

The Beneficial Effects of Probiotics in Grade II Dengue Hemorrhagic Fever

Korzystne skutki probiotyków w gorączce krwotocznej dengi stopnia II

Grace L.Uy, MD^{*}, Felizardo N. Gatcheco, MD[#], Luisito L. Ruiz, MD[^] *Philippine Children's Medical Center, #Jose Reyes Memorial Medical Center, ^Muntinlupa Medical Center

STRESZCZENIE: Gorączka krwotoczna denga (DHF) to pojawiająca się infekcja w krajach tropikalnych. Może powodować krwotok i przepuszczalność naczyń włosowatych, co może prowadzić do wstrząsu i śmierci. Może to być spowodowane aktywacją komórek T, prowadzącą do kaskady cytokin, prowadzącą do rozregulowania odpowiedzi typu I, która jest pro "zapalna. Wiadomo, że probiotyki modulują odpowiedzi immunologiczne, które mogą regulować pro pro komórki zapalne. 36 pacjentów z DHF stopnia II zostało losowo przydzielonych do grupy kontrolnej i probiotyków. Probiotyki podawano przez 7 dni lub do wypisu ze szpitala. Wyniki wykazały, że temperatura, hematokryt i płytki krwi znormalizowane wcześniej odpowiednio o około 2, 1,7 i 2,2 dni. Nie odnotowano żadnych zdarzeń niepożądanych, dlatego probiotyki w DHF stopnia II mogą skrócić przebieg choroby bez powodowania niepożądanych konsekwencji.

Denga Fever (DF) stała się nową infekcją dotykającą kraje tropikalne. Jest to wirusowa infekcja przenoszona przez komary przenoszona przez jego wektor *Aedes aegypti*. Wirus dengi jest zoonotycznym flawowirusem z czterema serotypami, DEN 1,2,3,4. Ma częste ogniska występujące w cyklach 3 "4. Obecnie każdego roku występuje 100 milionów przypadków DF i .100 000 przypadków gorączki krwotocznej dengi (DHF).

DF jest ogólnie bezobjawowa lub łagodną, nieodróżnicowaną gorączką o postaci dwufazowej. Krytyczny etap osiąga się w czasie odroczenia, w którym pojawia się krwotok i przepuszczalność naczyń włosowatych, klasyfikując go teraz jako gorączkę krwotoczną dengi. Przejawia się to spontanicznym krwotokiem lub dodatnim testem opaski uciskowej > 9 wybroczyny / 2,5 m², małopłytkowość (<100 000 / mm³) i wyciek kapilarny (wzrost hematokrytu > 20% lub wysięk surowicy). Wycieki kapilarne ustępują w ciągu 48 godzin w nieskomplikowanych przypadkach, ale mogą powodować wstrząs i śmierć, jeśli nie zostaną zastosowane odpowiednie środki wspomagające.

Replikacja wirusa w makrofagach przez heterotypowe przeciwciała rzekomo przyczynia się do rozwoju DHF. Ze względu na zwiększoną replikację wirusa, produkcję antygeny wirusowego i

„3”

zwiększona stymulacja odporności komórkowej z późniejszym uwalnianiem cytokin i dopełniacza prowadzi do DHF. Gwałtowne uwalnianie cytokin spowodowane aktywacją komórek T i lizą zainfekowanych monocytów za pośrednictwem cytotoksycznych limfocytów powoduje wyciek osocza i krwotok występujący w DHF. Patologia przypadków śmiertelnych pokazuje zwiększoną aktywność układu limfocytów B ", z aktywną proliferacją komórek plazmatycznych i limfoblastoidalnych oraz aktywnych ośrodków rozrodczych.1 Główny mechanizm rozwoju DHF nie jest w pełni znany, ale jednym z czynników jest zwiększenie

