

Journal of FOOD ALLERGY

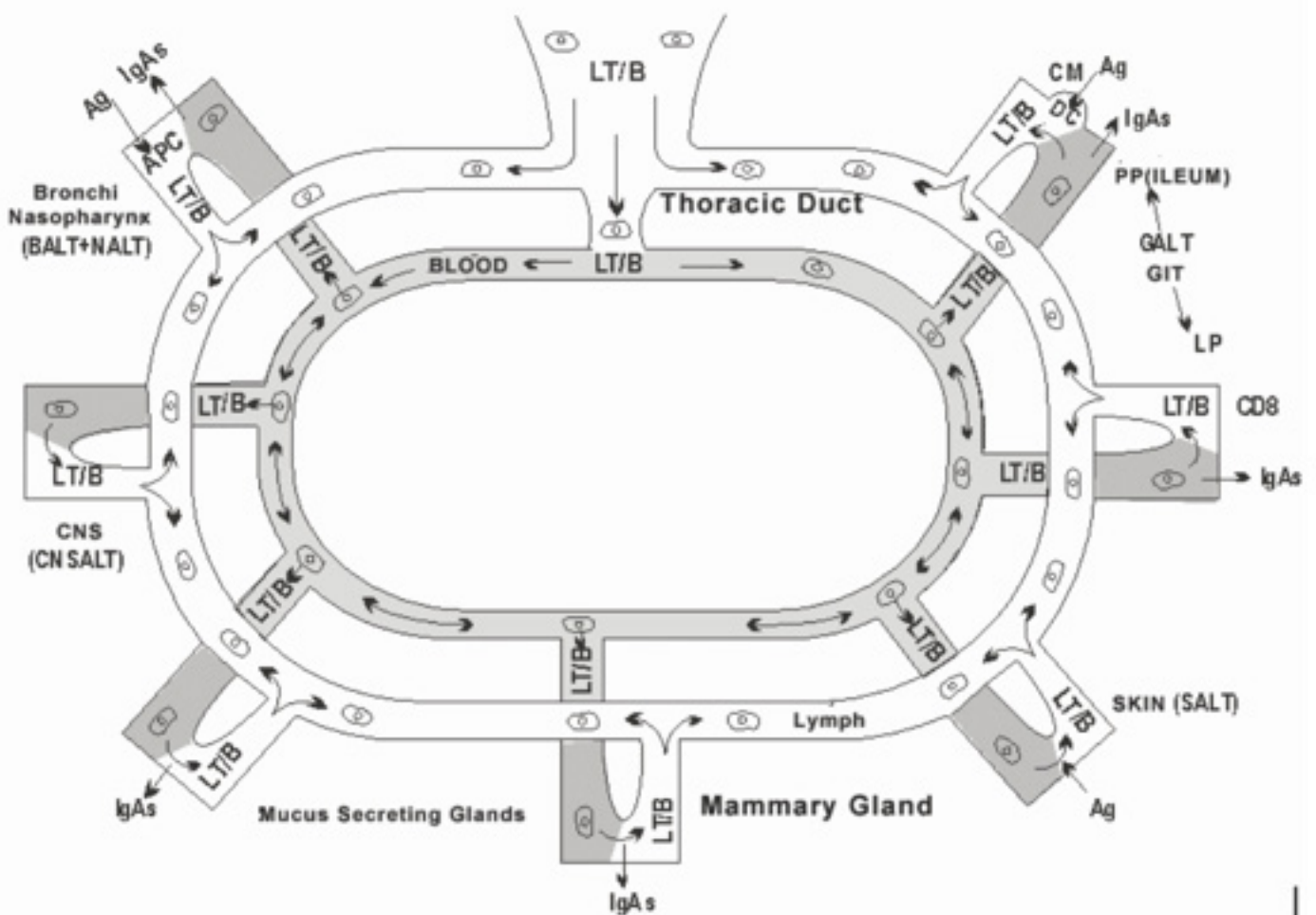
Official Journal of the Brazilian Society of Food Allergy

Printed Version ISSN 2238-0752

Journal of Food Allergy - Setembro 2018 - Volume 7 - Número 3

BASES FISIOFARMACOLÓGICAS DOS DISTURBIOS GASTROINTESTINAIS FUNCIONAIS

ADERBAL SABRÁ



EDITORIAL

Revista Oficial da Sociedade Brasileira de Alergia Alimentar - SBAA

EDITOR-CHEFE

Prof. Dr. Aderbal Sabrá
Universidade Unigrario, Rio de Janeiro, Brasil

EDITORES CONSULTORES

Katie Allen
University of Melbourne, Melbourne, Australia

Jaime Ramirez Mayans
Instituto Nacional de Pediatría, S.S, Mexico

Joseph A. Bellanti
Georgetown University Medical Center, USA

Jorge Amil Dias
Centro Hospitalar S. Joao, Portugal

Jorge Kalil
School of Medicine USP and
Instituto Butantan, São Paulo, Brazil

Giuseppe Iacono
Di Cristina Hospital, Italy

Glenn Furuta
Univ. of Colorado Denver School of Medicine,
USA

Olivier Goulet
University of Paris 5 René Descartes, Paris, France

John Walker-Smith
Emeritus Prof of Paediatric Gastroenterology
University of London, Londo, United Kingdom

Marcello Barcinski
FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil

Mauro Batista Morais
Paulista School of Medicine, Sao Paulo, Brazil

Simon Murch
Warwick Medical School, United Kingdom

Annamaria Staiano
University of Naples, Federico II, Italy

Maria Del Carmen Toca
University of Buenos Aires, Argentina

Neil Shah
Great Ormond Street Hospital
Institute of Child Health
University College London, United Kingdom

Harland Winter
Harvard Medical School, USA

Journal of Food Allergy
Address: Visconde de Piraja, 330 / 311, 22410-001, Rio de Janeiro, Brazil
Telephone: + 55 21 2513-2161
E-mail: contact@journaloffoodallergy.com
Website: www.journaloffoodallergy.com

CONTEÚDO

ABSTRACT	063
BASES FISIOFARMACOLÓGICAS DOS DISTURBIOS GASTROINTESTINAIS FUNCIONAIS	064

ABSTRACT

Neste volume 7 número 4 fizemos uma síntese do que foi o ROMA IV, com foco na interação cérebro-intestinos.

Um tema fascinante e sempre muito negligenciado pelos gastroenterologistas de adultos, que nomeavam como “Síndrome do Cólon Irritável” (SCI) ou “Síndrome dos Intestinos Irritados (SII), a toda e qualquer entidade clínica, sem diagnóstico, que apresentassem diarreia e constipação, de longa duração e que não respondiam aos tratamentos convencionais.

Dentro destas falsas entidades (SCI ou SII) sempre reconhecíamos e diagnosticávamos pacientes com alergia alimentar do tipo colite alérgica ou procto-colite alérgica. Fazíamos o tratamento e curávamos os pacientes.

Surge finalmente uma luz no fim do túnel no ROMA IV. Pela primeira vez é colocada de forma racional e com bases fisiopatológicas as “desordens funcionais dos intestinos” ou “functional gastrointestinal disorders” (FGID), embora ainda se desconheça na gastroenterologia dos adultos o papel da alergia alimentar nestas patologias. Como fica patente no ROMA IV, estas doenças são diagnosticadas apenas pelos seus sinais e sintomas, sendo logo informado na introdução do tema que existe uma total ausência de entendimento de seu mecanismo.

