UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI GENOVA

campus savona

Università degli Studi di Genova

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche

Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili

Master in Riabilitazione dei Disordini Muscoloscheletrici

A.A. 2013/2014

Campus Universitario di Savona

Dolore muscoloscheletrico cronico ed alterazioni del sonno: ruolo dei fattori infiammatori

Candidato:

Lorenzo Celico

Relatore:

Mauro Monesi

Sommario

Abstract 2

Introduzione 3

Materiali e metodi 3

Risultati 5

Discussione 7

Conclusione 29

Bibliografia 31

Abstract

Obbiettivi

Diverse patologie caratterizzate dalla presenza di dolore muscoloscheletrico cronico annoverano, tra gli altri sintomi, anche disturbi del sonno, in particolare insonnia o sonno non riposante.
Scopo di questo lavoro è indagare la letteratura esistente per chiarire quali siano i meccanismi fisiologici alla base dell'associazione tra dolore muscoloscheletrico cronico e disturbi del sonno.

Materiali e metodi

Dopo aver posto dei criteri d'inclusione, è stata definita una stringa di ricerca, ed è stata effettuata una ricerca utilizzando Pubmed. E' stato utilizzato il filtro "Humans" per escludere studi effettuati su animali.
E' stata utilizzata la checklist STROBE per valutare la completezza nel reporting degli studi osservazionali inclusi.

Risultati

Una prima selezione di 16 articoli è stata effetuata tramite lettura dei titoli e degli abstract.
Utilizzando la bibliografia degli articoli selezionati, sono stati identificati ulteriori 6 titoli di potenziale interesse.
Dopo la lettura dei full-text sono stati inclusi 13 articoli
Degli articoli inclusi, 6 sono studi osservazionali e 7 review non sistematiche.

Conclusione

Le citochine sembrano giocare un ruolo fondamentale nel definire la relazione tra sonno e dolore.
In pazienti con dolore cronico potrebbe esserci un alterato equilibrio tra citochine pro-infiammatorie ed anti-infiammatorie: queste ultime non sarebbero contro-bilanciate da un'adeguata quantità di citochine pro-infiammatorie. Sono necessari ulteriori lavori di ricerca che possano avvalorare questa ipotesi.

Introduzione

Diverse patologie, tra cui fibromialgia, sindrome da fatica cronica e low back pain cronico, presentano un pattern di sintomi che include dolore e alterazioni del sonno, in particolare insonnia o sonno non riposante [1]

L'associazione tra dolore e disturbi del sonno sembra essere bidirezionale: il dolore contribuisce ad alterare il pattern di sonno, ed alterati pattern di sonno possono aumentare la percezione del dolore. Il sonno, fenomeno complesso, presenta 4 stadi e 2 fasi (REM e NREM) diverse, sia per durata che per fisiologia. I soggetti affetti da fibromialgia e dolori muscoloscheletrici cronici hanno dimostrato alterazioni delle onde EEG tipiche del sonno, alterazioni dell'efficienza del sonno (ore di sonno / ore nel letto), alterazioni della durata degli stadi del sonno e della percentuale di sonno REM e NREM.

Potenzialmente responsabili dell'associazione tra dolore e sonno alterato potrebbero essere i mediatori dell'infiammazione, tra cui le citochine, che hanno un ruolo sia nella mediazione del dolore, sia nella regolazione del sonno [2]

Una delle ipotesi più accreditate prevede che in condizioni di restrizione del sonno e di dolore vi siano alti livelli di citochine pro-infiammatorie [2]

Recenti lavori, però, suggeriscono che il sonno fisiologico sia regolato da un equilibrio di citochine pro-infiammatorie e anti-infiammatorie. I disturbi del sonno potrebbero derivare da un imbalance di questo equilibrio in favore delle citochine anti-infiammatorie, piuttosto che delle pro-infiammatorie [3].

Posto che le citochine giocano quasi sicuramente un ruolo fondamentale nella mediazione tra sonno e dolore, bisogna considerare il ruolo che esse hanno anche in altri sistemi che possono influire sul pattern di sonno, come, per esempio, quello di risposta allo stress, o quello immunitario.

Scopo di questo lavoro è quello di indagare la letteratura esistente per chiarire il ruolo dei sistemi immunitario, endocrino e nervoso autonomo nella mediazione tra dolore e alterato pattern di sonno.

Materiali e metodi

La banca dati su cui sono stati ricercati gli articoli è Pubmed.

Sono stati posti criteri d'inclusione e d'esclusione.

Sono stati inclusi articoli scritti in lingua inglese, pubblicati tra Gennaio 1980 e Gennaio 2015, che valutassero la correlazione esistente tra i disturbi del sonno, il CLBP e/o il dolore muscoloscheletrico cronico, ed alterazioni del sistema nervoso, endocrino o immunitario.

Sono stati inclusi anche articoli che si occupassero di dolore muscoloscheletrico cronico, e valutassero tra le misure di outcome la qualità/quantità del sonno e/o le alterazioni dei sistemi nervoso, endocrino o immunitario.
Sono stati esclusi articoli che valutassero la correlazione tra disturbi del sonno e dolori muscoloscheletrici cronici senza considerare le basi fisiologiche potenzialmente implicate, o articoli che valutassero fisiologia e patofisiologia del sonno senza correlarla con disturbi muscoloscheletrici.

Sono state definiti 3 diversi topics inerenti il lavoro di ricerca, e per ognuno sono state definite parole chiave.

Il primo topic riguarda il dolore muscoloscheletrico cronico. Le keywords definite relativamente a questo topic sono state: chronic musculoskeletal pain, chronic low back pain, low back pain, fibromyalgia, CLBP, complex regional pain syndrome.

Il secondo topic riguarda i disturbi del sonno, e le seguenti sono state definite come relative keywords: sleep disorders, sleep deprivation, insomnia, sleep disturbances, sleep, circadian rhythm.

Il terzo topic è inerente alle disfunzioni del sistema immunitario, endocrino e del sistema nervoso autonomo. In particolare, si sono volute indagare in modo più specifico le alterazioni del processo di infiammazione cronica. Sono state selezionate come keywords: inflammation, chronic inflammation, inflammatory process, cytokines, interleukin-6, interleukin 1 beta, TNF-alpha, c reactive protein, immune system, autonomic nervous system, neuro-endocrin system.

Partendo dalle parole chiave selezionate, è stata creata una stringa di ricerca. Le keywords inerenti lo stesso topic sono state unite dall'operatore boleano "OR" e poste all'interno di parentesi. Quindi le varie parentesi sono state unite utilizzando l'operatore boleano "AND".