liczby wirusów replikacja w makrofagach przez przeciwciała heterotypowe. To wzmocnienie zależne od „ciała” może skutkować wzmocnioną kaskadą cytokin i aktywacją dopełniacza, powodując dysfunkcję błony śluzowej macicy, zniszczenie płytek i zużycie czynników krzepnięcia prowadzących do wycieku z osocza i objawów krwotocznych 2,3,4, 5,6 Istnieją również silne dowody na aktywację komórek T "in vivo, a taka aktywacja komórek T CD4 + i CD8 + jest większa u pacjentów z DHF niż u osób z łagodną gorączką denga. Kaskada cytokin skierowana na komórki śródbłonna naczyniowego jest przede wszystkim odpowiedzialna za krytyczne zdarzenie patologiczne tworząc śródbłonkowy efekt „sita” prowadzący do wycieku płynu i białka⁷. Kaskada ta, jeśli zdarzenia powstają w wyniku rozregulowania odpowiedzi typu 1, która jest pro „zapalna, prowadząc do zwiększonego poziomu TNF,, α i IFN ”γ.⁸

Probiotyki można zdefiniować jako żywe mikroorganizmy, które po spożyciu w pewnej liczbie wywierają korzyści zdrowotne poza nieodłączne ogólne żywienie.⁹ Mikroorganizmy, które są powszechnie uważane za ludzkie probiotyki, są reprezentowane przez następujące rodzaje: Lactobacillus, Streptococcus i Bifidobacterium, ale zastosowano Enterococci i drożdże .^{10,11}

Niektóre mechanizmy działania probiotyków to (1) abtagibusn, jeśli patogeny są bezpośrednio wytwarzane przez związki przeciwdrobnoustrojowe i przeciwbakteryjne, takie jak cytokiny i kwasy masłowy; (2) współzawodniczą o miejsca wiązania i receptory, które zajmują patogeny; (3) poprawiają funkcjonowanie i stymulują komórki immunomodulujące; (4) konkurować z patogenami o dostępne składniki odżywcze i inne czynniki wzrostu. Probiotocy mogą wywierać pozytywne skutki bez wywoływania szkodliwych reakcji.^{12,13}

Postawiono hipotezę, że probiotyki mogą zmniejszać regulację pro "komórek zapalnych, co może zatrzymać postęp wycieku osocza i krwotoku w DHF.

CEL OGÓLNY:

Ocena skuteczności klinicznej doustnego przyjmowania probiotycznych kapsułek OMX u dzieci i młodzieży z DHF stopnia II.

KONKRETNE CELE:

1. Opisanie demografii pacjentów pediatrycznych przyjętych z DHF stopnia II
2. Aby ustalić, czy istnieje różnica w liczbie płytek krwi między pacjentami otrzymującymi OMX probiotyki kapsułki i pacjenci kontrolni
3. Ustalenie, czy istnieje różnica w hematokrycie między pacjentami otrzymującymi OMX probiotyki kapsułki i pacjenci kontrolni
4. Aby określić czas normalizacji liczby płytek krwi i hematokrytu pomiędzy pacjentami otrzymującymi kapsułki probiotyków OMX a pacjentami kontrolnymi
5. Aby odnotować powiązane zdarzenia niepożądane, takie jak biegunka, wymioty

METODOLOGIA:

Projekt badania: prospektywne, randomizowane kontrolowane badanie, otwarte centrum rekrutacyjne: Philippine Children's Medical Center

Kryteria włączenia uczestników:

1. w wieku od 6 miesięcy do 18 lat

2. diagnoza DHF klasy II spełniającej kryteria Światowej Organizacji Zdrowia (Załącznik I) 3. zdolność do przyjmowania leków doustnych

Kryteria wyłączenia:

1. znana reakcja nadwrażliwości na probiotyki
2. obecność chorób współistniejących (np. Zapalenie płuc, biegunka itp.) W momencie przyjęcia
3. obecność poważnego niedożywienia zgodnie z klasyfikacją Waterlow
4. obecność wstrząsu zgodnie z definicją Światowej Organizacji Zdrowia
5. równoczesne przyjmowanie innych leków nie wskazanych do standardowej opieki nad DHF

„5”

PROCEDURA

Odnotowano wiek pacjentów, płeć. Za pomocą tabeli liczb losowych podzielono je na grupę kontrolną i eksperymentalną. Kwalifikującym się podmiotom w grupie eksperymentalnej podawano kapsułki OMX Probiotics 1 kapsułka dwa razy dziennie na orem. Kapsułka OMX Probiotics zawiera następujące organizmy: *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei* subsp *rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *Bifidobacteria bifidus*, *B. breve*, *B infantis*, *B longum*, *B lactis*. Kapsułkę można połknąć w całości lub zawartość wycisnąć i połknąć, w zależności od tego, co jest dogodniejsze dla pacjenta.