Pasmem meus colegas estudiosos, como ainda o ROMA IV passa longe da Alergia Alimentar, como causa de parte destas doenças estudadas como FGID. Cabe realçar entretanto que no ROMA IV merece destaque o parte que relaciona o Sistema Nervoso Entérico com o Sistema Nervoso Central. A seguir apresentamos uma síntese do ROMA IV com ênfase na “Brain-Gut Connection”.

Original Article

BASES FISIOFARMACOLÓGICAS DOS DISTÚRBIOS
GASTROINTESTINAIS FUNCIONAIS

Author: Aderbal Sabrá

Os distúrbios gastrointestinais funcionais (DGIF) ocorrem por alteração da interação intestino-cérebro. São um grupo de distúrbios classificados por sintomas gastrointestinais relacionados a qualquer combinação das seguintes alterações: distúrbio da motilidade, hipersensibilidade visceral, função digestora alterada da mucosa, função imunológica alterada, microbiota intestinal alterada e processamento alterado da relação do sistema nervoso entérico (SNE) e o sistema nervoso central (SNC). As vias de comunicação bidirecionais entre o intestino e o cérebro, envolvidas na patogênese dos DGIFs, são coletivamente conhecidas como eixo intestino-cérebro.

Os principais sintomas descritos pelos pacientes com DGIFs incluem dor abdominal, dispepsia, regurgitação, inchaço, constipação, diarreia, incontinência, problemas no trânsito intestinal de alimentos ou fezes ou qualquer combinação desses sintomas. As doenças mais comumente associadas à DGIF incluem a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), a disfagia funcional, a dispepsia funcional, a gastroparesia, a constipação funcional, a diarreia e a incontinência fecal e principalmente a síndrome do intestino irritável (SII)

Está bem estabelecido que um grupo importante de pacientes com DGIFs, juntamente com sintomas relacionados ao trato gastrointestinal, apresentam sintomas psicossociais coexistentes, como estresse, ansiedade e depressão, tratados a parte como um modelo biopsicossocial frequente.

PARTE 1: Bases fisiopatológicas do DGIF**Dor abdominal: as vias de conexão Intestino-Cérebro**

As fibras aferentes do cólon e do reto podem conver-

gir com fibras de outros órgãos pélvicos, contribuindo para a sensibilização entre órgãos da cavidade abdominal, da bexiga e dos órgãos reprodutivos, o que muitas vezes complica o diagnóstico clínico de dor pélvica. A baixa densidade de inervação, a convergência com os insumos somáticos e a convergência viscerovisceral na medula espinhal podem explicar por que a dor intestinal geralmente está mal localizada.

O estiramento ou distensão é eficaz para estimular as terminações nas camadas musculares, gânglios e serosas. Diferentes populações de nervos aferentes respondem a uma faixa diferenciada de volumes de distensão, indo de níveis inócuos (fisiológicos) a níveis nocivos que causam dor. Contrações poderosas, especialmente contra uma obstrução, causam tração no mesentério e são especialmente dolorosas. Em alguns casos, estímulos que normalmente são inócuos podem causar dor (alodinia), enquanto respostas dolorosas podem se tornar exageradas (hiperalgesia).

Uma percepção universal do sistema nervoso entérico (ENS) como um cérebro-no-intestino, implica que, semelhante ao cérebro e medula espinhal, o ENS é montado em uma hierarquia de organização neural.

Estresse

Embora a etiologia dos DGIFs seja desconhecida, existem evidências convincentes de que os estresses psicológicos e físicos desempenham um papel importante na sua gênese. É uma hipótese geralmente aceita que a disfunção da comunicação bidirecional entre o cérebro e o intestino, ocorre, em parte através da ativação do principal sistema de estresse neuroendócrino, ou seja, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), que desempenha um papel importante na sintomatologia

da Síndrome do Intestino Irritado (SII).

O eixo HHA é ativado pelo estresse, causando a liberação do fator liberador de corticotropina (CRF). O hormônio adrenocorticotrófico é então liberado da hipófise para a circulação sistêmica, causando a síntese e liberação do cortisol, glicocorticoide do córtex adrenal.

A amígdala do SNC é sensível aos corticosteroides e facilita respostas comportamentais, neuroendócrinas e autonômicas ao estresse. O equilíbrio alterado na modulação de estresse, induzida pela hiperatividade da amígdala, pode representar um aspecto essencial das alterações na função motora do trato gastro intestinal (TGI), na permeabilidade ao cólon e na sensibilidade colorretal, aparente na SII. Esses achados sugerem que, em pacientes com SII, expostos ao estresse crônico, o aumento da ativação da amígdala desregula o eixo HHA.

Avanços recentes na ciência básica da sinalização entre o cérebro (SNC) e os intestinos e a sinalização entre as células do sistema imune com o sistema nervoso entérico (ENS), introduziram novos “insights” sobre os mecanismos subjacentes aos efeitos do estresse psicológico no trato intestinal.

A Conexão Intestino-Cérebro: Neurônios Motores Entéricos

Os neurônios entéricos (ENS) são neurônios motores excitatórios ou inibitórios. Os neurônios motores excitatórios liberam neurotransmissores, que evocam a contração da musculatura e a secreção das glândulas mucosas. A acetilcolina e a substância P são os principais neurotransmissores excitatórios liberados nas junções neuromusculares para estimular a contração muscular. A acetilcolina, o polipeptídeo intestinal vaso-ativo e o ATP são neurotransmissores excitatórios responsáveis por evocar a secreção das glândulas intestinais.

Secreção Neurogênica: Diarreia e Constipação

A defecação desordenada na SII está relacionada diretamente à fisiologia dos neurônios secretomotores en-

téricos. Os neurônios secretomotores são neurônios motores excitatórios no plexo submucoso da ENS, que inervam e estimulam a secreção das criptas intestinais de Lieberkühn, as glândulas de Brunner e as células caliciformes.

O conhecimento da neurobiologia dos neurônios secretores-motores da submucosa é necessário para entender a fisiopatologia da diarreia secretória, bem como a constipação. Em geral, a hiperatividade secretomotora está associada à diarreia secretora neurogênica; a hipoatividade está associada à diminuição da secreção e ao estado constipado.

A supressão do disparo secretomotor por agentes antidiarreicos (por exemplo, opiáceos, clonidina e análogos de somatostatina) manifesta-se como fezes mais secas. A estimulação por mediadores químicos, como o peptídeo intestinal vasoativo (VIP), a serotonina e a histamina, é manifestada como fezes mais líquidas.

Dor Abdominal e Desconforto

Causas primárias de dor abdominal de origem do trato digestivo são distensão e contrações musculares excessivamente fortes. A hipersensibilidade dos mecanorreceptores sensoriais para estiramento (distensão) e força contrátil estão implicados como fatores de dor na SII. A hipersensibilidade à distensão está presente em um subconjunto substancial de pacientes com SII. A hipersensibilidade desta natureza à distensão não se restringe ao intestino distal. Os pacientes com diagnóstico de dispepsia funcional também apresentam mais desconforto e dor com volumes de distensão no estômago mais baixos do que indivíduos normais e a hipersensibilidade à distensão está presente no esôfago de pacientes com dor torácica não cardíaca.

