

<https://doi.org/10.17116/stomat20199803142>

Клинико-диагностическое значение хромато-масс-спектрометрии при медикаментозном остеонекрозе челюстей

Д.М.Н. Т.П. ИВАНЮШКО¹, Д.М.Н. А.В. СИМОНОВА², К.М.Н. К.А. ПОЛЯКОВ¹, К.М.Н. М.А. КУНИЖЕВА¹¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия;²Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

При медикаментозном остеонекрозе челюстей, развившемся на фоне приема бисфосфонатов, назначаемых по поводу метастазов онкологическим больным, исследовали микрофлору полости рта методом хромато-масс-спектрометрии (ХМС). Метод ХМС может быть использован как дополнение к основным методам диагностики в сложных клинических случаях и при неэффективности лечения.

Ключевые слова: медикаментозный остеонекроз челюстей, хромато-масс-спектрометрия, хирургическое лечение.

Diagnostic value of chromatography-mass spectrometry in patients with drug-induced jaws osteonecrosis

T.P. IVANYUSHKO¹, A.V. SIMONOVA², K.A. POLYAKOV¹, M.A. KUNIZHEVA¹¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; ²Moscow Regional Research Clinical Institute named after M.F. Vladimirovsky, Moscow, Russia

In patients with drug-induced jaw osteonecrosis which developed in cancer patients due to administration of bisphosphonates for metastases, the microflora of the oral cavity was examined by chromatography-mass spectrometry (HMS). The method of HMS can be used as an additional method of diagnostics in complex clinical cases with ineffective treatment.

Keywords: drug-induced jaw osteonecrosis, chromatography-mass spectrometry, surgical treatment.

Для корреспонденции: Иванюшко Татьяна Петровна — д.м.н., доцент кафедры челюстно-лицевой хирургии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»; тел.: +7(916)230-1763; e-mail: ivanushko-tatyana@yandex.ru

Медикаментозный остеонекроз челюстей (МОН), связанный с приемом бисфосфонатов, назначаемых по поводу метастазов онкологическим больным, является актуальной проблемой челюстно-лицевой хирургии. Патогенез МОН сложен и до конца не изучен. При данном процессе нарушаются ремоделирование костной ткани и ее минерализация, возникает дисбаланс между активностью остеокластов и остеобластов, что в дополнение к другим факторам риска, таким как химиотерапия, может способствовать развитию остеонекроза [1–4].

Исследование состава микрофлоры у пациентов с МОН связано с подготовкой к хирургическому лечению, так как множественные курсы антибиотикотерапии часто малоэффективны, а процесс остеонекроза прогрессирует [5].

В настоящее время ведется стратегический поиск способов предотвращения развития МОН [6–9]. К важным мерам снижения риска его развития относят профилактику образования зубной микробной биопленки [10]. В данной работе впервые при МОН применен новый метод диагностики — хромато-масс-спектрометрия (ХМС), основанный на количественном определении непосредственно в клиническом материале маркеров микроорганизмов: жирных кислот, альдегидов, спиртов [11]. ХМС — высокочувствительный метод с широким диагностическим спектром.

Изучение широкого спектра микроорганизмов дает новые возможности в диагностике МОН и повышении эффективности индивидуального лечения.

Цель исследования — оценка метода ХМС в улучшении качества диагностики, лечения и профилактики МОН челюстей.

Обследованы 12 пациентов с МОН с применением ХМС мазка со слизистой в области некроза. Определяли наличие и содержание маркеров 57 микроорганизмов: кокков, бацилл, актинобактерий, энтеробактерий, грамотрицательных палочек, вирусов, грибов. Метод ХМС разрешен для диагностического использования с 2010 г. (разрешение на применение новой медицинской технологии ФС №2010/038 от 24.02.20 выдано Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития).

Материал и методы

Среди обследованных лиц было 7 мужчин и 5 женщин. Возраст пациентов колебался от 49 до 77 лет. Обследование проведено после комплексного лечения пациентов по поводу онкологического заболевания (рак предстательной железы, рак молочной железы): оперативное вмешательство и курсы химиотерапии в связи с наличием метастазов. Пациенты принимали бисфосфонаты — препарат Зомета (золедроновая кислота) в инъекциях в течение 1,5–3 лет.