La stringa utilizzata per la ricerca è stata:

("chronic musculoskeletal pain" OR "chronic low back pain" OR "low back pain" OR "fibromyalgia" OR "CLBP" OR "complex regional pain syndrome") AND (("sleep disorders" OR "sleep deprivation" OR insomnia OR "sleep disturbances" OR sleep OR "circadian rhythm") AND (inflammation OR "chronic inflammation" OR "inflammatory process" OR cytokines OR "interleukin-6" OR "interleukin 1 beta" OR "TNF-alpha" OR "c reactive protein") OR ("Immune system" OR "autonomic nervous system" OR "neuro-endocrin system"))

E’ stata utilizzata la checklist STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) per valutare la qualità degli studi osservazionali inclusi.
Questo strumento è stato sviluppato con lo scopo di assistere gli Autori nel reporting di uno studio osservazionale, e non con lo scopo di valutare la qualità metodologica di un articolo attribuendogli un rating. Tuttavia, considerando la mancanza di specifici strumenti validati per un tale scopo, l’utilizzo della checklist STROBE può essere considerato una buona alternativa per una valutazione preliminare circa la completezza di uno studio osservazionale.

Risultati

La stringa è stata inserita su Pubmed, che ha indicizzato 339 articoli. Utilizzando il filtro “humans” gli articoli si sono ridotti a 305.

Una prima selezione è stata effettuata a partire dal titolo degli articoli: per quanto riguarda gli articoli il cui titolo non fosse sufficientemente esplicativo per capire se potessero essere inclusi, si è proceduto con la lettura dell’abstract.
Al termine di questa prima selezione sono stati individuati 16 articoli.

Si è proceduto poi a leggere la bibliografia di ognuno degli articoli selezionati, con l’intento di verificare la presenza di altri titoli che potessero essere inclusi nel lavoro.
Sono stati selezionati altri 6 articoli, con lo stesso metodo utilizzato nella selezione precedente.

Il totale degli articoli selezionati tramite titolo ed abstract è risultato essere di 22.
Dopo lettura dei full-text sono stati inclusi 13 articoli.

Di seguito è riportata la flow chart relativa al metodo di selezione degli articoli.

Sono stati inclusi 6 studi osservazionali e 7 review non sistematiche.

Di questi, 9 articoli si interessano di sindrome fibromialgica e condizioni correlate, 3 sono centrati su fisiologia e patologia del sonno, un solo articolo riguarda l’associazione tra CLBP, dolore e alterazioni nel livello di citochine circolanti.

Nelle Tabelle 1 e 2 sono sintetizzati i risultati della ricerca effettuata.

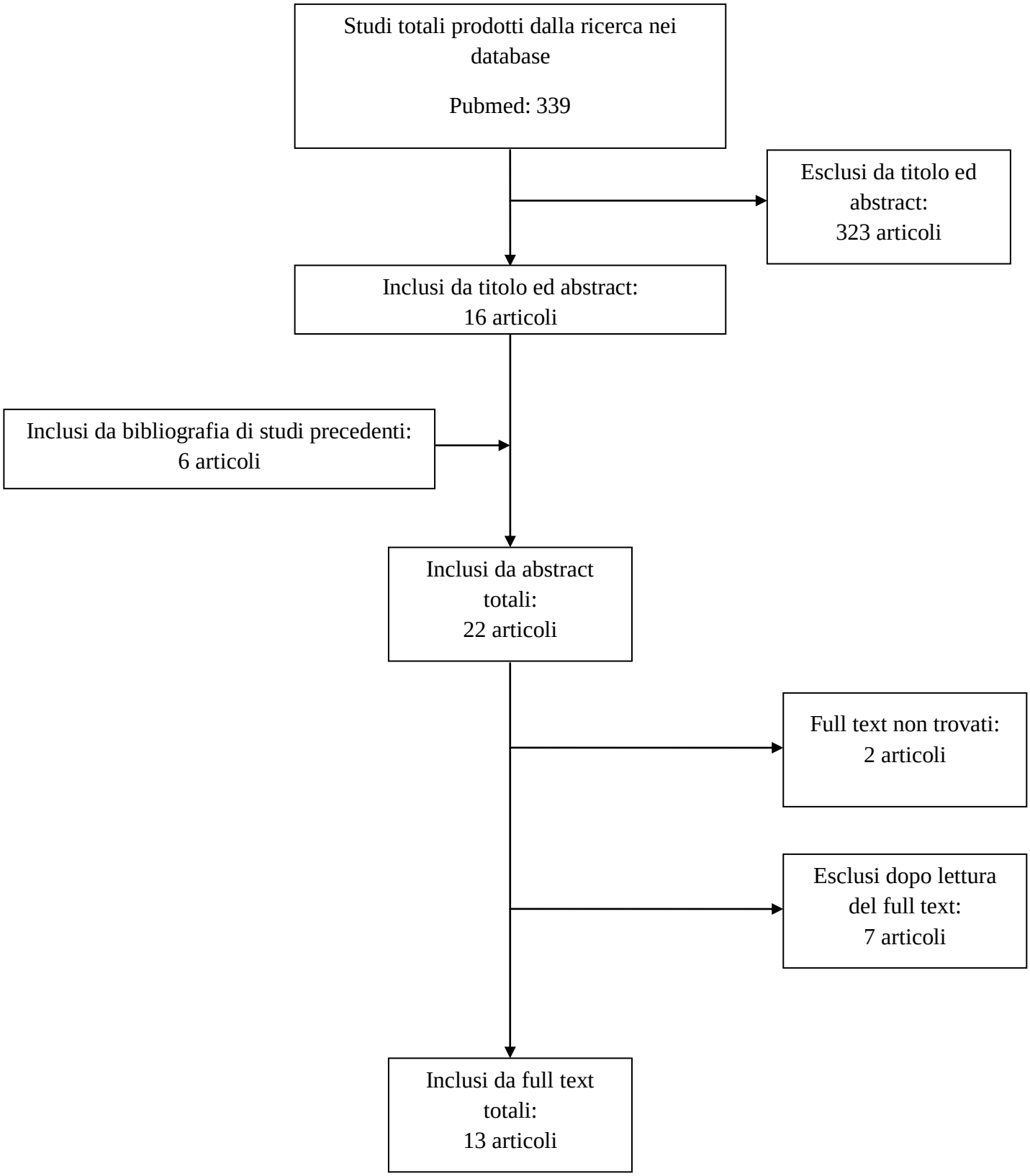
Studi totali prodotti dalla ricerca nei database
Pubmed: 339
Esclusi da titolo ed abstract:
323 articoli
Inclusi da titolo ed abstract:
16 articoli
Inclusi da bibliografia di studi precedenti:
6 articoli
Inclusi da abstract totali:
22 articoli
Full text non trovati:
2 articoli
Esclusi dopo lettura del full text:
7 articoli
Inclusi da full text totali:
13 articoli