SII pós-infecciosa

Uma porcentagem significativa de doentes desenvolve sintomas do tipo SII após uma crise aguda de enterite infecciosa. A hipocondria e os eventos adversos da vida durante o episódio infeccioso são relatados como o dobro do risco de desenvolvimento de SII pós-infecciosa.

No entanto, a questão de saber se a associação entre enterite infecciosa aguda e SII reflete a inflamação de

baixo nível (por exemplo, enterite microscópica) e a exposição crônica dos elementos neurais e gliais do ENS, a níveis elevados de serotonina, histamina ou outros mediadores inflamatórios, permanece ainda sem explicação satisfatória.

Paradigma neuro-imunofisiológico para sintomas semelhantes aos da SII

O sistema imunológico entérico humano é desenvolvido no nascimento e é colonizado por populações de células imunes / inflamatórias que mudam continuamente em resposta a condições luminais e estados fisiopatológicos durante toda a vida do indivíduo.

O sistema imunológico entérico está posicionado para fornecer segurança em uma das fronteiras mais contaminadas entre o meio interno do corpo humano e o mundo exterior (luz intestinal). Ele lida continuamente com antígenos bacterianos, alimentares, parasitas, vírus e toxinas, como eles aparecem no ambiente intra-luminal, caracteristicamente um meio quente-escuro-úmido-e-anaeróbico. O sistema é continuamente desafiado porque barreiras físicas e químicas, na interface epitelial, nunca excluem a totalidade da grande carga antigênica luminal.

Fontes de sinais imuno-neurais

As células linfóides e mieloides colonizam o trato gastrointestinal em números que flutuam continuamente com a alteração das condições luminais e estados fisiopatológicos. Os tipos celulares incluindo leucócitos polimorfonucleares, linfócitos, macrófagos, células dendríticas e mastócitos, estão presentes em números continuamente variáveis na mucosa intestinal, lâmina própria e músculo liso, e são fontes potenciais de sinais imuno-neurais.

Cada um desses tipos de células pode estar situado em estreita associação histo-anatômica com os elementos neuronais do ENS, fibras do nervo vago e nervos sensoriais da coluna vertebral.

A sinalização das células do sistema imune / inflamatório entérico para o ENS estabelece uma primeira li-

inha de defesa contra a invasão “non-self” na interface vulnerável de uma única barreira de células epiteliais entre o corpo e o ambiente externo.

Em estados inflamatórios, a estreita proximidade histo-anatômica de números elevados de linfócitos e leucócitos polimorfonucleares aos elementos do nervo entérico sugere que os mediadores inflamatórios liberados por essas células podem acessar e influenciar o SNE.

Estudos eletrofisiológicos em neurônios entéricos confirmam que mediadores inflamatórios liberados de forma parácrina alteram o comportamento elétrico e sináptico de neurônios entéricos.

Mastócitos entéricos

Os mastócitos entéricos contêm no seu interior, dentro de membrana, grânulos, que são uma ampla mistura de mediadores químicos pré-formados, atuando como uma célula especial de armazenamento. Os antígenos estimulam os mastócitos a liberar os mediadores, que então se difundem no espaço extracelular dentro do ENS.

Os mastócitos entéricos expressam receptores de alta afinidade para anticorpos IgE ou outras imunoglobulinas em suas superfícies. Um dilúvio de múltiplos mediadores é liberado dos mastócitos quando os anticorpos para um antígeno sensibilizador ocupam os receptores de imunoglobulina da superfície do macrófago. A interação do antígeno de sensibilização, com o seu anticorpo específico, ligado à membrana do mastócito, faz a sua degranulação, com a liberação da cascata de precipitação dos grânulos e libera a mistura de mediadores químicos pré-formados.

Os mastócitos e a conexão cérebro-intestino

Além de sua função sensitiva, os mastócitos entéricos fornecem um nó de conexão entre o SNC e o SNE. Esta é uma interação cérebro-intestino em que o estado psicológico central pode ser ligado a estados irritáveis do trato digestivo por meio de degranulação de mastócitos e liberação de mediadores. A degranula-

ção de mastócitos provocada pelo estresse psicológico ativa o “programa de defesa” do SNE para produzir os mesmos sintomas de diarreia e desconforto abdominal que a degranulação provocada pelo antígeno.

A ligação entre células do cérebro e mastócitos é significativa, porque se espera que os sintomas gastrointestinais associados à degranulação de mastócitos, sejam os mesmos, quer os mastócitos sejam degranulados por ligação cruzada de antígeno-anticorpo em reações alérgicas ou sejam degranulados pela ação do cérebro durante o estresse.

Os mastócitos e substâncias sinalizadoras

Vários mediadores derivados de mastócitos têm ações neurofarmacológicas no comportamento elétrico e sináptico de neurônios no SNE. Alguns mediadores importantes conhecidos por atuarem em seus receptores nos elementos neurais do SNE são: (1) Histamina; (2) Interleucina-6; (3) leucotrienos; (4) 5-hidroxitriptamina; (5) fator ativador de plaquetas; (6) proteases de mastócitos; (7) adenosina; (8) Interleucina-1p e (9) prostaglandinas. Nos deteremos apenas nas funções dos mediadores principais, a histamina e a serotonina.

Histamina

A histamina não é sintetizada pelos neurônios entéricos e não é considerada um neurotransmissor no ENS. Os mastócitos e neutrófilos são fontes de histamina no intestino. O conhecimento das ações histaminérgicas nos neurônios do ENS vem de resultados obtidos de estudos eletrofisiológicos e imuno-histoquímicos em neurônios entéricos únicos em animais.

Os mastócitos observados em biópsias da mucosa colônica, de pacientes com SII, com predominância de diarreia, liberam mais histamina do que indivíduos normais e podem aumentar a secreção intestinal levando a sintomas diarreicos secretórios como aqueles associados a agentes infecciosos e alergias alimentares.

Serotonina

A 5-hidroxitriptamina é outro mediador pré-formado

que é conhecido por ser libertado durante a desgranulação de mastócitos entéricos e células da enterocromafina da mucosa para formar uma sobreposição neuromodulatória no ENS do homem.

Tanto a histamina quanto a 5-HT, atuam nos receptores pré-sinápticos inibitórios nos axônios colinérgicos para suprimir a neurotransmissão rápida, nas sinapses nicotínicas, nas redes neurais entéricas. A inibição pré-sináptica por ambos os neuromoduladores é mediada por um subtipo de receptor diferente daquele que evoca respostas excitatórias nos corpos celulares neuronais.

Serotonina e distúrbios funcionais

A infusão de 5-HT por via intravenosa ou no lúmen intestinal evoca a secreção abundante de água, eletrólitos e muco das glândulas secretoras intestinais. A ação estimulatória da 5-HT está na base de sua ação como agente diarreio gênico e seu envolvimento em síndromes diarreio gênicas no homem.

Os sintomas da SII de cólicas abdominais, diarreia e urgência fecal são exacerbados no estado pós-prandial. O aparecimento elevado de 5-HT na circulação portal hepática no estado pós-prandial reflete a liberação estimulada das células da enterocromafina da mucosa.

