neurológicas, a fim de levar a novas estratégias de tratamento para uma variedade de distúrbios do sono.	Progressos consideráveis foram feitos para entender a genética dos distúrbios do sono e do sono. Embora numerosos genes tenham sido implicados em relação ao cronótipo, os efeitos são geralmente pequenos, de modo que amostras grandes são necessárias para detectar sinais. Da mesma forma, estudos de insônia em todo o genoma encontraram potenciais candidatos que precisam de validação.

EM: esclerose múltipla; HLA-DQB1: antígeno HLA-DQB1; HLA: antígenos leucocitários humanos; NT1: narcolepsia tipo 1; NT2: narcolepsia tipo 2.

**Tabela 4** – Síntese integrativa dos artigos selecionados referente ao diagnóstico na narcolepsia.

Autor	Objetivo	Conclusão
Oliveira et al. <sup>(29)</sup>	Analisar a concentração do fator de crescimento klotho e fibroblasto 23 (FGF23) no LCR de pacientes com narcolepsia.	Pacientes com narcolepsia apresentavam significativamente concentração menor de klotho no LCR e aumento dos níveis de FGF-23 no LCR. Esses achados podem desempenhar um papel na compreensão da patogênese da narcolepsia.
Golden e Lipford <sup>(28)</sup>	Explicar os métodos diagnósticos e manejo clínico na narcolepsia.	Esta revisão enfoca as características clinicamente relevantes do transtorno e propõe estratégias de manejo clínico.
Lindström et al. <sup>(5)</sup>	Desenvolver e validar um ensaio de espectrometria de massa cromatografia líquida (LC-MS/MS) para LCR orexin-A e B.	O ensaio apresentou boa sensibilidade (10 pmol/L=35 pg/mL) e uma ampla faixa linear (35–3500 pg/mL). As orexina-A e -B adicionadas ficaram estáveis LCR por 12 e 3 meses, respectivamente, quando congeladas. A concentração mediana de orexina-A no LCR de pacientes com NT1 foi de <35 pg/mL (faixa <35–131 pg/mL), menor que nos indivíduos saudáveis (98 pg/mL, faixa <35–424 pg/mL). As concentrações de orexina-A determinadas usando nosso ensaio LC-MS/MS foram cinco vezes menores do que as medições polissográficas comerciais. As concentrações de orexina-B eram indetectáveis. As concentrações de orexina-A medidas neste ensaio LC-MS/MS foram menores em pacientes com NT1 em comparação com os controles.
Peter-Derex et al. <sup>(30)</sup>	Determinar se o Inventário de Sonolência Diurna (Observation and Interview-based Diurnal Sleepiness Inventory-ODSI) baseado em 3 itens mede o grau de sonolência diurna excessiva em pacientes com suspeita de narcolepsia ou hipersonia idiopática (IH); avaliar a correlação entre o ODSI e a Escala de Sonolência de Epworth (ESS), bem como medições polissográficas objetivas; e testar a precisão do ODSI para detectar narcolepsia ou IH (narcolepsia/IH) em comparação com o ESS.	O ODSI é um breve e simples questionário de primeira linha que explora a intensidade e a duração da sonolência diurna e oferece uma alta sensibilidade para detectar narcolepsia e IH. O ODSI encontrou sonolência diurna excessiva em 92,3% de todos os pacientes e em 98,7% daqueles diagnosticados com narcolepsia/IH.

LCR: líquido cefalorraquidiano; FGF-23: anticorpo do fator de crescimento de fibroblastos 23; RIA: radioimunoensaio; NT1: narcolepsia tipo 1; ODSI: Observation and Interview-based Diurnal Sleepiness Inventory; IH: hipersonia idiopática; ESS: Escala de Sonolência de Epworth.

regulação dos ciclos de sono e vigília. Seus neurônios inervam o núcleo paraventricular e lateral do hipotálamo, recebendo os impulsos elétricos a partir do estresse<sup>(15,31)</sup>. Quando há redução da concentração cerebrospinal dessa substância, a regulação do

comportamento acordado e alerta é prejudicada. Tal diminuição da ação orexinérgica é capaz de inibir a excitação de áreas cerebrais que promovem a vigília, além de menor liberação de neurotransmissores como dopamina, serotonina e histamina<sup>(20)</sup>.

O resultado de todas essas alterações é um alcance facilitado ao nível REM do sono, podendo acontecer em 1 a 2 minutos, acompanhado da cataplexia<sup>(32)</sup>.