Po włączeniu rejestrowano parametry życiowe pacjentów, w tym temperaturę, ciśnienie krwi, a także rejestrowano je codziennie. Podstawowe laboratoria - hematokryt, płytki krwi będą wykonywane codziennie aż do wypisu. Test opaski uciskowej wykonano podczas wstępnego badania (punkt środkowy ciśnienia krwi pacjenta - skurcz + rozkurcz / 2 przez 3 minuty, wynik dodatni to > 20 wybroczyny na cal kwadratowy). Pacjenci, którzy mają już pełne wybroczyny wybroczyny, zostali zwolnieni z tego testu.

Kapsułki probiotyczne OMX podawano przez 7 dni lub do wypisu ze szpitala, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej. Kapsułki probiotyczne OMX zostały wycofane po wystąpieniu wstrząsu lub zdarzeń niepożądanych. Pacjentów monitorowano podczas pobytu w szpitalu pod kątem wyników pomiaru podanych poniżej. Osoby oceniające parametry wyniku były zaślepione co do grupy, do której losowo przydzielono pacjentów. Podobnie personel laboratoryjny nie był również świadomy grupowania pacjentów.

Kryteria wypisu obejmowały stabilność kliniczną, brak gorączki, ciągły spadek hematokrytu równy lub większy niż 20% wartości wyjściowej oraz normalizację (tendencję wzrostową) liczby płytek krwi.

Wstrząs opisano jako obecność DHF z objawami niewydolności krążenia objawiającej się szybkim i słabym impulsem oraz wąskim ciśnieniem impulsu (<20 mm Hg [2,7 kPa]). Może to również objawiać się niedociśnieniem związanym z wiekiem i zimnem, lepką skórą i niepokojem.

1. objawy kliniczne
 - a. temperatura
 - b. ciśnienie krwi

do. tendencje krwotoczne, o czym świadczy co najmniej jeden z następujących czynników:

n =

Gdzie:

$$Z = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{d} \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n} + \frac{\sigma_2^2}{n}}$$

n = pożądany rozmiar próbki

σ = odchylenie standardowe parametru będącego przedmiotem zainteresowania, tj. różnica między dwoma średnimi Z = odchylenie normalne odpowiadające poziomowi niezawodności wymaganemu do oszacowania

d = maksymalny dopuszczalny błąd dla różnicy między dwoma średnimi

Tabela 2. Porównanie średniej temperatury, różnicy temperatury i normalizacji dziennej temperatury pomiędzy dwiema grupami

Grupy

Wartość P.

Kontrola (n = 18)

Eksperymentalny (n = 18)

Średnia temperatura

Średni zakres + / „SD

37,24 + / „0,52 36 - 38,3

36,91 + / „0,42 36,1 - 37,5

0,04 (S) (t "test)

Zróznicowane w Temp.

Średnia + / „SD

1,21 + / „0,92

0,32 + / „0,63

0,01 (S) (t "test)

Dzień normalizowany
Średnia + / "Mediana zakresu SD

2,50 + / "3,01 0–11
2)

0,50 + / "1,20 0 - 4
0

0,007 (S) (t "test)

Ciśnienie krwi dzieli się na składniki skurczowe i rozkurczowe. W każdej grupie, porównując początkowy i skurczowy BP pacjentów po wypisie, zauważono istotną różnicę w grupie eksperymentalnej tylko przy wartości $p = 0,005$. Nastąpił znaczny wzrost skurczowego ciśnienia tętniczego u badanych w grupie eksperymentalnej (Tabela 3). W każdej grupie, porównując początkowy i rozkurczowy BP pacjentów po wypisie, zauważono marginalnie znaczącą różnicę w grupie eksperymentalnej o wartości $p = 0,09$. Nastąpił nieznaczny wzrost rozkurczowego ciśnienia tętniczego u badanych w grupie eksperymentalnej (Tabela 4).
Tabela 3. Porównanie początkowego i po wypisie skurczowego BP pacjentów między dwiema grupami

Skurczowe BP

Grupy

Wartość P.