A liberação pós-prandial normal de 5-HT é relatada como aumentada em pacientes com SII e isso contribui para a suspeita de que a liberação excessiva de serotonina pode ser um fator subjacente nos sintomas da SII, em pacientes com diarreia predominante. Essa suspeita é reforçada pelos achados do elevado número de mastócitos e células enterocromafins, ambos contendo 5-HT, em biópsias da mucosa colônica de pacientes com SII.

Conexão entre cérebro e mastócito: implicações para distúrbios funcionais

Uma conexão entre o cérebro e o mastócito é atualmente o mecanismo mais plausível para explicar a relação bem conhecida entre o estresse e os sintomas

intestinais semelhantes aos da SII.

Uma conexão entre cérebro e mastócito implica num mecanismo que liga o estado psico-emocional central aos estados irritáveis do trato digestivo. O estado irritável do intestino (ou seja, desconforto abdominal, dor abdominal inferior, diarreia e urgência), que se sabe resultar da degranulação de mastócitos intestinais e da liberação de sinais para a ENS, deve ocorrer independentemente do modo de estimulação do intestino. Isso provavelmente explica a similaridade dos sintomas intestinais entre aqueles associados a insultos nocivos no lúmen e aqueles associados ao estresse psicogênico em indivíduos suscetíveis.

A evidência imuno-neurofisiológica reforça a hipótese de que o comportamento momento-a-momento do intestino, quer seja normal ou patológico, é determinado principalmente pelas funções integrativas do ENS.

O “cérebro intestinal” processa sinais de entrada, derivados de células imunes / inflamatórias (por exemplo, mastócitos), receptores sensoriais e do SNC. A imuno-neurofisiologia, a esse respeito, é sugestiva de mecanismos com suscetibilidade a disfunções que podem resultar em sintomas semelhantes aos da SII, com predominância de diarreia.

Aspectos biopsicossociais dos distúrbios gastrintestinais funcionais

Os distúrbios gastrointestinais funcionais (DGIF) são as condições mais frequentes observadas na prática da gastroenterologia e compreendem uma grande parcela dos cuidados primários. Fatores psicossociais são importantes nesses distúrbios com relação a: (1) seus efeitos na fisiologia intestinal; (2) sua modulação da

experiência do sintoma; (3) sua influência no comportamento da doença; (4) seu impacto no resultado; e (5) a escolha da abordagem terapêutica.

Existem evidências para apoiar o modelo biopsicossocial como base para a compreensão e o tratamento desses transtornos, e informações epidemiológicas e clínicas sobre as relações dos fatores psicossociais com a fisiologia intestinal, apresentação dos sintomas, comportamento de saúde e seu desfecho.

Eles ocorrem em outros pacientes com condições médicas crônicas e / ou distúrbios psiquiátricos. A revisão dos ensaios de tratamento indica um apoio claro aos tratamentos psicoterapêuticos, especialmente a longo prazo, bem como algumas evidências para o benefício dos antidepressivos no DGIF, mesmo na ausência de melhorias no humor.

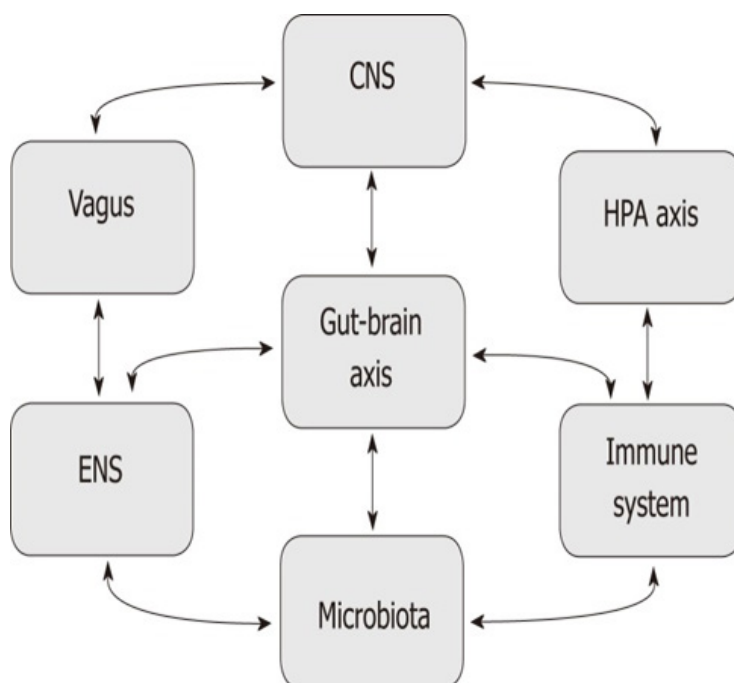
O modelo biopsicossocial para o distúrbio gastrointestinal funcional esta representado nesta figura que ilustra a interação de fatores psicossociais, fatores ambientais e distúrbios no eixo intestino-cérebro, com distúrbios gastrointestinais funcionais.

Os eventos de estresse no início da vida, combinados com o estado psicossocial de um indivíduo, determinam a sintomatologia e a qualidade de vida destes indivíduos.

Papel do eixo Microbiota-Intestinos-Cérebro em pacientes com DGIFs

A microbiota e o sistema nervoso central interagem em uma relação bidirecional interligada pelo eixo do intestino-cérebro. Este eixo também é influenciado pelo sistema imunológico, sistema nervoso entérico, eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal e nervo vago.

O microbioma e a conexão Intestino-Cérebro



CNS: sistema nervoso central; ENS: sistema nervoso entérico; HPA: eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

Embora tenha sido uma crença amplamente aceita de que as células humanas são superadas em número por microorganismos, em nosso organismo, principalmente pela população bacteriana entérica, por uma razão de 1:10, a literatura recente mostra que a proporção está mais próxima de 1: 1. Isso, no entanto, não diminui o importante papel da microbiota em nossos corpos.

A microbiota, vivendo em harmonia com os tecidos humanos, tem vários papéis sinérgicos. Embora a composição exata da microbiota possa diferir entre os indivíduos, uma vez que cada indivíduo possui sua própria assinatura de microbioma, seu papel funcional na homeostase e desenvolvimento é onipresente para todos os seres humanos.

Desde a ajuda na digestão até a proteção contra mi-

croorganismos patogênicos, a microbiota intestinal tem desempenhado um papel importante na manutenção da imunidade e da homeostase. Recentemente, estudos mostraram que uma das principais correlações com o eixo do intestino-cérebro vem da microbiota, levando à cunhagem do termo "eixo cérebro-microbiota-intestino".

Essa interação é bidirecional, o que significa que a perturbação na comunidade complexa da microbiota (disbiose) pode afetar o cérebro e vice-versa. Os mecanismos subjacentes de sinalização para essas redes comunicantes entre a flora intestinal e o eixo intestino-cérebro têm sido de especial interesse para pesquisadores que buscam possíveis intervenções terapêuticas.

A evidência da comunicação bidirecional vem de estudos que mostraram que o estresse precoce na vida pode alterar a composição da microbiota intestinal, destacando o papel do cérebro como um influencia-

dor no intestino através do eixo do intestino-cérebro.

Disbiose

Todo ser humano tem uma comunidade única e específica de microrganismos. Esta impressão digital de microrganismos, que é um ecossistema com papel importante na homeostase, desenvolve-se cedo na vida e pode sofrer algumas modificações, mas, em geral, permanece estável por toda a vida. As modificações podem ser devidas à competição de outros microrganismos ou à pressão do hospedeiro.