Tabella 1 – Riferimenti degli studi inclusi

N°	Titolo	Tipo di studio	Anno	Autore
1	Chronic Low back pain, Sleep disturbances and interleukine-6 [4]	Studio osservazionale	2011	Heffner
2	Elevated Inflammatory Markers in Response to Prolonged Sleep Restriction Are Associated With Increased Pain Experience in Healthy Volunteers [5]	Studio osservazionale	2007	Haack
3	Cytokine across the night in chronic fatigue syndrome with and without fibromyalgia [6]	Studio osservazionale	2010	Nakamura
4	Nocturnal heart rate variability parameters as potential fibromyalgia biomarker: correlation with symptoms severity [7]	Studio osservazionale	2010	Lerma
5	Pain, psychological variables, sleep qualities and natural killer cells activity in midlife women with and without fibromyalgia [8]	Studio osservazionale	2004	Landis
6	Plasma cytokine fluctuations over time in healthy controls and patients with fibromyalgia [3]	Studio osservazionale	2009	Togo
7	Bidirectional comunication between the brain and immune system: implication for physiological sleep and disorders with disrupted sleep [9]	Review non sistematica	2006	Lorton
8	Mediators of inflammation and their interaction with sleep; relevance for chronic fatigue syndrome and related conditions [1]	Review non sistematica	2001	Mullington

9	Sleep and rheumatologic disorders [10]	Review non sistematica	2008	Abad
10	Integrated review of the association of cytokine with fibromyalgia and fibromyalgia core symptoms [2]	Review non sistematica	2010	Menzies
11	Abnormality of circadian rhythm of serum melatonin and other serum biochemical parameters in fibromyalgia syndrome [11]	Review non sistematica	2011	Mahdi
12	Sleep, neuroimmune and neuroendocrine function in fibromyalgia and chronic fatigue syndrome [12]	Review non sistematica	1995	Moldofsky
13	Influence of host defence activation on sleep in humans [13]	Review non sistematica	1995	Pollmacher

Tabella 2 – Analisi degli articoli inclusi

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
1	Investigare la correlazione esistente tra disturbi del sonno e livelli circolanti di Interleuchina 6, in soggetti affetti da CLBP ed in soggetti sani	25 soggetti con CLBP e 25 controlli sanni (gender and age matched) Criteri d'inclusione: assenza di segni neurologici, assenza di malattie croniche che possano limitare il ROM, non utilizzo di farmaci oppiodei.	Pittsburgh Sleep Quality Index McGill Pain Questionare Short Form Livelli di IL-6 nel plasma	I pazienti con CLBP hanno riferito una peggiore qualità del sonno (p-value 0.04) Nei pazienti con CLBP, una peggiore qualità del sonno è associata con elevati livelli di IL-6 (p-value Time 1 0.05; p-value Time 2 0.008) Sia la qualità del sonno (p-value 0.01) che i livelli di IL-6 (p-value 0.02) sono correlati con il dolore percepito.	Non sono descritti in modo coinciso e chiaro i potenziali bias. Non è descritto nel dettaglio come è stata raggiunta la dimensione dello studio. Non sono descritti nel dettaglio tutti i metodi statistici. La dimensione del campione è piuttosto ridotta e non pienamente rappresentativa della popolazione affetta da CLBP.

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
2	Investigare gli effetti di una ridotta durata del sonno (4h per notte) sulla quantità di mediatori dell'infiammazione circolanti. Testare l'ipotesi che un aumento dei mediatori dell'infiammazione sia correlato in modo quanitativo con l'aumento di dolore percepito in risposta alla privazione del sonno.	18 volontari sani divisi in 2 gruppi. Criteri d'inclusione: assenza di disordini psichiatrici, neurologici, immunitari e cardiovascolari. Età tra i 21 ed i 40 anni. Esami ematici privi di alterazioni. I soggetti inclusi non hanno cambiato lavoro o time zone nei 3 mesi precedenti, non sono fumatori, o consumatori di droga. BMI < 29 Assenza di disturbi del sonno alla polisonnografia. Durata media del sonno tra 6.5 e 9 ore.	VAS in 108 items raccolti ogni 2 ore per 12 giorni per valutare umore, segni fisici e performance Livelli di IL-6 nel plasma e nelle urine Livelli di prostaglandine nelle urine Soluble tumor necrosis factor alpha nel plasma	I livelli di IL-6 sono ridotti in modo statisticamente significativo nel gruppo con sonno ridotto (p 0.15). I livelli di CPR hanno seguito lo stesso trend, ma senza significatività statistica (p 0.12). I metaboliti della PG sono aumentati nel gruppo 4h, ma senza significatività statistica I livelli elevati di IL-6 erano fortemente associati all'aumento del dolore percepito in concomitanza con la restrizione del sonno (0.003).	Non sono descritti i limiti dello studio nella discussione. Il numero di partecipanti è piuttosto ridotto. Non viene descritto come è stata definita la dimensione dello studio. Non sono descritti in modo coinciso e chiaro i potenziali bias.

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
3	Valutare se alla base della Chronic Fatigue Syndrome ci sia una disregolazione della produzione di citochine.	24 controlli e 26 soggetti con CFS. E' descritto il metodo di selezione dei partecipanti, ma non sono descritti i criteri d'inclusione e di esclusione.	Livelli di citochine nel sangue analizzate con tre metodologie diverse (Luminex, Elispot, qRT-PCR).	C'è una correlazione significativa tra periodo totale di sonno e livelli di IL-10 (p 0.042) Il gruppo CFS è stato diviso in CFS con FM e CFS senza FM: i livelli di IL-10 (citochina anti-infiammatoria) nel gruppo CFS senza FM sono significativamente più alti ($p<0.05$) di quelli del gruppo di controllo o di CFS con FM.	E' descritto molto nel dettaglio il processo di selezione dei partecipanti, ma non sono riportati in modo sintetico ed immediatamente fruibile i criteri di inclusione ed esclusione. Non sono descritti i limiti dello studio nella discussione. Non viene descritto come è stata definita la dimensione dello studio.

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
4	1) valutare diversi parametri della variabilità notturna della frequenza cardiaca quali potenziali biomarker per la fibromialgia 2)valutare se esiste correlazione tra i parametri studiati ed i diversi sintomi della fibromialgia	22 donne affette da fibromialgia e 22 donne sane. Criteri d'inclusione dei pazienti: - diagnosi di FM secondo i criteri del 1990 dell'ACR. - età tra i 18 ed i 50 anni - non uso di antidepressivi o tranquillanti. - età fertile, ma non in periodo mestruale. - assenza di comorbilità Criteri d'inclusione dei controlli: - considerarsi sani (grosso bias) ed avere meno di 5 tender points fibromialgici - non essere in periodo mestruale.	Holter Misurazione HRV Questionari per valutare la sintomatologia: - Fibromyalgia Impact Questionnaire - Medical Outcome Sleep Scale - Composite Autonomic Symptoms and Signs (COMPASS) - Hospital Anxiety and Depression Scale - Multidimensional Assessment of Fatigue Scale - SF-36	I pazienti fibromialgici hanno una variabilità della frequenza cardiaca inferiore rispetto ai controlli (p 0.001 / p 0.006 a seconda del parametro misurato), indice di un'aumentata attività del sistema nervoso simpatico. Sono state evidenziate diverse associazioni statisticamente significative tra parametri della HRV notturna e sintomi fibromialgici: dolore, costipazione e depressione.	Non sono descritte nel dettaglio le coovariabili possibili fonti di bias. Non sono descritti i limiti dello studio nella discussione. Non viene descritto come è stata definita la dimensione dello studio.