При госпитализации в клинику челюстно-лицевой хирургии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова больные предъявляли жалобы на боли и наличие в полости рта (ПР) свищей с гнойным отделяемым, которые возникли после удаления зубов.

В ПР у всех больных в области удаленного зуба имелись участки некроза слизистой оболочки, оголения костной ткани альвеолярного отростка челюсти: отмечались гнойное отделяемое из свищевых ходов с ихорозным запахом, неудовлетворительное состояние гигиены и санации ПР. На компьютерной томограмме (КТ) имелись множественные очаги деструкции, остеопороз, резорбция костной ткани разной распространенности. Больные МОН, с учетом тяжести клинических проявлений остеонекроза (степень распространения процесса), были разделены на две группы. Пациенты с ограниченным поражением костной ткани челюсти, которые обратились впервые, составили 1-ю группу ($n=8$). Пациенты с обширным поражением костной ткани челюсти, которые поступили с рецидивом остеонекроза после проведенного ранее хирургического лечения, составили 2-ю группу ($n=4$).

Лечение проводилось в 2 этапа. 1-й этап: в течение 7 дней до операции ежедневная обработка ран в полости рта 0,05% раствором хлоргексидина 1–2 раза в день; антибактериальная терапия (клиндамицин — 150 мг 4 раза в день). 2-й этап: проводились операции — остеоэкрэктомии — с ушиванием раны в ПР наглухо, послойно; антибактериальная терапия в послеоперационном периоде (цефтриаксон — 1,0 г 2 раза в день внутримышечно 7 дней); ежедневный туалет раны в ПР; госпитализация — до 7 сут после операции; снятие швов амбулаторно.

При статистической обработке данных пользовались пакетом программы SPSS Statistics версии 17,0 («Inc.», Чикаго, США). Для оценки тенденции количественных признаков выбрали медиану, для интервальной оценки — 5–95 процентиля, так как исследуемые выборки не подчиняются закону нормального распределения.

Результаты и обсуждение

У больных с МОН определяли суммарную концентрацию микроорганизмов в зоне остеонекроза, которая у пациентов 1-й группы (МОН легкой степени) была в 2–2,5 раза выше, чем в норме, а у пациентов 2-й группы (МОН тяжелой степени) — в 4–7 раз (табл. 1). У пациентов 2-й группы суммарный уровень микроорганизмов в зоне остео-некроза был в 3,5 раза выше, чем у пациентов 1-й группы.

Таблица 1. Суммарный уровень микроорганизмов у больных с МОН

Группа	$M_0(5; 95)$ (10^5 клеток/грамм)
Здоровые лица ($n=10$)	6827 (5234; 8311)
1-я группа ($n=8$)	
до лечения	13 215 (12 977; 15 566)*
после лечения	9511 (6732; 11 188)
2-я группа ($n=4$)	
до лечения	48 253 (26 442; 51 211)**
после лечения	19 778 (13 967; 24 019)

Примечание. * — достоверность различий со здоровыми лицами; ** — различия между группами ($p<0,05$).

После хирургического лечения суммарный уровень микроорганизмов в зоне остео-некроза в 1-й группе снизился в среднем в 1,4 раза, во 2-й группе в — 3,5 раза. В целом в обеих группах после хирургического лечения у всех больных суммарный уровень микроорганизмов имел тенденцию к снижению, но не достигал нормы.

У больных с МОН был определен уровень плазмологена. В норме плазмологен вырабатывается «полезной» микро-биотой: бифидобактериями, лактобактериями, условно-патогенными микроорганизмами. У пациентов с МОН этот показатель был ниже нормы (норма = 50 мкг/мл), у больных 1-й группы — был в 2,5–22 раза [8,9 (2,32–19,7) мкг/мл], у больных 2-й — в 3,5–6,0 раза [14,06 (8,45; 44,16) мкг/мл].