A microbiota participa na modulação da motilidade intestinal, fluxo sanguíneo, secreções, imunidade e percepção de sinais viscerais. Outros mecanismos sugeridos incluem distensão do intestino e alterações na secreção do trato gastrointestinal. Essas mudanças parecem surgir da produção de gases e ácidos graxos pelo metabolismo ácido da flora bacteriana, interferindo na sinalização.

A disbiose é observada em diferentes doenças gastrointestinais, incluindo "Síndrome do Intestino Contaminado", a Doença Celíaca, a SII e a Doença Inflamatória Intestinal (DII). Embora a disbiose pareça ser um importante denominador em pacientes com DGIFs, nenhuma assinatura simbiótica específica foi identificada. A disbiose pode ser uma das causas dos traços comportamentais associados aos transtornos de ansiedade.

Interações neuroimunes em DGIFs

O ENS, também chamado de "segundo cérebro", é capaz de funcionar independentemente, sem intermediação do SNC. Consiste de um número estimado de 108 neurônios, dispostos em dois plexos ganglionares.

Existe uma relação interdependente complexa entre o sistema imune do intestino e o ENS. As funções fisiológicas do intestino, como a motilidade, a absorção e a secreção, são muito sensíveis a mudanças sutis nesse equilíbrio delicado entre o sistema imunológico e o sistema nervoso.

Por exemplo, a ativação imunológica devido à inflamação local pode ter um efeito difuso na motilidade de GI. Pacientes com SII pós-infecciosa, foram estudados para entender o papel do sistema imune em DGIFs. A incidência de SII pós-infecciosa é relatada entre 5% e 32% dos pacientes acometidos. O risco de sua presença, aumenta muitas vezes se a doença presente for predominantemente diarreica e durar mais de 3 semanas. Além disso, a hipocondria e o evento de vida estressante na doença inicial dobram o risco de SII pós-infecciosa, fornecendo mais evidências para o envolvimento do sistema imunológico.

Diferentes fatores que modificam o eixo cérebro-intestino e desempenham um papel importante na fisiopatologia dos DGIFs.

Disbiose: A perturbação na comunidade complexa da microbiota parece influenciar o eixo do intestino-cérebro pela modulação do sistema sensorial neuroendócrino, neuroimunitário e visceral.

Secreções mucosas alteradas: A secreção é modulada pela interação complexa de fatores intrínsecos e extrínsecos que atuam na mucosa intestinal. A desregulação das células epiteliais devido à reatividade autonômica pode levar à liberação de 5-HT, contribuindo para a secreção alterada.

Distúrbio na motilidade: Os produtos do metabolismo das bactérias intestinais, como os ácidos graxos de cadeia curta, modulam o sistema entérico e influenciam o tempo de trânsito intestinal.

Hipersensibilidade visceral: Pacientes com SII tem uma maior concentração de receptores sensíveis à dor, como o TPRV1 (potencial transitório do receptor Vantinoide 1) em comparação com os controles.

Processamento alterado de sinais viscerais: Há aumento da ativação de certas áreas cerebrais em pacientes com SII em comparação com os controles. O processamento alterado da dor visceral no sistema nervoso central tem sido um tema recorrente em muitos estudos.

Disfunção imunológica: Os pacientes com diarreia infecciosa prolongada são muito mais propensos a desenvolver SII. Além disso, biópsias de pacientes com SII mostraram células imunes aumentadas na mucosa.

Distúrbios psicológicos: Pacientes com DGIFs apresentam sintomas psicossociais coexistentes, como estresse, ansiedade e depressão, e, portanto, um modelo biopsicossocial foi proposto para os DGIFs.

Estresse no início da vida: Estresse no início da vida pode alterar a composição da microbiota intestinal.

Parte 2: Bases farmacológicas para o tratamento do DGIF

Alguns dos resultados decepcionantes da última década, no desenvolvimento de novos medicamentos, podem ser atribuídos à heterogeneidade dos distúrbios funcionais, à falta de compreensão da fisiopatologia e à falta de estudos mecanísticos de curto prazo que possam prever o desfecho clínico. Novas drogas devem ter como alvo todo o mecanismo fisiopatológico que contribui para o distúrbio funcional, em vez de focar em apenas uma parte da resposta individual ou um receptor específico. Assim, agentes não seletivos projetados para modular múltiplos alvos de todo o processo fisiopatológico, (por exemplo, dismotilidade, distúrbios sensoriais, inflamação) seriam vantajosos em relação a medicamentos altamente seletivos que abordam um único mecanismo.

Risco zero

O baixo risco não é aceitável para drogas que visam mecanismos fisiopatológicos e proporcionam alívio de doenças não fatais, como os DGIFs, e o processo de desenvolvimento de medicamentos deve identificar esses efeitos indesejados o mais cedo possível. Essas terapias devem lidar com risco zero.

1-Serotonérgicos

A serotonina, ou 5-hidroxitriptamina (5-HT), desempenha um papel fundamental no controle da motilidade, sensibilidade e secreção gastrointestinal, mas

até o momento não foram relatados efeitos terapêuticos benéficos convincentes em DGIFs.

Alosetron: Os antagonistas do receptor 5-HT₃, como o alosetron, atrasam os tempos de trânsito orocecal e colônico e reduzem a complacência colônica, mas não a sensibilidade à distensão isobárica. Vários estudos clínicos confirmaram a eficácia do alosetron na síndrome do intestino irritável (SII) com predominância de diarreia. Logo após a sua introdução, o alosetron foi retirado devido a efeitos colaterais suspeitos de isquemia colônica / colite isquêmica e agora está disponível para uso restrito apenas nos Estados Unidos.

Tegaserod e Prucaloprida: Os agonistas do receptor 5-HT₄, como o tegaserod ou a prucaloprida, atuam em neurônios intrínsecos para estimular o trânsito gástrico, o trânsito no intestino delgado e colônico, na saúde, na constipação e na SII, com predominância de efeitos na constipação. O tegaserod melhora a constipação, proporciona alívio da dor / desconforto e inchaço e é aprovado para mulheres com SII com predomínio da constipação e para homens e mulheres com menos de 65 anos com constipação crônica. Prucaloprida e tegaserode já demonstraram ser eficaz no tratamento da constipação.

Buspirona: A ativação dos receptores 5-HT_{1A}, nos neurônios entéricos, inibe a liberação de acetilcolina. Em humanos, os agonistas do receptor 5-HT_{1A}, como a buspirona, inibem a motilidade e diminuem o tônus gástrico, mas a utilidade terapêutica não foi estabelecida.

Agentes que atuam na motilidade

Eritromicina e macrolídeos: A ativação dos receptores de motilina no músculo liso e nos nervos colinérgicos aumenta a contratilidade gástrica e o esvaziamento gástrico na saúde e na gastroparesia, como observado com a eritromicina ou no macrolídeo procinético ABT-229.

O impacto sintomático do esvaziamento aumentado pela eritromicina na gastroparesia tem sido questionado, e nenhum benefício sintomático (mas sim al-

gum agravamento de sintomas) foi encontrado em estudos com ABT-229.