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
5	Comparare il dolore, variabili psicologiche, qualità del sonno soggettiva ed oggettiva, attività di linfociti Natural Killer in donne di mezza età con e senza FM	33 donne affette da fibromialgia e 37 controlli. Sono state incluse donne con diagnosi di FM. Criteri d'esclusione: - età minore di 25 o maggiore di 60 anni - BMI>35 - cambio di lavoro - patologia psichiatrica, fisica o disordini del sonno in anamnesi - abuso di sostanze nell'anno precedente - incapacità di sospendere l'utilizzo di ipnotici, sedativi o psicotropici per le due settimane precedenti e durante lo studio.	- NRS da 1 a 10 - 3 itmes dal Paffembarger Physical Activity Questionnaire; - Dispendio calorico giornaliero - Visita psichiatrica e Back Depression Inventory - SCL-90R - Profile of Mood State (65 items) - Tender Points: 9 punti bilaterali tramite *standard dolorimeter* - Polisonnografia, EEG, elettro-oculogramma e elettromiografia - Qualità soggettiva del sonno: specifico questionario - Cortisolo nelle urine - Esami del sangue	Le donne con FM hanno riportato una sensazione di stanchezza al risveglio più alta rispetto ai controlli (p 0.0001), maggiore tempo per addomrmentarsi (p 0.006), fase 2 NREM del sonno più breve (p 0.004), una minore efficienza del sonno (p 0.03) Le donne con FM hanno in media una più bassa attività NK, ma non in modo statisticamente significativo. L'attività delle cellule NK è associata con l'efficienza del sonno (ore di sonno/ore nel letto) solo nel gruppo controllo (r2 0.138), non nel gruppo FM (0.026).	Non viene descritto come è stata definita la dimensione dello studio. Non è riportato il processo di selezione dei soggetti eleggibili. Non sono descritti in modo coinciso e chiaro i potenziali bias.

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
6	Esaminare il pattern di secrezione delle citochine durante le 24 ore in donne con fibromialgia e compararlo con quello di donne sane	E' descritto il metodo di selezione dei partecipanti, ma non sono descritti i criteri d'inclusione e di esclusione. Il campione è piuttosto limitato: 7 pazienti e 9 controlli.	Livelli di citochine nel sangue durante il sonno	La concentrazione media di IL-10 durante il sonno è più alta nei pz. FM che nei controlli ($p<0.05$) Le donne affette da FM hanno dimostrato avere un rapporto maggiore tra citochine anti-infiammatorie (IL-10) e citochine pro-infiammatorie (IL-1 beta, IL-8, TNF-alpha). Questo sbilanciamento tra citochine pro ed anti infiammatorie è compatibile con i disturbi del sonno lamentati dalle pazienti	Manca la descrizione dei dati demografici dei due gruppi. Il numero di pazienti è molto limitato. Non viene descritto come è stata definita la dimensione dello studio. Non sono descritti in modo coinciso e chiaro i potenziali bias.

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
7	Descrivere i meccanismi di segnale tra il sistema immunitario ed il SNC e viceversa;	/	/	Il SNC influenza indirettamente la produzione di citochine, e quindi l'attività del sonno; Interleuchina 1-beta e tumor necrosis factor alpha influenzano l'attività di diverse aree del SNC, modificando l'attività del sonno. I meccanismi omeostatici sono importantissimi non solo per spegnere l'attività immunitaria, ma anche per ristabilire la naturale fluttuazione nella produzione giornaliera di citochine ed i corretti ritmi sonno-veglia.	/

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
8	Descrivere le evidenze ritenute alla base dei sintomi dell'alterata cronobiologia nella fibromialgia e nella CFS (chronic fatigue syndrome)	/	/	Citochine quali l'Interleuchina-6, ed il TNF-alpha, che sono presenti sia a livello periferico sia nel SNC, rappresentano un sistema di relazione tra attivazione della risposta immunitaria e alterazione di comportamenti mediati dal SNC, come il sonno, la sonnolenza ed il senso di affaticamento.	/

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
9	Descrivere l'associazione tra disturbi del sonno, andamento delle principali patologie reumatiche, depressione, deprivazione del sonno e attività delle citochine.	/	/	I disturbi del sonno giocano un ruolo importante nelle principali patologie reumatiche; la patofisiologia alla base dell'associazione tra tali disturbi e le suddette patologie non è ancora del tutto chiara.	/
10	Revisionare la letteratura per indagare l’alterato ritmo circadiano di melatonina, serotonina, citochine e cortisolo nei pazienti affetti da FM, e valutare come si correli coi sintomi lamentati.	/	/	I soggetti fibromialgici hanno una secrezione inferiore di melatonina ed elevati livelli di cortisolo nelle ore serali. Alterati livelli di citochine circolanti sono stati dimostrati nella FM.	

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
11	Revisionare la letteratura per indagare l'alterato ritmo circadiano di melatonina, serotonina, citochine e cortisolo nei pazienti affetti da FM, e valutare come si correli coi sintomi lamentati.	/	/	I soggetti fibromialgici hanno una secrezione inferiore di melatonina ed elevati livelli di cortisolo nelle ore serali. Alterati livelli di citochine circolanti sono stati dimostrati nella FM.	/

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
12	Descrivere le evidenze ritenute alla base dei sintomi dell'alterata cronobiologia nella fibromialgia e nella CFS (chronic fatigue syndrome)	/	/	Gli studi che permettono di fare ipotesi sulla causa dell'alterata cronobiologia sono: -studi che correlano alterazioni del sonno con FM e CFS; - studi che individuano una connessione tra interleuchina-1, sistema neuro-immuno-endocrino e ciclo sonno-veglia; - studi che individuano un'alterazione del sistema neuro-immuno-endocrino nei pazienti affetti da FM.	/

N°	Obbiettivi	Soggetti	Misure di outcome	Risultati	Limiti dello studio
13	Descrivere la correlazione tra attivazione del sistema immunitario ed alterazioni del ritmo sonno-veglia	/	/	E' ipotizzabile che i mediatori della risposta immunitaria, in particolare citochine quali l'interleuchina-1, siano coinvolti nella regolazione del ciclo di sonno-veglia; allo stesso tempo il sonno, in particolare la fase non-REM, sembra avere funzione di supporto immunitario.	/