После хирургического лечения на 7–10-е сутки уровень плазмологена в обеих группах не поднимался до нормальных значений. В 1-й группе — 11,6 (4,74; 24,26) мкг/мл, во 2-й — 22,3 (18,97; 42,78) мкг/мл.

Результаты исследования состава маркеров микро-флоры в зоне остео-некроза у больных с МОН представле-ны в табл. 2. Маркеры аэробной микрофлоры были пред-ставлены в основном *Staphylococcus aureus*, они превыша-ли показатели нормы в 1-й группе в 19–28 раз, а во 2-й — в 13–24 раза. Более значимыми были показатели марке-ров анаэробной микрофлоры, уровень которых в 2–7 раз превышал показатели нормы у больных 1-й группы и в 4–40 раз — 2-й. Различия между группами были достовер-ны по показателям *Clostridium* spp. (группа *C. tetani*), *C. per-fragrans*, *C. ramosum*, *Eubacterium* spp., *Ruminococcus* spp.

В обеих группах были выделены маркеры представи-телей анаэробной микрофлоры, отсутствующие в норме: *Blautia coccoides*, *C. difficile*, *Propionibacterium acnes*. Марке-ры актинобактерий были представлены *Actinomyces visco-sus*, *Nocardia* spp., *N. asteroides*, содержание которых было по-вышено в 3–7 раз в 1-й группе и в 11–50 раз во 2-й. Во 2-й группе показатели были выше и достоверно отличались от показателей 1-й группы.

Только у больных 2-й группы были выявлены марке-ры представителей энтеробактерий — *Enterobacteriaceae* spp. (*E. coli*) и грамотрицательных палочек — *Kingella* spp., пре-вышающие показатели нормы в 75 и 18 раз.

Маркеры грибов рода *Aspergillus* spp., *Candida* spp., кам-пестерол у больных 1-й группы были в пределах нормаль-ных значений, во 2-й группе они были превышены в 2,5–16 раз.

У больных МОН 1-й и 2-й групп были выявлены мар-керы вирусов *Herpes* spp., которые в норме отсутствуют. Маркеры вируса Эпштейна–Барр в 1-й и во 2-й группах были превышены по сравнению с нормой соответственно в 25–80 раз. Показатели 2-й группы превышали показате-ли 1-й группы в 3,5 раза.

Уровень маркеров патогенных и условно-патогенных микроорганизмов на 7–10-е сутки после хирургического лечения у больных с МОН изменялся (см. табл. 2). В 1-й группе (проведена блоковая резекция нижней челюсти) уровень маркеров микрофлоры снижался по сравнению с исходными значениями, но не достигал нормы и оставался повышенным. Во 2-й группе (проведение радикальной остеоэкрэктомии) отмечалось большее изменение содер-жания маркеров микроорганизмов, уровень большинства из них был сниженным или они отсутствовали.

Современный метод обследования — ХМС — у паци-ентов с МОН может быть рекомендован для диагностики

Таблица 2. Уровень маркеров патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в зависимости от тяжести течения МОН до и после лечения