Antagonistas dos receptores de taquicinina

Taquicinina e Neuroquinina: Os efeitos biológicos da substância P taquicinina endógena, neuroquinina A e neuroquinina B no trato gastrointestinal, tem o potencial de inibir a motilidade, sensibilidade, secreção e inflamação no trato gastrointestinal. Antagonistas dos receptores da neurocinina 1 também possuem propriedades antieméticas. Vários antagonistas dos receptores de taquicininas estão sendo avaliados para o tratamento de DGIFs.

Agonistas Adrenoceptor

Clonidina: Foi demonstrado que a clonidina, agonista do adrenoceptor α_2 , reduz o tónus do cólon e a sensação de dor em resposta à distensão. Um estudo preliminar da clonidina na SII, com diarreia predominante, sugeriu potencial terapêutico para a clonidina, mas a aplicação clínica é dificultada por efeitos colaterais limitantes da dose, como sonolência ou hipotensão.

Ligandos do Receptor Opióide

A ativação do receptor opióide localizada no sistema nervoso entérico e nas vias nociceptivas reduz a dor visceral através de mecanismos periféricos (aférentes da coluna) e centrais e inibe a motilidade por meio da diminuição da liberação de acetilcolina.

Fedotozina e Asimadolina: são agonistas do receptor opióide κ e têm sido propostos como uma abordagem farmacológica para o tratamento da hipersensibilidade em DGIFs. Estudos mostraram diminuição da sensibilidade à distensão gástrica ou colônica. No entanto, estudos terapêuticos na SII e dispepsia funcional com fedotozina têm sido decepcionantes.

Loperamida: é um o agonista do receptor opióide μ , usado no tratamento da diarreia. Ela inibe a secreção, reduz o trânsito intestinal e aumenta o tónus do esfíncter anal em repouso.

Metilnaltrexona e Alvimopan: Os antagonistas do receptor opióide μ periférico, como N-metilnaltrexona e alvimopan, normalizam a função intestinal em pacientes tratados com opiáceos sem comprometer a analgesia central com opióides. O uso desses agentes na constipação e na SII, com predominância de constipação, está sob investigação.

Outros agentes terapêuticos

Loxiglumida e Dexloxiglumida: As drogas colecistocininas, como a loxiglumida e a dexloxiglumida, aumentam o esvaziamento gástrico na saúde e na SII com predomínio da constipação, embora os efeitos sobre a motilidade colônica não sejam claros. Até agora, a utilidade clínica não foi estabelecida.

Capsaicina: O canal iônico potencial do receptor transiente do vanilóide tipo 1 (TRPV1), expresso pelos neurônios aferentes primários, é visto como um gatilho para a chemonocicepção e pode ser regulado positivamente em alguns casos de DGIFs.

A administração prolongada de capsaicina, que acredita-se que dessensibiliza o TRPV1, foi mais eficaz do que o placebo na diminuição dos sintomas da dispepsia funcional. Até agora, a utilidade clínica não foi estabelecida.

Antagonistas dos receptores da dopamina2: têm efeitos gastroprocinéticos e propriedades antieméticas centrais, resultando na supressão de náuseas e vômitos. Embora clinicamente usado no tratamento de DGIFs e gastroparesia, a eficácia não foi estabelecida por estudos de alta qualidade.

Antagonistas do receptor muscarínico: relaxantes musculares lisos são usados em alguns países para o tratamento da SII. Meta-análise sugere que eles são superiores ao placebo na dor relacionada com SII, embora a qualidade dos ensaios tenha sido questionada.

Somatostatina e octreotide: A somatostatina e seus análogos estáveis, como o octreotide, inibem o trânsito gástrico e intestinal rápido, bem como a sensibi-

lidade à distensão retal ou colônica em humanos. A necessidade de injeções subcutâneas múltiplas, alto custo e potenciais efeitos colaterais limitam seu uso atual em DGIFs.

Tetrahydrocannabinol: Os receptores canabinóides CB1 são expressos em aferentes nociceptivos e neurônios do sistema nervoso entérico, enquanto os receptores canabinóides CB2 são expressos em células do sistema imune. A ativação dos receptores CB1 retarda o trânsito gastrointestinal em animais através da inibição da liberação de acetilcolina. O agonista não específico δ -9-tetrahydrocannabinol tem fortes propriedades antieméticas e atrasa o esvaziamento gástrico em humanos.

Não está claro se o potencial de abuso de agonistas do CB1 impediria sua aprovação regulatória. Os agonistas do CB1 inverso (que funcionam como antagonistas nos receptores CB1 constitutivamente ativos) estão sendo desenvolvidos para o tratamento da obesidade, porque podem induzir náusea e vômito. Os efeitos sobre a função do estômago não são claros. Por outro lado, os agonistas dos receptores CB2 não neuronais não têm potencial de abuso e exercem efeitos antinociceptivos na dor associada à inflamação.

Princípios da Farmacogenômica nos pacientes com DGIFs

Farmacogenética refere-se ao estudo de variações individuais na sequência de DNA relacionadas com a resposta ao fármaco. Farmacogenômica é o estudo da variabilidade da expressão de genes individuais relevantes para a susceptibilidade a doenças e resposta a fármacos a níveis celulares, tecidulares, individuais ou populacionais.

Polimorfismos podem ser marcadores associados à predisposição para os DGIFs. Exemplos na literatura incluem pacientes com SII tendo frequências significativamente reduzidas do genótipo produtor de interleucina-10, comparativamente aos controles, sugerindo que pelo menos alguns pacientes com SII podem ser geneticamente predispostos a produzir quantidades menores dessa citocina anti-inflamatória. Isso dá

algum suporte à hipótese de que pode haver um componente inflamatório ou genético em alguns casos de SII.

Um segundo aspecto são variações genéticas que influenciam a resposta aos medicamentos. Pode haver polimorfismo genético no metabolismo de drogas. O polimorfismo genético também pode envolver transportadores que podem influenciar a resposta às drogas. Outra observação é que a resposta à droga em pacientes com dispepsia funcional pode ser influenciada pela variação genética na tradução de GN β 3.

Esses resultados exigem confirmação, mas sugerem que a farmacogenética pode afetar a resposta à droga e precisa ser considerada nos programas de desenvolvimento de medicamentos e na terapêutica clínica. Farmacogenética também pode fornecer novos “insights” sobre o mecanismo ou fisiopatologia dos DGIFs.

Psicofarmacologia dos DGIFs

Os receptores 5-HT_{1A} e adrenerreceptores α ₂ são receptores e heterorreceptores pré-sinápticos e pós-sinápticos (isto é, eles modulam a norepinefrina e a neurotransmissão de 5-HT, respectivamente, via receptores somatodendríticos pré-sinápticos). Quando administrados em longo prazo, todos os antidepressivos também aumentam a sinalização dos glicocorticóides e inibem a hiperatividade do fator liberador de corticotrofina no cérebro e presumivelmente na periferia.

Cada classe afeta vários transmissores através de ações recíprocas entre os sistemas amina e neuropeptídeo e reduz a liberação excessiva de citocinas associada a várias condições nas quais as citocinas inflamatórias desempenham um papel. O tratamento a longo prazo com qualquer antidepressivo altera a sensibilidade do receptor, que, em todos os casos, **acredita-se que resulte em aumento da neurotransmissão de 5-HT.**

Antidepressivos tricíclicos: Os antidepressivos tricíclicos aumentam a sensibilidade dos receptores 5-HT pós-sinápticos e regulam negativamente os receptores e heterorreceptores pré-sinápticos α ₂. O efeito anal-

gésico dos antidepressivos tricíclicos também é mediado pelo bloqueio de uma classe de canais de sódio voltagem-dependentes, em neurônios sensoriais extrínsecos.