Os sintomas de cataplexia e alterações no sono REM se relacionam com a inibição de neurônios motores por produção de GABA e glicina<sup>(33)</sup>. Em pacientes narcolépticos, os neurônios glutamérgicos são ativados durante o dia e mimetizam a atividade cerebral do sono REM no paciente, mesmo acordado. Isso provoca paralisia muscular intensa, porém com preservação da consciência, sonhos vívidos e sono intenso<sup>(20,33,34)</sup>. A cataplexia na narcolepsia ocorre geralmente em situações em que há emoções positivas, devido à participação da amígdala tanto no processamento das emoções quanto na regulação do sono REM. A ativação do sistema GABAérgico por estímulo emocional gera disfunção no circuito dos neurônios centrais da amígdala, que deixa de inervar outras regiões cerebrais, promovendo paralisia motora<sup>(20,35)</sup>.

Além disso, as pesquisas realizadas demonstraram que há envolvimento de alterações nas concentrações de prostaglandina D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) em pacientes com hipersonia. A PGD<sub>2</sub> é uma das substâncias mais potentes na indução do sono e sono REM. Doenças como mastocitose e tripanossomiase africana revelam aumento da atividade pró-inflamatória com liberação de prostaglandina D<sub>2</sub>, gerando sono excessivo e até coma em alguns casos<sup>(36)</sup>. Visto isso, a partir da análise de doenças infecciosas, como *Streptococcus pyogenes*, ou parasitárias, como *Trypanosoma brucei rhodesiense*, e eventos adversos de vacinas, como a Pandemrix pós-H1N1 em 2009<sup>(37,38)</sup>, a relação entre a narcolepsia e inflamação se aproxima ainda mais, demonstrando que a infecção pode predispor autoimunidade.

A participação de células T *killers* CD8+ e CD4+ *helper* contra esse sistema de regulação sono-vigília contribui para o dano neuronal imunomediado<sup>(14)</sup>. As células CD8+ inibem a expressão de neurônios hipocretinérgicos e destroem células-alvo com liberação de grânulos que desencadeiam sua lise, com participação de macrófagos e células *Natural killers*. A célula CD4+ envolve-se com linfócitos B por liberação de citocinas para ativação do processo inflamatório, cuja febre promove migração dessas células para a barreira hematoencefálica. A ativação do reconhecimento da proteína do precursor da orexina, prepro-orexina, desencadeia toda a destruição dos neurônios secretores de hipocretina<sup>(14,32)</sup>.

Nesse ínterim, no que tange aos aspectos genéticos da narcolepsia, verifica-se que a predisposição genética na depleção de genes e associação com o alelo HLA DRB1\*06:02 evidencia a alteração de anticorpos como IgG e IgM hipocretina-específicos que destroem os neurônios atuantes no circuito da orexina<sup>(37)</sup>. O polimorfismo da expressão gênica do alelo de leucócito humano (HLA), especificamente DRB1\*06:02, promove uma alteração nos receptores de células T que, por conseguinte,

colaboram na patogênese da narcolepsia<sup>(26)</sup>. A deficiência do heterodímero DQ0602, importante regulador de transporte, está presente em 98% dos pacientes narcolépticos Tipo 1<sup>(25,26)</sup>.

O alelo DQB1\*06:02 do antígeno leucocitário humano classe tipo II é um predisponente importante para maior suscetibilidade à narcolepsia<sup>(25)</sup>. Tal alelo aumenta o risco de desenvolvimento da NT1, sendo que este está presente em mais de 95% dos indivíduos narcolépticos<sup>(27)</sup>. O risco é ainda mais alto em pessoas cujos alelos são homocigotos para DAQB1\*06:02, sendo cinco vezes maior se comparado aos pacientes heterocigotos<sup>(25-27)</sup>. A presença de alelos como HLA-DPB1\*05:01 e DQB1\*05:01 também conferem maior predisposição para a narcolepsia, enquanto alelos como HLA-DPA1\*01:03 e DPB1\*04:02 têm ação protetiva. Polimorfismos de P2RY11 afetam diretamente na ativação e regulação nas vias de células *Natural Killers* (NK), CD8+ e CD4+<sup>(34)</sup>. Além do gene P2RY11, modulador da resposta imunológica para infecção, polimorfismos em CTSH e TNFSF4 são encontrados em pacientes narcolépticos<sup>(34)</sup>.