Kontrola (n = 18)

Eksperymentalny (n = 18)

Inicjał

Średni zakres + / „SD

102,78 + / "11,28 90 - 12

93,89 + / "9,16 80 - 110

0,01 (S) (t "test)

Po zwolnieniu

Średni zakres + / „SD

101,94 + / „9,26 90” 120

100,89 + / "12,37 90-130

0,77 (NS) (test „t”)

Wartość P.

0,70 (NS)

0,005 (S)

„9”

Tabela 4. Porównanie początkowego i po wypisie rozkurczowego ciśnienia tętniczego pacjentów między dwiema grupami

Rozkurczowe BP
Grupy
Wartość P.
Kontrola (n = 18)
Eksperymentalny (n = 18)
Inicjał
Średni zakres + / „SD
68,33 + / "8,58 60 - 80
62,78 + / "8,26 50 - 80
0,06 (NS) (test „t”)
Po zwolnieniu
Średni zakres + / „SD
68,33 + / "6,18 60" 80
65,56 + / "7,84 60 - 80
0,24 (NS) (test „t”)
Wartość P.
1,00 (NS)
0,09 (NS)

Tabela 5. Porównanie HCT początkowego i po wypisaniu pacjentów między dwiema grupami

HCT
Grupy
Wartość P.
Kontrola (n = 18)
Eksperymentalny (n = 18)
Inicjał
Średni zakres + / „SD
0,421 + / "0,059 0,350 - 0,540
62,78 + / "8,26 50 - 80
0,06 (NS) (test „t”)
Po zwolnieniu
Średni zakres + / „SD
68,33 + / "6,18 60" 80
65,56 + / "7,84 60 - 80
0,24 (NS) (test „t”)
Wartość P.
1,00 (NS)

0,09 (NS)

Tabela 5.1 Porównanie średniej HCT, różnicy w HCT i normalizacji dziennej w HCT zostało osiągnięte między dwiema grupami

Grupy

Wartość P.

Kontrola (n = 18)

Eksperymentalny (n = 18)

0,405 + / "0,037 0,355 - 0,486

Średni HCT

Średni zakres + / „SD

Różnica w HCT Średnia + / „SD 0,045 + /" 0,039

Dzień normalizowany

0,379 + / „0,045 0,285 - 0,477 0,043 + /" 0,056

2,16 + / "1,88 0–6

0,06 (NS) (test „t”)

0,90 (NS) (test „t”)

0,04 (S) (t "test)

Średnia + / „SD + /" 2,98

Zakres 0 "10 Wartość ujemna oznacza wzrost wartości po rozładowaniu

„10”

W każdej grupie, porównując początkową i HCT subiektów po wypisie, zauważono istotną różnicę w grupie kontrolnej i eksperymetalnej z wartościami p odpowiednio <0,001 i 0,004 (Tabela 5). Wystąpiła marginalnie istotna różnica w średnim HCT pacjentów między dwiema grupami (p = 0,06). Porównując średnią normalizację dnia HCT między dwiema grupami, zauważono istotną różnicę, o czym świadczy wartość p 0,04. Średni dzień, w którym grupa eksperymetalna miała normalny HCT był znacznie krótszy niż w grupie kontrolnej (p = 0,04), średnio odpowiednio 3,94 i 2,16 dnia odpowiednio dla grupy kontrolnej i eksperymetalnej (Tabela 5.1).

Tabela 6. Porównanie początkowej i po wypisie liczby płytek krwi między podmiotami między dwiema grupami

Liczba płytek krwi

Grupy

Wartość P.