Buspirona: É um ansiolítico que regula negativamente os auto-receptores somatodendríticos 5-HT_{1A}, para produzir ansiólise. Acredita-se que a regulação negativa dos receptores 5-HT₁ desempenhe o papel mais importante nos efeitos antidepressivos, ansiolíticos e analgésicos dos antidepressivos.

Benzodiazepínicos: Os benzodiazepínicos aumentam os efeitos inibitórios do ácido γ -aminobutírico via potenciação nos receptores GABA, aumentam indiretamente a 5-HT e diminuem a neurotransmissão da norepinefrina e antagonizam os efeitos da colecistocinina no cérebro e no intestino. Isso resulta em atividade ansiolítica imediata.

Evidências de eficácia de tratamentos psicotrópicos em DGIFs: Agentes psicotrópicos são comumente usados para tratar pacientes com distúrbios gastrointestinais funcionais.

Antidepressivos tricíclicos: desipramina

Drossman et al compararam a eficácia do antidepressivo tricíclico desipramina (em média 100 mg / dia) com placebo em mulheres com SII moderada a grave. Na análise de intenção de tratar, o tratamento com desipramina não alcançou superioridade estatística em relação ao placebo na amostra geral. Concluiu-se que, como a maioria dos pacientes que abandonaram o tratamento o fez devido a efeitos colaterais e uma parcela significativa apresentou níveis de desipramina não detectáveis, a tolerabilidade do tratamento com desipramina limitou o poder estatístico deste estudo.

ISRS (inibidor seletivo da recaptação da serotonina): fluoxetina, citalopram e paroxetina.

Fluoxetina: Clinicamente, os ISRSs parecem ser úteis para alguns pacientes com DGIFs. Kuiken e colaboradores relataram que 6 semanas de tratamento com fluoxetina 20 mg por dia não foram superiores ao pla-

cebo, mas reduziram a dor abdominal no subgrupo com hipersensibilidade retal.

Citalopram: Numa população pediátrica com dor abdominal recorrente, foi notificada uma resposta em 21 dos 24 indivíduos (idades entre os 7 e os 18 anos) após 12 semanas de tratamento com citalopram em dose flexível.

Paroxetina: No único estudo controlado por placebo, randomizado e controlado com paroxetina até o momento, Tabas et al compararam 12 semanas de tratamento com dose flexível com paroxetina (10-40 mg / dia) com placebo em 81 pacientes com SII. O tratamento com paroxetina foi associado a uma melhora significativamente maior do bem-estar geral e da preferência do paciente em comparação com o placebo. Dor abdominal e inchaço não foram significativamente melhores após o tratamento com paroxetina.

Indicação e escolha de agentes psicotrópicos em DGIFs: agentes tricíclicos (desipramina), benzodiazepínicos e buspirona.

Os agentes psicotrópicos são indicados na presença de sintomas psiquiátricos significativos. O objetivo da terapia é alcançar o alívio do desconforto gastrointestinal e psicossocial. Pacientes com mania prévia, ideação suicida proeminente ou história de comportamento preocupante ou instável devem ser encaminhados prontamente para avaliação por um especialista em saúde mental.

Desipramina: os ISRSs são geralmente considerados equivalentes em eficácia e tolerabilidade e qualquer das classes usada constituem uma abordagem razoável de primeira linha. Eles são amplamente eficazes como antidepressivos e ansiolíticos e são mais seguros e toleráveis do que os antidepressivos tradicionais. A obtenção de níveis plasmáticos de agente tricíclico (8 a 12 horas após a última dose) após o início da terapia pode garantir a segurança contínua do paciente.

Benzodiazepínicos: se os pacientes forem intolerantes a antidepressivos e tiverem ansiedade proeminente,

eles podem ser tratados com monoterapia com benzodiazepínicos. No entanto, o uso a longo prazo em pacientes com DGIFs é desencorajado devido a vários fatores. O tratamento com benzodiazepínicos pode estar associado ao desenvolvimento de tolerância, dependência física, abuso, sedação, comprometimento cognitivo e, em particular, incapacidade de interromper os benzodiazepínicos quando seu uso não é clinicamente indicado.

Buspirona: é um agonista parcial do receptor 5-HT_{1A} que é eficaz no transtorno de ansiedade geral, mas a eficácia nos DGIFs precisa ser estudada.

Iniciar medicamentos psicotrópicos para o DGIF em baixas doses pode ajudar a reduzir a exacerbação de sintomas gastrointestinais e outros sintomas pré-exis-

tentes. Alcançar a remissão completa não é uma meta razoável para o tratamento inicial de 6 a 8 semanas e pode requerer de 4 a 6 meses ou mais. Para alguns pacientes, o uso de benzodiazepínicos concomitantes para o controle da ansiedade pode ajudar na adesão e permitir um controle mais otimizado dos sintomas.

Em resumo, a presença de sintomas psiquiátricos clinicamente significativos em pacientes com DGIFs é uma indicação para agentes psicotrópicos, especialmente quando se observa reatividade ao estresse. O entusiasmo por novos antidepressivos para os DGIFs baseia-se na sua ampla eficácia nas condições psiquiátricas e potencial eficácia nos principais sintomas da SII. A confirmação da prática existente com ensaios clínicos randomizados ainda é necessária.

REFERÊNCIAS

- 1- Drossman D, Hasler W, Rome IV- Functional Gastrointestinal Disorders: Disorders of Brain-Gut Interaction, *Gastroenterology*, 2016; 150: 1257-1261
- 2- Drossman D, Functional Gastrointestinal Disorders: History, Pathophysiology, Clinical Features and Rome IV, *Gastroenterology*, 2016; 150: 1262-1279
- 3- Vanner S et al, Fundamentals of Neurogastroenterology: Basic Science, *Gastroenterology*, 2016; 150: 1280-1291
- 4- Boeckxstaens G et al, Fundamentals of Neurogastroenterology: Physiology/motility-Sensation, *Gastroenterology*, 2016; 150: 1292-1304
- 5- Barbara G et al, The intestinal Microenvironment and FGID, *Gastroenterology*, 2016; 150: 1305-1318
- 6- Houghton L et al, Pharmacologic, Pharmacokinetic and Pharmacogenomic Aspects of FGID, *Gastroenterology*, 2016; 150: 1319-1331
- 7- Houghton L et al, Age, Gender, and Women's Health and Patient, *Gastroenterology*, 2016; 150: 1332-1343
- 8- Francisconi et al, Multicultural Aspects of FGID, *Gastroenterology*, 2016; 150: 1344-1354
- 9- Van Oudenhove L et al, Biopsychosocial Aspects of FGID, *Gastroenterology*, 2016; 150: 1355-1367.

Correspondence address

Dr. Aderbal Sabrá

Rua Visconde de Pirajá, 330 Gr.
308/311

Ipanema, RJ 2.410-000, BR

Telephone: (21) 267-0645

E-mail: aderbalsabra@globo.com

Submitted for publication:

July 08, 2018

Accepted:

July 30, 2018

INFORMATION FOR AUTHORS

SUBMISSION

Manuscripts should be submitted by one of the authors of the manuscript through the online. Regardless of the source of the word-processing tool, only electronic or Word (.doc, .docx, .rtf) files can be submitted through the e-mail submission@journalfoodallergy.com. There is no page limit. Submissions by anyone other than one of the authors will not be accepted. The submitting author takes responsibility for the paper during submission and peer review.