Discussione

Citochine e sonno in situazioni fisiologiche

Le citochine sono tradizionalmente suddivise in pro-infiammatorie ed anti-infiammatorie;
le principali citochine pro-infiammatorie sono: IL-1a, IL-1beta, IL-2, IL-6, TNF-alpha;
le principali citochine anti-infiammatorie sono: IL-4, IL-10 ed IL13 [2]

Il sonno è definito come uno "stato prontamente reversibile di ridotta attività ed interazione con l'ambiente circostante". Si distinguono fasi non REM (NREM) e fasi REM del sonno: la fase NREM è divisa in 4 stadi diversi, che si distinguono ciascuno per valori EEG, elettromiografici ed elettroculografici differenti. Gli stadi 3 e 4 del sonno sono definiti come sonno ad onde lente (SWS), o sonno profondo, caratterizzato da onde delta all'EEG.
Dopo l'addormentamento un soggetto passa dallo stadio 1 allo stadio 4 di sonno NREM, per tornare poi allo stadio 3 o 2; tra i 70 ed i 90 minuti di sonno, poi, sopraggiunge la fase REM (Rapid Eye Movement), che dura circa 15 minuti.
Alla fine della prima fase REM si conclude il primo ciclo di sonno, che dura 80-100 minuti.
Nell'arco del periodo di sonno si susseguono diversi cicli, con graduale aumento di durata del sonno REM a discapito di quello NREM.

IL-1 ed IL-2 sono considerate le principali citochine sonnogeniche [10]: i livelli di IL-1 sono maggiori durante il SWS, all'inizio del quale ha il suo picco plasmatico [9]. I livelli di IL-2 aumentano subito dopo il picco di IL-1, e sono correlati a fasi NREM del sonno [12]. Anche i livelli di IL-1beta, principale recettore per IL-1 nel plasma, aumentano durante il sonno.
IL-1 aumenta il SWS e riduce la fase REM.[9], è controllata da un sistema a feedback negativo, tramite Corticotropin releasing hormone (CRH) e glucocorticoidi [12].
Quando, per svariati motivi, IL-1 è inibita, SWS e sonnolenza diminuiscono. [9]
Le concentrazioni di IL-1ed IL-1 beta, comunque, aumentano in situazioni di restrizione del sonno [9].

TNF-alpha è una delle principali citochine pro-infiammatorie: induce fatica e sonnolenza [10]. Ha un'azione che sembra essere simile a quella di IL-1 [9] e, come IL-1, promuove SWS [12]
Come IL-1 ed IL-6, anche TNF ha il picco plasmatico durante il sonno [9] e la sua concentrazione aumenta in situazioni di restrizione del sonno [9].

Per quanto riguarda IL-6: nei soggetti sani è secreta in un pattern circadiano bifasico, ha un picco 2.5 ore dopo l'inizio del sonno, aumenta durante le fasi 1 e 2 non REM, decresce durante

SWS e aumenta di nuovo durante la fase REM [10].

IL-6 è un mediatore della sonnolenza [11]: la sua concentrazione, infatti, è fortemente correlata con il senso di stanchezza.

Alte concentrazioni di IL-6 si trovano in soggetti con elevata sonnolenza durante le ore diurne, basse concentrazioni, invece, sono correlate con senso di riposatezza [9].

Allo stesso modo, nei sani, i livelli di IL-6 al mattino si correlano con una migliore qualità del sonno, mentre elevati livelli di IL-6 al risveglio sono stati associati ad una peggior qualità.

IL-6, comunque, non ha evidenze conclusive per essere considerato un sonnogenico al pari di IL-1 ed IL-2 [9].

IL-10 è una citochina anti-infiammatoria, sembra essere coinvolta nella regolazione dei processi del sonno, ma il suo ruolo non è chiaro; non ha comunque evidenza certa di essere un sonnogenico [9].

Nei sani c'è correlazione tra i burst di IL-10 ed i burst di IL-6 ed altre citochine pro-infiammatorie [3], mentre tale correlazione sembra mancare nei pazienti affetti da fibromialgia.

Interazione tra sonno, sistema immunitario e sistema di risposta allo stress

Esiste una relazione tra sistema immunitario e sonno, ma la natura di questa relazione non è molto chiara [9].

Di sicuro in condizioni di malattia si hanno alterazioni del sonno, infatti l'attivazione del sistema immunitario influenza i pattern di sonno [9].

L'attività delle cellule NK è associata in modo statisticamente significativo con l'efficienza del sonno (ore di sonno/ore nel letto) in un gruppo di soggetti sani (r2 0.138) [8].

Un modo in cui il sonno potrebbe influire sul sistema immunitario è attraverso la sua influenza sugli stress pathways [9]: asse ipotalamo-ipofisario (HPA) e sistema nervoso simpatico.

Storicamente le infezioni, e quindi l'attività del sistema immunitario, sono associate a maggiore sonnolenza.

Attraverso l'attivazione di macrofagi, infatti, trigger esogeni inducono il rilascio di una moltitudine di mediatori, tra cui diverse citochine: IL-1, IL-1 receptor antagonist (IL-1ra), TNF-alpha, IL-6, IL-8 ed IL-10.

Le citochine, a loro volta inducono la produzione ed il rilascio di prostaglandine e neurormoni come il cortisolo ed il GH, che hanno anch'essi un ruolo nella regolazione del sonno [13].

La quantità di sonno NREM durante le infezioni rimane la stessa o decresce.

La risposta del sonno, comunque, differisce molto tra specie testate e malattie inoculate [9].

In uno studio del 1968 svolto da Karacan et al. e riportato da Pollmacher [13], 11 soggetti sani sono stati inoculati con endotossina per valutare gli effetti dell'attivazione del sistema immunitario sul sonno: è stato registrato un aumento del numero di risvegli, una soppressione del sonno REM ed una diminuzione della fase 4 del sonno.

Lo stesso Pollmacher nel 1993 ha pubblicato uno studio simile a quello di Karacan [13]: svolto su 15 soggetti sani inoculati con endotossina, ha evidenziato un aumento nel sonno NREM ed una diminuzione della percentuale di sonno REM nella prima metà del periodo di sonno. I soggetti hanno passato significativamente meno tempo svegli, ma lo SWS non è stato influenzato.

Riassumendo, si può affermare che l'effetto più consistente dell'attivazione del sistema immunitario in ambito controllato (tramite endotossina incoulata) sia una riduzione temporanea del sonno REM.
Il sonno NREM, in particolare nella fase 2 del sonno, sembra essere promosso dalla somministrazione serale di endotossina, ma non dalla somministrazione in altre ore del giorno [13]

Il sonno fisiologico inibisce la secrezione di cortisolo da parte dell'asse ipotalamo-ipofisario, e, allo stesso tempo, CRH (corticotropin releasing hormone) ha forte potere di indurre uno stato di veglia [9].
I livelli di cortisolo nel plasma sono fortemente associati col sonno leggero o con difficoltà del sonno. Una deprivazione del sonno REM, inoltre, sembra indurre stress, e, di risultato, sembra risultare in immuno-depressione [9].