Kontrola (n = 18)

Eksperymentalny (n = 18)

Inicjał

Średni zakres + / „SD

103,83 + / "26,33 36 - 139

106,72 + / "50,66 35 - 222

0,83 (NS) (test „t”)

Po zwolnieniu

Średni zakres + / „SD

213,11 + / "65,37 104 - 369

215,94 + / "83,62 125 - 423

0,91 (NS) (test „t”)

Wartość P.

<0,0001 (S)

<0,0001 (S)

Tabela 6.1. Porównanie średniej liczby płytek krwi, różnicy w liczbie płytek krwi i normalizacji dnia w liczbie płytek krwi pomiędzy dwiema grupami

Grupy

Wartość P.

Kontrola (n = 18)

Eksperymentalny (n = 18)

Średnia Pltlt Ct.

Średni zakres + / „SD

126,88 + / "25,27 90-170

142,5 + / "35,01 70 – 210

W każdej grupie, porównując początkową i liczbę płytek krwi u pacjentów po wypisie, zauważono istotną różnicę w grupie kontrolnej i eksperymetalnej z wartościami p <0,0001 dla obu (Tabela 6). Nie było znaczącej różnicy w średniej liczbie płytek krwi i różnicy w liczbie płytek krwi od początku aż do momentu wypisu pacjentów między dwiema grupami, jak

pokazują odpowiednio wartości $p = 0,13$ i $0,99$. Zauważono jednak istotną różnicę w średnim dniu normalizacji, o czym świadczy wartość $p = 0,01$. Średni dzień, w którym grupa eksperymentalna miała prawidłową liczbę płytek krwi, był znacznie krótszy niż w grupie kontrolnej ($p = 0,01$), średnio odpowiednio 5,50 i 3,33 dnia odpowiednio dla grupy kontrolnej i eksperymentalnej (Tabela 6.1).

DYSKUSJA

DHF nadal jest jedną z budzących obawy chorób, ponieważ może mieć śmiertelne konsekwencje. Prezentacja może obejmować zarówno zwykłą chorobę grypową, jak i jawny szok. Obecnie nie oferuje się żadnego leczenia, a jedynie proste środki wspomagające, takie jak płyny i produkty krwiopochodne. W tym artykule mogliśmy przedstawić, że pacjenci z DHF stopnia II mogą być odwrócone wcześniej, gdy podano probiotyki.

Przegląd literatury nie przyniósł żadnych badań ani badań dotyczących stosowania probiotyków w DHF. To pierwsze badanie przeprowadzone w celu wykazania, czy probiotyki będą miały jakikolwiek wpływ na tę chorobę.

Badanie to wykazało, że pacjenci z DHF klasy II otrzymujący probiotyki OMX w kapsułkach nie postępowali w kierunku dalszego pogorszenia ich stanu i byli w stanie mieć wcześniejszą normalizację hematokrytu i liczby płytek krwi.

Zauważono również, że temperatura normalizuje się wcześniej w grupie kapsułek probiotyków OMX o około 2 dni. Ta pozytywna zmiana może również prowadzić do lepszego obrazu klinicznego i spowolnienia sygnału procesu zapalnego.

Jeśli chodzi o wpływ na ciśnienie krwi, klinicznie nie stwierdzono istotnego wpływu w obu grupach. Chociaż ciśnienie krwi jest ważnym narzędziem klinicznym do oceny stabilności klinicznej pacjentów, stosowanie probiotyków nie ma na nie wpływu.

„12”

Stężenie hem, objawiające się podwyższonym hematokrytem, jest przejawem utraty osocza z przedziału naczyniowego. Trombocytopenia jest odzwierciedleniem zaburzenia w homeostazie. Prawdopodobnie są one spowodowane proliferacją i uwalnianiem prozapalnych cytokin, takich jak interferon gamma i czynnik martwicy nowotworów alfa 8