Imprescindível enfatizar que, apesar do conhecimento adquirido ao longo das décadas sobre o tema “Narcolepsia”, o diagnóstico costuma ser tardio. Destaca-se que a história clínica e a utilização de instrumentos validados sobre sono são a primeira fase para a detecção da doença; a Escala de Sonolência de Epworth, ou escala de sonolência diurna pediátrica, pode ser administrada rapidamente no consultório<sup>(28)</sup> e tem sido um dos instrumentos mais utilizados na prática clínica, entretanto, estudo recente demonstrou que o instrumento *Observation and Interview-based Diurnal Sleepiness Inventory* (ODSI) também se mostrou eficaz na detecção da narcolepsia<sup>(30)</sup>.

Com relação a exames, são amplamente utilizados a actigrafia e a polissonografia, ambos não invasivos<sup>(2,39)</sup>. A actigrafia tem sido usada ativamente em estudos relacionados ao sono desde o início da década de 1990. Uma vantagem dos métodos de actigrafia sobre os métodos de polissonografia é a duração. A actigrafia também captura a atividade diurna, que não é capturada pela polissonografia. Uma das desvantagens são os resultados falsos positivos, relativamente comuns: enquanto a actigrafia é boa em detectar padrões de sono (sensibilidade: 0,965), tem suas dificuldades em detectar períodos de vigília (especificidade: 0,329). Apesar de não substituir a polissonografia, fornece informações sobre o ritmo circadiano, quando o registro de vários dias se fizer necessário, além de ter menor custo<sup>(40)</sup>.

O estudo polissonográfico de noite inteira realizado no laboratório é o método padrão ouro para o diagnóstico dos distúrbios do sono e possibilita o registro de vários parâmetros, como por exemplo: eletroencefalograma (EEG), do eletro-oculograma (EOG), eletromiografia (EMG) do mento e membros, das medidas do fluxo oronasal, do movimento tóraco-abdominal, do eletrocardiograma (ECG) e da oximetria de pulso<sup>(2,39,40)</sup>.

Atualmente, o teste de hipocretina no Líquido Cefalorraquidiano (LCR) não é realizado rotineiramente na prática clínica, embora possa se tornar uma prática comum para a avaliação da narcolepsia no futuro, bem como a mensuração de exames genéticos e outros testes, como, por exemplo, ensaio de espectrometria de massa cromatografia líquida (LC-MS/MS) no LCR para detecção de orexina A e B<sup>(5,25,29)</sup>.

## CONCLUSÃO

Tornam-se cada vez mais avançados os conhecimentos em relação à etiopatogenia, fisiopatologia e história natural da narcolepsia, uma doença séria que pode ser incapacitante para

a vida profissional e acadêmica, caso não tenha o seu devido diagnóstico e tratamento multidisciplinar o mais precocemente possível. Além dos acidentes de trânsito e de trabalho, esse distúrbio do sono pode causar acidentes domésticos, os quais muitas vezes não constam nos estudos epidemiológicos. Há uma interação direta dessa patologia com a genética e o sistema imunológico, com sérios comprometimentos na homeostase do organismo humano. Como resultado, evidencia-se a relevância de fomentar a disseminação da discussão científica acerca do tema, com o intuito de estimular a utilização prática das técnicas diagnósticas da doença, bem como seu tratamento, visando assegurar a melhoria da qualidade de vida dos indivíduos afetados.

**Financiamento:** nenhum.

**Conflito de interesses:** os autores declaram não haver conflito de interesse.

**Contribuição dos autores:** AAVM: Administração do projeto, Análise formal, Escrita - revisão e edição. JCRPS: Administração do projeto, Análise formal, Investigação. BB: Curadoria de dados, Escrita - primeira redação, Investigação.