Per quanto riguarda l'interazione tra sonno e sistema nervoso simpatico, i livelli misurati di catecolamine, norepinefrina ed epinefrina sembrano indicare correlazione tra SNS e sonno, ma la natura di tale relazione è poco chiara.
Una bassa attività di SNS equivale ad una maggiore quantità di SWS: è molto probabile, quindi, che il sonno influenzi il SNS e di riflesso il sistema immunitario [9]

Restrizione del sonno

In uno studio di Haack del 2007 [5], 18 volontari sono stati divisi in 2 gruppi (8h di sonno/4h di sonno per 12 giorni). Lo studio presenta una buona qualità metodologica: sono descritti nel dettaglio materiali e metodi, sono state escluse dai criteri di inclusione molte coovariabili possibili fonti di bais, altre coovariabili potenzialmente presenti sono state analizzate e non sono risultate essere associate a nessuno dei due gruppi.
I partecipanti hanno registrato i cambiamenti nel dolore percepito e nell'umore, sono stati sottoposti

ad esami ematici e ad esami delle urine.
C'è stato un aumento medio di IL-6 nel gruppo 4h (p 0.15) ed una diminuzione media di IL-6 nel gruppo 8h (p 0.16).
I cambiamenti del TNF-alpha non hanno mostrato correlazione con uno dei due gruppi.

La riduzione del sonno in pazienti adulti e sani sembra diminuire la popolazione di cellule linfociti NK, abbassare la produzione di IL-2, aumentare i livelli di TNF-alpha ed IL-6 (citochine pro-infiammatorie) al risveglio [10].

Sonnolenza ed affaticamento nei pazienti affetti da insonnia sembrano essere correlate ad alterazioni del ciclo circadiano di IL-6 e TNF-alpha, per cui i livelli della prima citochina sono troppo elevati di notte, e i livelli della seconda sono troppo elevati di giorno [10].

Deprivazione del sonno per brevi periodi sembra diminuire l'efficacia ed il numero di NKC, ma, se protratta per lunghi periodi, sembra aumentare il numero e l'efficacia di NKC [9].
La deprivazione del sonno non sembra aumentare la secrezione del cortisolo o l'attività HPA, ma una deprivazione selettiva del sonno REM sembra indurre stress, e, di risultato, sembra risultare in immuno-depressione.

Sonno e citochine in pazienti fibromialgici

Nonostante non ci sia accordo sull'eziologia della fibromialgia, una delle teorie più accreditate è che le citochine giochino un ruolo fondamentale nella patogenesi dei sintomi e della loro intensità. Si ipotizza che vi sia un alterato funzionamento dell'asse ipotalamo-ipofisario causato da, o associato ad, una imbalance nei livelli di citochine (Abeles et al. 2007; Mease et al. 2007).

In uno studio del 1991 Hader ha evidenziato come la produzione di IL-2 da parte dei linfociti T (stimolati con ConA) sia statisticamente inferiore nei pazienti affetti da FM rispetto che al controllo [2].

Wallace nel 1998 conclude che non ci sia differenza statisticamente significativa per quanto riguarda la produzione di citochine nei pazienti affetti da FM, tuttavia i pazienti presentano una risposta aumentata da parte dei linfociti alla stimolazione con PHA e ConA rispetto ai controlli [2].
In uno studio successivo (2001), sempre Wallace evidenzia come i pazienti fibromialgici presentino livelli nel siero più elevati di IL-1Ra (IL-1 receptor-antagonist) (p 0.002) ed IL-8 (p 0.01) ed una produzione di IL-6 aumentata (utilizzando una stimolazione diversa dei linfociti rispetto a quella usata nel 1998).
Wallace propone la teoria secondo cui IL-1Ra sia sovraprodotta per compensare l'eccesso delle pro-

infiammatorie IL-6 ed IL-8.
La qualità dello studio è però non eccelsa: innanzitutto il precedente studio di Wallace non aveva trovato differenze statisticamente significative, in secondo luogo il campione utilizzato è piccolo, le analisi statistiche sui livelli di citochine sono statisticamente significative solo in relazione alla durata dei sintomi dei pz (più o meno di 2 anni di malattia), le analisi di laboratorio utilizzate sono piuttosto macchinose.

Nakamura (2010) preleva campioni ematici in soggetti sani e soggetti fibromialgici e con sindrome da fatica cronica (CFS) durante il sonno [6]; poiché non esiste un gold standard per l'analisi della quantità di citochine nel sangue, sono stati utilizzati tre metodi diversi. Non è stata rilevata nessuna correlazione tra i livelli di citochine misurati con le tre diverse metodologie, ossia ogni sistema di rilevazione è indipendente dall'altro.
L'analisi con metodo Luminex ha rilevato livelli statisticamente più alti di IL-10 nei pazienti con CFS senza FM ed una riduzione (non statisticamente significativa) dei livelli di IL-1beta nei pazienti con CFS e FM. I risultati di questo studio sembrano avvalorare l'ipotesi di Togo [3], per cui i livelli di citochine anti-infiammatorie sono aumentati in pazienti con disturbi dolorosi cronici. Tuttavia livelli statisticamente più alti di IL-10 sono stati identificati solo in pazienti con CFS senza FM, mentre i pazienti fibromialgici hanno riportato valori simili a quelli dei controlli.

Nei pazienti con FM sembra esserci un'alterata funzione dell'asse ipotalamo-ipofisario, con conseguente moderata ipocortisolemia. Sono stati riportati cambiamenti nel normale ciclo fisiologico diurno del cortisolo [10], con livelli sierici più elevati alla sera [11], quando il cortisolo nel sangue dovrebbe essere a bassi livelli.
Donne con FM, inoltre, hanno mostrato una ritardata risposta da parte dell'ACTH in seguito a somministrazione di IL-6 [11].

E' stata suggerita una correlazione tra bassi livelli di serotonina e disturbi nel sonno in pazienti affetti da FM; a riprova di ciò, nei pz affetti da FM si è ritrovata una minor quantità di triptofano (un precursore della serotonina) nel liquido cefalorachidiano [10].

In uno studio del 2007 (Hesse-Husain) [2] sono stati misurati i livelli di citochine e la qualità del sonno in pazienti affetti da FM; i livelli di citochine sono stati misurati prima e dopo la somministrazione di un test di stress psico-sociale (Trier Social stress test).
I pazienti con FM hanno dimostrato un aumento di produzione di IL-2 (p 0.045) ed una diminuzione non statisticamente significativa di produzione di IL-4 (p 0.06).

In un'analisi per sottogruppi, inoltre, i pazienti con disturbi della qualità del sonno hanno dimostrato avere livelli statisticamente più alti di IL-2 (p 0.05).