TERMS OF SUBMISSION

Papers must be submitted on the understanding that they have not been published elsewhere (except in the form of an abstract or as part of a published lecture, review, or thesis) and are not currently under consideration by another other publisher. The submitting author is responsible for ensuring that the article's publication has been approved by all the other coauthors. It is also the authors' responsibility to ensure that the articles emanating from a particular institution are submitted with the approval of the necessary institution. Only an acknowledgment from the editorial office officially establishes the date of receipt. Further correspondence and proofs will be sent to the author(s) before publication unless otherwise indicated. It is a condition of submission of a paper that the authors permit editing of the paper for readability. All enquiries concerning the publication of accepted papers should be addressed to editor.

PEER REVIEW

All manuscripts are subject to peer review and are expected to meet standards of academic excellence. Submissions will be considered by an editor and—if not rejected right away—by peerreviewers, whose identities will remain anonymous to the authors.

Article Processing Charges

Journal of Food Allergy is an open access journal. Open access charges allow publishers to make the published material available for free to all interested online visitors.

The Ideal Manuscript may not exceed 2500 words.

Title and Authorship Information

The following information should be included

- Paper title
- Full author names
- Full institutional mailing addresses
- Email addresses

ABSTRACT

The manuscript should contain an abstract. The abstract should be self-contained and citation-free and should not exceed 200 words.

INTRODUCTION

This section should be succinct, with no subheadings. **Materials and Methods** This part should contain sufficient detail so that all procedures can be repeated. It can be divided into subsections if several methods are described. **Results and Discussion** This section may each be divided by subheadings or may be combined.

CONCLUSIONS

This should clearly explain the main conclusions of the work highlighting its importance and relevance.

ACKNOWLEDGMENTS

All acknowledgments (if any) should be included at the very end of the paper before the references and may include supporting grants, presentations, and so forth.

REFERENCES

Authors are responsible for ensuring that the information in each reference is complete and accurate. All references must be numbered consecutively and citations of references in text should be identified using numbers in square brackets (e.g., "as discussed by Smith [9]"; "as discussed elsewhere [9, 10]"). All references should be cited within the text; otherwise, these references will be automatically removed.

GENERAL CONSIDERATIONS RELATED TO REFERENCES

Although references to review articles can be an efficient way to guide readers to a body of literature, review articles do not always reflect original work accurately. Readers should therefore be provided with direct references to original research sources where

ver possible. On the other hand, extensive lists of references to original work on a topic can use excessive space on the printed page. Small numbers of references to key original papers often serve as well as more exhaustive lists, particularly since references can now be added to the electronic version of published papers, and since electronic literature searching allows readers to retrieve published literature efficiently.

Avoid using abstracts as references. References to papers accepted but not yet published should be designated as “in press” or “forthcoming”; authors should obtain written permission to cite such papers as well as verification that they have been accepted for publication. Information from manuscripts submitted but not accepted should be cited in the text as “unpublished observations” with written permission from the source.

Avoid citing a “personal communication” unless it provides essential information not available from a public source, in which case the name of the person and date of communication should be cited in parentheses in the text. For scientific articles, obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication.

Some but not all journals check the accuracy of all reference citations; thus, citation errors sometimes appear in the published version of articles. To minimize such errors, references should be verified using either an electronic bibliographic source, such as PubMed or print copies from original sources.

Authors are responsible for checking that none of the references cite retracted articles except in the context of referring to the retraction. For articles published in journals indexed in MEDLINE, the ICMJE considers PubMed the authoritative source for information about retractions. Authors can identify retracted articles in MEDLINE by using the following search term, where pt in square brackets stands for publication type: Retracted publication [pt] in PubMed.

REFERENCE STYLE AND FORMAT

The Uniform Requirements style for references is based largely on an American National Standards Institute style adapted by the NLM for its databases. Authors should consult NLM’s Citing Medicine for information on its recommended formats for a variety of reference types. Authors may also consult sample

references, a list of examples extracted from or based on Citing Medicine for easy use by the ICMJE audience; these sample references are maintained by NLM. References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in parentheses. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in the list of Journals Indexed for MEDLINE, posted by the NLM on the Library’s Web site. Journals vary on whether they ask authors to cite electronic references within parentheses in the text or in numbered references following the text. Authors should consult with the journal to which they plan to submit their work.

PREPARATION OF FIGURES

Upon submission of an article, authors are supposed to include all figures and tables in the PDF file of the manuscript. Figures and tables should not be submitted in separate files. If the article is accepted, authors will be asked to provide the source files of the figures. Each figure should be supplied in a separate electronic file. All figures should be cited in the paper in a consecutive order. Figures should be supplied in either vector art formats (Illustrator, EPS, WMF, FreeHand, CorelDraw, PowerPoint, Excel, etc.) or bitmap formats (Photoshop, TIFF, GIF, JPEG, etc.). Bitmap images should be of 300 dpi resolution at least unless the resolution is intentionally set to a lower level for scientific reasons. If a bitmap image has labels, the image and labels should be embedded in separate layers.

PREPARATION OF TABLES

Tables should be cited consecutively in the text. Every table must have a descriptive title and if numerical measurements are given, the units should be included in the column heading. Vertical rules should not be used.

PAGE-PROOFS

Corrected proofs must be returned to the publisher within 2-3 days of receipt. The publisher will do every

thing possible to ensure prompt publication. It will therefore be appreciated if the manuscripts and figures conform from the outset to the style of the journal.

COPYRIGHT

Open Access authors retain the copyrights of their papers, and all open access articles are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution license, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided that the original work is properly cited.

The use of general descriptive names, trade names, trademarks, and so forth in this publication, even if not specifically identified, does not imply that these names are not protected by the relevant laws and regulations.

While the advice and information in this journal are believed to be true and accurate on the date of its going to press, neither the authors, the editors, nor the publisher can accept any legal responsibility for any errors or omissions that may be made. The publisher makes no warranty, express or implied, with respect to the material contained herein.

CONFLICT OF INTEREST NOTIFICATION PAGE

To prevent potential conflicts of interest from being overlooked or misplaced, this information needs to be part of the manuscript. The ICMJE has developed a uniform disclosure form for use by ICMJE member journals (http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf).

Other journals are welcome to adopt this form. Individual journals may differ in where they include this information, and some journals do not send information on conflicts of interest to reviewers. (See Section II. D. Conflicts of Interest.)

ETHICAL GUIDELINES

New methods and ethically relevant aspects must be described in detail, bearing in mind the following:

I) HUMAN EXPERIMENTS

All work must be conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (1964). Papers describing experimental work on human subjects who carry a risk of harm must include:

A statement that the experiment was conducted with the understanding and the consent of the human subject.

A statement that the responsible Ethical Committee has approved the experiments.

II) ANIMAL EXPERIMENTS

Papers describing experiments on living animals should provide:

A full description of any anaesthetic and surgical procedure used.

Evidence that all possible steps were taken to avoid animal suffering at each stage of the experiment.

Papers describing experiments on isolated tissues must indicate precisely how the donor tissues were obtained.