## REFERÊNCIAS

- Dauvilliers Y, Barateau L. Narcolepsy and other central hypersomnias. *Continuum (Minneapolis, Minn)*. 2017;23(4):989-1004. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000492>
- Scheer D, Schwartz SW, Parr M, Zgibor J, Sanchez-Anguiano A, Rajaram L. Prevalence and incidence of narcolepsy in a US health care claims database, 2008-2010. *Sleep*. 2019;42(7):zsz091. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsz091>
- Monaca C, Franco P, Philip P, Dauvilliers Y. French consensus. Type 1 and type 2 narcolepsy: investigations and follow-up. *Rev Neurol (Paris)*. 2017;173(1):25-31. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2016.09.016>
- Tunisi L, D'Angelo L, Fernandez-Rilo AC, Forte N, Piscitelli F, Imperatore R, et al. Orexin-A/hypocretin-1 controls the VTA-NAc mesolimbic pathway via endocannabinoid-mediated disinhibition of dopaminergic neurons in obese mice. *Front Synaptic Neurosci*. 2021;13:622405. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2021.622405>
- Lindström M, Schinkelshoek M, Tienari PJ, Kukkonen JP, Renkonen R, Fronczek R, et al. Orexin-A measurement in narcolepsy: a stability study and a comparison of LC-MS/MS and immunoassays. *Clin Biochem*. 2021;90:34-9. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.01.009>
- Raggi A, Plazzi G, Ferri R. Health-related quality of life in patients with narcolepsy: a review of the literature. *J Nerv Ment Dis*. 2019;207(2):84-99. <https://doi.org/10.1097/NMD.0000000000000918>
- Souza MT, Silva MD, Carvalho R. Integrative review: what is it? How to do it? *Einstein (São Paulo)*. 2010;8(1):102-6. <https://doi.org/10.1590/s1679-45082010rw1134>
- Ursi ES, Gavão CM. Prevenção de lesões de pele no perioperatório: revisão integrativa da literatura. *Rev Latino-am Enfermagem*. 2006;14(1):124-31
- Barateau L, Lopez R, Dauvilliers Y. Clinical neurophysiology of CNS hypersomnias. *Handb Clin Neurol*. 2019;161:353-67. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64142-7.00060-6>
- Black J, Reaven NL, Funk SE, McGaughey K, Ohayon MM, Guillemainault C, et al. Medical comorbidity in narcolepsy: findings from the Burden of Narcolepsy Disease (BOND) study. *Sleep Med*. 2017;33:13-8. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2016.04.004>
- Fink AM, Bronas UG, Calik MW. Autonomic regulation during sleep and wakefulness: a review with implications for defining the pathophysiology of neurological disorders. *Clin Auton Res*. 2018;28(6):509-18. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aao495310.1007/s10286-018-0560-9>
- Hasegawa E, Maejima T, Yoshida T, Maseck OA, Herlitze S, Yoshioka M, et al. Serotonin neurons in the dorsal raphe mediate the anticataplectic action of orexin neurons by reducing amygdala activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(17):E3526-E3535. <https://doi.org/10.1073/pnas.1614552114>
- Hu W, Chen Z. The roles of histamine and its receptor ligands in central nervous system disorders: an update. *Pharmacol Ther*. 2017;175(1):116-32. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsx19910.1016/j.pharmthera.2017.02.039>