Lo studio di Togo [3] ha comparato il pattern di secrezione delle citochine in donne sane ed in donne affette da FM nelle 24 ore. Tale studio è praticolarmente interessante sia perché ha valutato i livelli di citochine ogni 20 minuti per 24 ore, sia perché sono stati identificati i burst secretivi delle citochine statisticamente significativi. Inoltre, è stata valutata la correlazione esistente tra burst di citochine anti-infiammatorie e burst di citochine pro-infiammatore.
La concentrazione media di IL-10 durante il sonno è più alta nei pz. FM che nei controlli ($p<0.05$), e più alta durante il sonno che durante la veglia nei pazienti FM ($p<0.05$). Non ha evidenziato differenze statisticamente significative circa i livelli delle altre citochine. Il principale limite dello studio sta nel limitato numero di partecipanti.

Per quanto riguarda la correlazione tra secrezione di citochine pro ed anti-infiammatorie:
- nei sani c'è correlazione tra burst di IL-10 e di IL-6 e citochine pro-infiammatorie
- nei pazienti affetti da FM per IL-6 non c'è correlazione positiva con IL-10, ma per le altre citochine si.

La mancata correlazione tra IL-6 ed IL-10 potrebbe indicare un imbalance tra livelli di citochine pro-infiammatorie e livelli di citochine anti-infiammatorie a favore di queste ultime.

Più del 75% dei pazienti con FM e CFS soffrono di disturbi del sonno.
Il sonno è descritto come leggero, non riposante ed accompagnato da rigidità o dolorabilità generalizzata al risveglio [12].
I pazienti affetti da fibromialgia presentano sonnolenza durante il giorno, insonnia, sindrome delle gambe senza riposo. La polisonnografia rivela una ridotta efficienza del sonno ed una ridotta percentuale di SWS, un aumento dello stadio 1 del sonno, un aumento delle onde alpha durante il sonno (5).

Nello studio di Landis del 2003 [8], un gruppo di donne con FM ha riportato una peggiore qualità del sonno, con sensazione di stanchezza al risveglio significativamente più alta rispetto ai controlli (p 0.0001), ha impiegato più tempo per addormentarsi (p 0.006), ha dimostrato una più bassa percentuale di fase 2 NREM del sonno (p 0.004), ed una minore efficienza del sonno (p 0.03).
Lo studio sembra essere di buona qualità metodologica: descrive dettagliatamente materiali e metodi, compresi i criteri d'inclusione e di esclusione dei partecipanti, ed utilizza molte misure di outcome, in modo da valutare sia la qualità oggettiva che quella soggettiva del sonno, oltre che diversi altri parametri fisiologici.

Moldofsky ha condotto diversi studi riguardo l'interazione tra sonno e sindrome fibromialgica: nel 1975 evidenzia come nei pazienti affetti da FM vi sia un'alterazione del sonno NREM, caratterizzato da onde alpha all'EEG, che si considera essere correlato con sonno non riposante, diffusa mialgia e diffuse aree di tenderness. Tale alterazione del sonno, definita sonno alpha, non è un marker specifico per FM, ma è marker specifico di *unrefreshing sleep* [12].

L'aumento di onde alpha in fase NREM può essere ottenuto anche in soggetti sani con l'inoculazione di endotossine batteriche [13].

Nel 1986 Moldofsky mette in luce come oltre a presentare un sonno di tipo alpha, i soggetti con FM presentano una frammentazione del sonno causata da movimenti periodici degli arti e apnee notturne.

I pazienti fibromialgici hanno una variabilità della frequenza cardiaca notturna inferiore rispetto ai controlli (p 0.001 / p 0.006 a seconda del parametro misurato) [7].
Sono state evidenziate diverse associazioni statisticamente significative tra parametri della HRV notturna e sintomi fibromialgici: dolore, costipazione e depressione [7].

Nei pazienti sani, tuttavia, si è individuata una correlazione tra valori di HRV che suggeriscono un'aumentata attività parasimpatica e peggiori punteggi al FIQ (Fibromyalgia Impact Questionnaire).
Un'ipotesi è che i soggetti sani abbiano un tono simpatico basale inferiore, e quindi i sintomi FIQ siano dovuti ad una mancanza di attività del simpatico.
Esattamente il contrario avverrebbe nei pazienti affetti da FM, dove l'attività del simpatico è aumentata a livello basale e ulteriore attività simpatica causa i sintomi fibromialgici [7].

Nella FM è stata documentata una ridotta concentrazione plasmatica di GH e prolattina, ormoni considerati importanti per la corretta funzione del sistema immunitario [8].

Diversi studi recenti hanno valutato i cambiamenti nel numero di linfociti e di *activation markers* nei pazienti con FM, ma i risultati sono inconsistenti.

Nello studio di Landis [8] le donne con FM hanno presentato, in media, una più bassa attività NK, ma non in modo statisticamente significativo. L'attività delle cellule NK si è rivelata associata in modo statisticamente significativo con l'efficienza del sonno (ore di sonno/ore nel letto) solo nel gruppo controllo (r2 0.138), ma non nel gruppo FM (r2 0.026).

Sonno e citochine nei pazienti con CLBP

Lo studio di Heffner del 2011 [4] ha investigato la correlazione esistente tra disturbi del sonno e livelli di IL-6 in pazienti con CLBP ed in pazienti sani. Questo è l'unico studio che valuta la correlazione esistente tra qualità del sonno e livelli di IL-6 nei pazienti affetti da Chronic Low Back Pain. Il principale limite di questo studio sta nel fatto che non sono stati analizzati i livelli circolanti delle altre citochine, oltre ad IL-6. Alla luce di quanto riportato dallo studio di Togo [3], infatti, sembra chiaro che la correlazione tra sonno e dolore non sia dovuta ad un semplice eccesso di citochine pro-infiammatorie, ma che anche altre citochine giochino un ruolo fondamentale.

E' stata usata la Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) riferita al mese precedente (time 1) e dopo una notte di sonno (time 2).
Il cut-off per definire la presenza di disturbi del sonno è stato stabilito ad un punteggio al PSQI maggiore di 6.

Al Time 1 il gruppo CLBP aveva un punteggio globale al PSQI maggiore ed una proporzione più grande di individui con punteggio al PSQI maggiore di 6 (p-value 0.04); questo indica che la differenza al PSQI è significativa non solo statisticamente, ma anche clinicamente.

Le singole componenti del PSQI hanno indicato che il gruppo CLBP ha avuto più disturbi del sonno, più disagio durante la giornata, una più bassa efficienza del sonno rispetto al gruppo controllo

Al Time 2 i risultati tra i due gruppi si sono dimostrati simili al Time 1

Non è stata trovata differenza tra i due gruppi nella quantità di IL-6 circolante (p-value 0.67), tuttavia nel gruppo CLBP una peggiore qualità del sonno è associata a più alti livelli di IL-6 (p-value Time 1 0.05; p-value Time 2 0.008), mentre nel gruppo controllo i livelli di IL-6 non sono associati con punteggio PSQI (p-value 0.39).