U pacjentów, u których występuje DHF, najbardziej obawianymi następstwami byłyby dalsze wycieki z osocza i małopłytkowość, które mogą prowadzić do wstrząsu i śmierci. Probiotyki w tym badaniu wykazały, że może odwrócić ten trend poprzez normalizację hematokrytu i zwiększenie liczby płytek krwi odpowiednio wcześniej, odpowiednio o 1,7 i 2,2 dnia. Probiotyki mogą stabilizować florę jelitową poprzez zatrzymanie kaskady cytokin poprzez obniżenie poziomu komórek zapalnych i cytokin. Prawdopodobnie kontroluje także przerastanie potencjalnie patogennych mikroorganizmów pochodzenia wirusowego poprzez antagonizowanie szkodliwych lub niepożądanych mikroorganizmów, eliminuje toksyny i stymuluje jelitową obronę immunologiczną.

Przy tendencji hematokrytu do wcześniejszej normalizacji płytek krwi o 0,5 dnia, może to wskazywać, że ten hematokryt wyzdrowieje najpierw po zatkaniu wycieków naczyniowych, a

zatem po wyleczeniu zaburzeń naczyniowych. Może to oznaczać wzajemne oddziaływanie tych dwóch czynników, przy czym jeden z nich prowadzi do powrotu do zdrowia lub pogorszenia.

Gdy pacjenci wracają wcześniej, nawet o dwa dni, oznaczałoby to wcześniejsze przywrócenie dobrego stanu klinicznego pacjentów, z poprawą apetytu, szybszym wypisem z opieki medycznej, a zatem mniejszym zużyciem zasobów.

Możemy zatem wnioskować z tego badania, że pacjenci z DHF stopnia II mogą odnieść korzyści z probiotyków we wczesnej fazie choroby i że można zapobiec dalszemu postępowi do DHF stopnia 3 lub 4. Ponadto był tolerowany przez pacjentów i nie wykazywał żadnych niepożądanych skutków ubocznych. W odniesieniu do innych parametrów (takich jak BP), w których nie odnotowano istotności statystycznej, może to być efekt ograniczonej wielkości próby, a zatem uzasadniałby dalsze badanie .

REFERENCES

1. World Health Organization. 1999. Regional Guidelines on Dengue/DHF Prevention and Control.
2. Guzman, MG, Kouri, G. Dengue: an update. *Lancet Infect Dis* 2002; 2:33-42.
3. Halstead SB, O'Rourke EJ. Dengue viruses and mononuclear phagocytes. I. Infection enhancement by non-neutralizing antibody. *J Exp Med* 1977; 146:201-17.
4. Halstead SB. In vivo enhancement of dengue virus infection in rhesus monkeys by passively transferred antibody. *J Infect Dis* 1979; 140:527-33.
5. Idem> Immune enhancement of viral infection. *Prog Allergy* 1982;31:301-64.
6. Wilder-Smith, A, Schwartz, E. Dengue in Travelers. *N Engl J Med* 2005; 353:924-32.
7. Pang, T, Cardoso MJ, Guzman, MG. Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Immunol Cell Biol* 2007; 85 (1):43-5.
8. Chakravati A, Kumaria R. Circulating levels of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in patients with dengue and dengue hemorrhagic fever during an outbreak. *Indian J Med Res* 2006 Jan; 123 (1):25-30.
9. WHO/FAO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina, 2001.

10. Chow JM. Probiotics and probiotics: a brief overview. Jnl of Rnl Nutri 2002: 12.
11. Kopp Hoolihan, L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. Jnl Am Diet Assoc. 2001; 101:229-238.
12. Bengmark S. Colonic Food: Pre and probiotics. Am Jnl Gastro. 2000; 95 Suppl (1):S7.
13. Rolfe R. The role of probiotics cultures in the control of gastrointestinal health. J Nutr. 2000; 130:396S-402S.
2. Guzman, MG, Kouri, G. Dengue: aktualizacja. Lancet Infec Dis 2002; 2:33-42.
3. Halstead SB, O'Rourke EJ. Wirusy dengi i fagocyty jednojądrzaste. I. Zwiększenie zakażenia przez nie „neutralizujące przeciwciała. J Exp Med 1977; 146, 201-217.
4. Halstead SB. Ulepszenie in vivo