Микроорганизм	Здоровые лица (n=10)	Больные МОН; 1-я группа (n=8)		Больные МОН; 2-я группа (n=4)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Кокки, бациллы, 10 ⁵ клеток/грамм			M ₀ (5; 95)		
<i>Streptococcus mutans</i> (анаэробные)	114 (55; 146)	239 (0; 267)	208 (25; 294)	616 (584; 721)*	589 (209; 623)
<i>Staphylococcus aureus</i>	30 (25; 46)	586 (106; 787)	251 (232; 350)	745 (419; 853)	1486 (214; 1678)**
Анаэробы 10 ⁵ клеток/грамм					
<i>Blautia coccooides</i>	0	72 (0; 142)	18 (4; 46)	55 (4; 146)	67 (0; 82)
<i>Clostridium</i> spp. (группа <i>C. tetani</i>)	245 (220; 301)	692 (190; 754)	598 (217; 612)	1 773 (654; 1885)*	326 (92; 400)**
<i>Clostridium difficile</i>	0	157 (53; 223)	62 (55; 132)	185 (111; 230)	64 (45; 141)
<i>Cl. histolyticum/Str. pneumonia</i>	50 (25; 55)	190 (0; 284)	94 (0; 186)	278 (29; 359)	678 (7; 720)**
<i>Clostridium perfringens</i>	84 (70; 95)	217 (12; 267)	1123 (867; 1302)**	3331 (414; 3452)*	397 (251; 467)**
<i>Clostridium ramosum</i>	992 (820; 1200)	3617 (1156; 6537)	1292 (1050; 1794)**	13 229 (2478; 15 123)*	6456 (1879; 7233)
<i>Eubacterium</i> spp.	565 (450; 710)	1096 (1012; 2710)	736 (567; 1474)	2184 (1477; 3795)*	1367 (960; 2835)
<i>Eggerthella lenta</i>	40 (20; 65)	222 (32; 344)	85 (55; 275)	253 (59; 347)	8 (6; 203)**
<i>Prevotella</i> spp.	10 (6; 12)	42 (0; 49)	0 (0; 32)	59 (4; 80)	7 (5; 45)
<i>Propionibacterium acnes</i>	44 (30; 55)	0 (0; 47)	152 (0; 167)	451 (60; 573)	58 (23; 89)**
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	243 (180; 301)	1487 (448; 1603)	758 (132; 950)	2249 (968; 3128)	860 (259; 1080)
<i>Ruminococcus</i> spp.	114 (86; 180)	757 (273; 862)	593 (201; 714)	1759 (419; 1903)*	17 (9; 68)**
Актинобактерии 10 ⁵ клеток/грамм					
<i>Actinomyces viscosus</i>	113 (78; 155)	308 (279; 407)	429 (41; 650)	1272 (1181; 1534)*	736 (620; 912)
<i>Nocardia</i> spp.	94 (76; 125)	627 (286; 755)	477 (156; 612)	4657 (501; 4984)*	9 (7; 69)**
<i>Nocardia asteroides</i>	40 (25; 49)	278 (0; 366)	390 (139; 423)	1158 (275; 1312)*	0 (0; 286)
Энтеробактерии 10 ⁵ клеток/грамм					
<i>Enterobacteriaceae</i> spp. (<i>E. coli</i> и др.)	7 (5; 9)	0	0	522 (315; 580)	0
Грамотрицательные палочки 10 ⁵ клеток/грамм					
<i>Kingella</i> spp.	6 (3; 8)	0 (0; 17)	37 (24; 45)	110 (20; 117)	27 (19; 29)
Грибы, дрожжи 10 ⁵ клеток/грамм					
<i>Aspergillus</i> spp.	110 (76; 138)	286 (130; 314)	597 (251; 617)	1772 (620; 1988)*	36 (2; 41)**
<i>Candida</i> spp.	520 (354; 623)	476 (91; 567)	365 (267; 522)	1313 (481; 1821)*	214 (187; 251)**
Кампестерол	115 (81; 143)	138 (26; 246)	305 (180; 368)	905 (254; 1202)*	22 (17; 38)**
Вирусы 10 ⁵ клеток/грамм					
<i>Herpes</i> spp.	0 (0; 10)	110 (59; 229)	26 (8; 42)	76 (33; 134)	0 (0; 9)
Эпштейна—Барр вирус	7 (3; 11)	172 (7; 297)	196 (126; 279)	582 (144; 782)*	6 (5; 7)

Примечание. * — достоверность различий показателей в группах; ** — достоверность различий показателей после лечения; p<0,05.

в сложных клинических случаях при прогнозе осложнений, а также при выборе антибиотикотерапии и определении эффективности лечения. Данная патология сопровождается наличием множества бактерий в зоне остеонекроза челюсти.