Considerando entrambi i gruppi, gli individui con peggiore qualità del sonno (36% dei partecipanti con punteggio PSQI inferiore a 6; 72.2% dei quali affetti da CLBP) hanno dimostrato valori di IL-6 più alti rispetto a chi ha avuto una buona qualità del sonno (p-value 0.04).

Per quanto riguarda il dolore percepito, è stato utilizzato il McGill Pain Questionnaire Short Form (MPQ-SF). Questi i risultati chiave della ricerca:
- il punteggio globale PSQI al Time 1 è fortemente associato con il punteggio MPQ-SF compilato al mattino, includendo il punteggio globale (p-value 0.01), ed un maggior dolore sensoriale (p-value 0.03) ed emotivo (p-value 0.004).

- il punteggio globale PSQI al Time 2 è associato con un maggior punteggio al dolore emotivo al MPQ-SF (p-value 0.02)
- livelli più alti di IL-6 sono associati con più alti punteggi di dolore emotivo al MPQ-SF (p-value 0.02).

Conclusione

Le citochine giocano un ruolo fondamentale nella mediazione tra condizioni dolorose e disturbi del sonno, anche se non è ancora del tutto chiaro quale sia il pattern di disregolazione implicato.

La restrizione del sonno induce aumento di IL-6 e TNF-alpha, citochine pro-infiammatorie. Alterazioni del pattern di secrezione di tali citochine, per di più, sono associate a sonnolenza ed affaticamento [4] [5].

D'altro canto, però, sembra che nei pazienti fibromialgici non vi sia correlazione tra burst di IL-10 e burst di IL-6, con conseguente imbalance a favore dell'anti-infiammatoria IL-10 [3]
Proprio il mancato equilibrio nella secrezione di citochine pro-infiammatorie ed anti-infiammatorie potrebbe costituire una delle cause che scatenano i sintomi algici e di alterazione del sonno. Lo studio di Togo [3] sembra avvalorare questa ipotesi.

Nakamura [6] identifica aumentati livelli di IL-10 nei pazienti con sindrome da fatica cronica senza FM; nonostante tale aumento non si sia presentato anche nei pazienti con CFS e FM, si pone comunque in linea con i risultati di Togo.

Per quanto riguarda i livelli di IL-1 e IL-2, principali sonnogenici, sembra che aumentino in situazioni di restrizione del sonno [9]
Per quanto riguarda la loro modificazione in situazioni patologiche, però, non c'è grande consistenza in letteratura.

Sicuramente il sonno si relaziona con il sistema immunitario e con il sistema di risposta allo stress, grazie alla connessione con sistema nervoso simpatico ed asse ipotalamo-ipofisario.
Il sonno fisiologico inibisce la produzione di cortisolo, mentre una maggiore quantità di sonno ad onde lente è associata a bassa attività da parte del sistema nervoso simpatico.
L'attività delle cellule NK, inoltre, sembra essere associata in modo significativo con l'efficienza del sonno [8].

Il sonno nei pazienti fibromialgici sembra presentare una minore durata dello stadio 2, una ridotta percentuale di SWS, presenza di onde alpha durante la fase NREM.

Queste alterazioni sembrano, in effetti, correlare sia con alterazioni dell'attività delle citochine, sia con alterazioni del sistema nervoso autonomo [12].

In conclusione, si può affermare che alterazioni del pattern secretivo delle citochine siano alla base della correlazione tra sonno e dolore cronico, proprio per via del fatto che moltissimi sistemi, tra cui sistema immunitario e sistema nervoso, le utilizzano come mediatori.
Sembrano esserci evidenze che nei pazienti con fibromialgia vi sia un imbalance tra citochine pro-infiammatorie ed anti-infiammatorie, in favore di queste ultime. In particolare, è stata dimostrata una mancata correlazione tra burst secretivi di IL-10 e burst di IL-6

Sono necessari ulteriori ricerche che indaghino la presenza di mancata correlazione anche con altre citochine, come TNF-alpha e, soprattutto, le sonnogeniche IL-1 ed IL-2. Inoltre lavori futuri dovrebbero indagare la presenza di un simile imbalance anche in altre condizioni caratterizzate da dolore muscoloscheletrico cronico.

Bibliografia

1. Mullington, J.M., *Mediators of inflammation and their interaction with sleep; relevance for chronic fatigue syndrome and related conditions.* Annals of the NY accademy of Sciences, 2001. **933**: p. 201-210.
2. Menzies, V., *Integrated review of the association of cytokine with fibromyalgia and fibromyalgia core symptoms.* Biological Research in Nursing, 2010. **11**(4).
3. F., T., *Plasma cytokine fluctuations over time in healthy controls and patients with fibromyalgia.* Experimental Biology and Medicine, 2009. **23'4**(232-240).
4. Heffner, K.L., *Chronic Low back pain, Sleep disturbances and interleukine-6,* in *Clinical Journal of Pain*2011. p. 35-41.
5. Haack, M., *Elevated Inflammatory Markers in Response to Prolonged Sleep Restriction Are Associated With Increased Pain Experience in Healthy Volunteers.* Sleep, 2007. **30**(9): p. 1145-1152.
6. Nakamura, T., *Cytokine across the night in chronic fatigue syndrome with and without fibromyalgia.* Clinical and Vaccine immunology, 2010. **17**(4): p. 582-587.
7. Lerma, C., *Nocturnal heart rate variability parameters as potential fibromyalgia biomarker: correlation with symptoms severity.* Arthritis research and therapy, 2010. **13**.
8. Landis, C.A., *Pain, psychological variables, sleep qualities and natural killer cells activity in midlife women with and without fibromyalgia.* Brain, Behavior and Immunity, 2004. **18**: p. 304-313.
9. Lorton, D., *Bidirectional comunication between the brain and immune system: implication for physiological sleep and disorders with disrupted sleep.* Neuroimmunomodulation, 2006. **13**: p. 357-374.
10. Abad, V.C., *Sleep and rheumatologic disorders.* Sleep Medicine Reviews, 2008. **12**: p. 211-228.
11. Mahdi, A.A., *Abnormality of circadian rhythm of serum melatonin and other serum biochemical parameters in fibromyalgia syndrome.* Indian Journal of biochemistry and biophysics, 2011. **48**: p. 82-87.
12. Moldofsky, H., *Sleep, neuroimmune and neuroendocrine function in fibromyalgia and chronic fatigue syndrome.* Advances in Neuroimmunology, 1995. **5**: p. 39-56.
13. Pollmacher, T., *Influence of host defence activation on sleep in humans.* Advances in Neuroimmunology, 1995. **5**: p. 155-169.