14. Beltrán E, Nguyen XH, Quériault C, Barateau L, Dauvilliers Y, Dommair K, et al. Shared T cell receptor chains in blood memory CD4(+) T cells of narcolepsy type 1 patients. *J Autoimmun*. 2019;100(1):1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.03.010>
15. Jennum PJ, Pedersen LØ, Bahl JMC, Modvig S, Fog K, Holm A, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers of neurodegeneration are decreased or normal in narcolepsy. *Sleep*. 2017;40(1). <https://doi.org/10.1093/sleep/zsw006>
16. Orjatsalo M, Partinen E, Wallukat G, Alakuijala A, Partinen M. Activating autoantibodies against G protein-coupled receptors in narcolepsy type 1. *Sleep Med*. 2021;77:82-7. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2020.11.038>
17. Ramberger M, Högl B, Stefani A, Mitterling T, Reindl M, Lutterotti A. CD4+ T-cell reactivity to orexin/hypocretin in patients with narcolepsy type 1. *Sleep*. 2017;40(3):zsw070. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsw070>
18. Sakai N, Matsumura M, Lin L, Mignot E, Nishino S. HPLC analysis of CSF hypocretin-1 in type 1 and 2 narcolepsy. *Sci Rep*. 2019;9(1):477. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36942-8>
19. Singh B, McArdle N, Hillman D. Psychopharmacology of sleep disorders. *Handb Clin Neurol*. 2019;165:345-64. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64012-3.00021-6>
20. Szabo ST, Thorpy MJ, Mayer G, Peever JH, Kilduff TS. Neurobiological and immunogenetic aspects of narcolepsy: implications for pharmacotherapy. *Sleep Med Rev*. 2019;43:23-36. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2018.09.006>
21. Uchida S, Soya S, Saito YC, Hirano A, Koga K, Tsuda M, et al. A discrete glycinergic neuronal population in the ventromedial medulla that induces muscle atonia during REM sleep and cataplexy in mice. *J Neurosci*. 2021; 41(7):1582-96. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0688-20.2020>
22. Wang P, Li Q, Dong X, An H, Li J, Zhao L, et al. Lipocalin-type prostaglandin D synthase levels increase in patients with narcolepsy and idiopathic hypersomnia. *Sleep*. 2021;44(4):zsa234. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsa234>
23. Pedersen NW, Holm A, Kristensen NP, Bjerregaard AM, Bentzen AK, Marquard AM, et al. CD8(+) T cells from patients with narcolepsy and healthy controls recognize hypocretin neuron-specific antigens. *Nat Commun*. 2019;10(1):837. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08774-1>
24. Mahoney CE, Agostinelli LJ, Brooks JN, Lowell BB, Scammell TE. GABAergic neurons of the central amygdala promote cataplexy. *J Neurosci*. 2017;37(15):3995-4006. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4065-15.2017>
25. Lorenzoni PJ, Werneck LC, Crippa ACS, Zanatta A, Kay CSK, Silvado CES, et al. Is there a relationship between narcolepsy, multiple sclerosis and HLA-DQB1\*06:02? *Arq Neuropsiquiatr*. 2017;75(6):345-8. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20170063>
26. Capittini C, De Silvestri A, Terzaghi M, Scotti V, Rebuffi C, Pasi A, et al. Correlation between HLA-DQB1\*06:02 and narcolepsy with and without cataplexy: approving a safe and sensitive genetic test in four major ethnic groups. A systematic meta-analysis. *Sleep Med*. 2018;52:150-7. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2018.08.024>
27. Veatch OJ, Keenan BT, Gehrman PR, Malow BA, Pack AI. Pleiotropic genetic effects influencing sleep and neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2017;16(2):158-70. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(16\)30339-8](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(16)30339-8)
28. Golden EC, Lipford MC. Narcolepsy: diagnosis and management. *Cleve Clin J Med*. 2018;85(12):959-69. <https://doi.org/10.3949/ccjm.85a.17086>
29. Oliveira GP, Elias RM, Fernandes GBP, Moyses R, Tufik S, Bichueti DB, et al. Decreased concentration of klotho and increased concentration of FGF23 in the cerebrospinal fluid of patients with narcolepsy. *Sleep Med*. 2021;78:57-62. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2020.11.037>
30. Peter-Derex L, Subtil F, Lemaitre G, Ricordeau F, Bastuji H, Bridoux A, et al. Observation and interview-based diurnal sleepiness inventory for measurement of sleepiness in patients referred for narcolepsy or idiopathic hypersomnia. *J Clin Sleep Med*. 2020;16(9):1507-15. <https://doi.org/10.5664/jcsm.8574>
31. Khairuddin S, Aquili L, Heng BC, Hoo TLC, Wong KH, Lim LW. Dysregulation of the orexinergic system: a potential neuropeptide target in depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 2020;118(1):384-96. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.07.040>
32. Mahoney CE, Cogswell A, Koralnik IJ, Scammell TE. The neurobiological basis of narcolepsy. *Nat Rev Neurosci*. 2019;20(2):83-93. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0097-x>
33. Pintwala S, Peever J. Circuit mechanisms of sleepiness and cataplexy in narcolepsy. *Curr Opin Neurobiol*. 2017;44:50-8. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.02.010>
34. Bassetti CLA, Adamantidis A, Burdakov D, Han F, Gay S, Kallweit U, et al. Narcolepsy – clinical spectrum, aetiopathophysiology, diagnosis and treatment. *Nat Rev Neurol*. 2019;15(9):519-39. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0226-9>
35. Barateau L, Lopez R, Dauvilliers Y. Clinical neurophysiology of CNS hypersomnias. *Handb Clin Neurol*. 2019;161:353-67. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64142-7.00060-6>
36. Urade Y. Neurobiological basis of hypersomnia. *Sleep Med Rev*. 2017;12(3):265-77. <https://doi.org/10.1016/j.jsmc.2017.03.003>
37. Giannoccaro MP, Sallemi G, Liguori R, Plazzi G, Pizza F. Immunotherapy in narcolepsy. *Curr Treat Options Neurol*. 2020;22(1):2. <https://doi.org/10.1007/s11940-020-0609-7>
38. Aps LRMM, Piantola MAF, Pereira SA, Castro JT, Santos FAO, Ferreira LCS. Eventos adversos de vacinas e as consequências da não vacinação: uma análise crítica. *Rev Saúde Pública*. 2018;52:40. <https://doi.org/10.11606/S1518-8787.2018052000384>
39. Gandhi KD, Mansukhani MP, Silber MH, Kolla BP. Excessive daytime sleepiness: a clinical review. *Mayo Clin Proc*. 2021;96(5):1288-301. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.08.033>
40. Abad VC, Guilleminault C. New developments in the management of narcolepsy. *Nat Sci Sleep*. 2017;9:39-57. <https://doi.org/10.2147/NSS.S103467>