Хирургическое лечение — остеонекрэктомия — способствовала эффективной санации и возможности заме-

щения послеоперационного дефекта. Однако кардинального изменения состава микрофлоры не происходило, что в отдаленный период может привести к рецидивам и повторным операциям.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Hesse B, Langer M, Varga P, Pacureanu A, Dong P, Schrof S, Männicke N, Suhonen H, Olivier C, Maurer P, Kazakia GJ, Raum K, Peyrin F. Alterations of mass density and 3D osteocyte lacunar properties in bisphosphonate-related osteonecrotic human jaw bone, a synchrotron μ CT study. *PLoS One*. 2014;9(2):e88481. eCollection 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088481>
- Córdova LA, Guilbaud F, Amiaud J, Battaglia S, Charrier C, Lezot F, Piot B, Redini F, Heymann D. Severe compromise of preosteoblasts in a surgical mouse model of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *J Craniomaxillofac Surg*. 2016;44(9):1387-1394. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.07.015>
- Akita Y, Kuroshima S, Nakajima K, Hayano H, Kanai R, Sasaki M, Sawase T. Effect of anti-angiogenesis induced by chemotherapeutic monotherapy, chemotherapeutic/bisphosphonate combination therapy and anti-VEGF-FA mAb therapy on tooth extraction socket healing in mice. *J Bone Miner Metab*. 2017. <https://doi.org/10.1007/s00774-017-0872-1>
- García-de Marcos JA, Rey-Biel J. Submental perforator flap for soft-tissue reconstruction in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Craniomaxillofac Trauma Reconstr*. 2017;10(4):299-305. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1593472>

5. De Bruyn L, Coropciuc R, Coucke W, Politis C. Microbial population changes in patients with medication-related osteonecrosis of the jaw treated with systemic antibiotics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018; 125(3):268-275.
<https://doi.org/10.1016/j.oooo.2017.11.022>
6. Иванюшко Т.П., Поляков К.А., Медведев Ю.А., Шаманаев С.В., Трофимов Д.Ю., Абрамов Д.Д., Балькин Р.А. Исследование условно-патогенных микроорганизмов у больных с бисфосфонатным остеонекрозом челюстей. *Стоматология.* 2016;95:1:44-48. [Ivanyushko TP, Polyakov KA, Medvedev YuA, Shamaev SV, Trofimov DYu, Abramov DD, Balykin RA. Investigation of conditionally pathogenic microorganisms in patients with bisphosphonate osteonecrosis of the jaws. *Stomatology.* 2016;95:1:44-48. (In Russ.)].
<https://doi.org/10.17116/stomat201695144-48>
7. Gupta S, Gupta H, Mandhyan D, Srivastava S. Bisphosphonates related osteonecrosis of the jaw. *Natl J Maxillofac Surg.* 2013;4(2):151-158.
<https://doi.org/10.4103/0975-5950.127643>
8. Kuroshima S, Al-Salihi Z, Yamashita J. Mouse anti-RANKL antibody delays oral wound healing and increases TRAP-positive mononuclear cells in bone marrow. *Clin Oral Investig.* 2016;20(4):727-736.
<https://doi.org/10.1007/s00784-015-1550-0>
9. Patel V, Mansi J, Ghosh S, Kwok J, Burke M, Reilly D, Nizarali N, Sproat C, Chia K. MRONJ risk of adjuvant bisphosphonates in early stage breast cancer. *Br Dent J.* 2018;224(2):74-79.
<https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.1039>
10. Kim DH, Lee JS, Pyo SW, Lee JH. Ascending facial necrotizing fasciitis in a patient taking a bisphosphonate. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017;75(2):317-321.
<https://doi.org/10.1016/j.joms.2016.08.012>
11. Осипов Г.А., Федосова Н.Ф., Лядов К.В. Количественный *in situ* микробиологический анализ по липидным маркерам в биологических жидкостях с использованием метода газовой хроматографии — масс-спектрометрии. *Здравоохранение и медицинские технологии.* 2007;5:20-23. [Osipov GA, Fedosova NF, Lyadov KV. Quantitative *in situ* microbiological analysis of lipid markers in biological fluids using the gas chromatography-mass spectrometry method. *Public Health and Medical Technologies.* 2007;5:20-23. (In Russ.)].

Поступила 22.05.18

Received 22.05.18