

Морозова И.Л., Войченко Н.В., Рыжковская Е.Л., Кузнецова Т.Е., Улащик В.С.

Обоснование использования низкочастотного ультразвука для ультрафонофореза хондроитина сульфата при артрите

Институт физиологии НАН Беларуси; 220072, Минск, ул. Академическая, 28

С целью разработки метода ультрафонофореза хондроитина сульфата *in vitro* изучено влияние низкочастотного ультразвука различных параметров на структуру, физико-химические свойства указанного хондропротектора. Установлено, что низкочастотный ультразвук терапевтических дозировок не изменяет нативных свойств хондроитина сульфата, что указывает на пригодность его для ультрафонофореза. На модели экспериментального зимозанового артрита выявлено, что ультрафонофорез хондроитина сульфата частично купирует воспалительный процесс, снижает отечность сустава, повышает функциональную активность клеток синовиальной оболочки и не повреждает хондроциты.

Ключевые слова: ультрафонофорез хондроитина сульфата; низкочастотный ультразвук; модель экспериментального зимозанового артрита.

Для цитирования: Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2014; 13 (6): 13—18.

Morozova I.L., Voichenko N.V., Ryzhkovskaya E.L., Kuznetsova T.E., Ulashchik V.S.

THE RATIONALE FOR THE APPLICATION OF LOW-FREQUENCY ULTRASOUND IN CHONDROITIN SULFATE ULTRAPHONOPHORESIS FOR THE TREATMENT OF ARTHRITIS

Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, 220072, Minsk, Republic of Belarus

The objective of the present study was to develop the method for *in vitro* chondroitin sulfate ultraphonophoresis based on the results of the study of low-frequency ultrasound on the structure and physicochemical properties of this chondroprotector. It was shown that the therapeutic doses of low-frequency ultrasound do not change the native properties of chondroitin sulfate which suggests the possibility of its application for ultraphonophoresis. The experiments on the model of zymosan-induced arthritis demonstrated that low-frequency ultrasound in chondroitin sulfate ultraphonophoresis not infrequently suppresses the inflammatory process, reduces articular oedema, and increases the functional activity of the synovial membrane cells without damaging chondrocytes.

Key words: chondroitin sulfate ultraphonophoresis; low-frequency ultrasound; model of experimental zymosan-induced arthritis.

Citation: Fizioterapiya, bal'neologiya i rehabilitatsiya. 2014; 13 (6): 13—18. (in Russ.)

Важную роль в функционировании организма играет опорно-двигательная система, одной из структурных единиц которой является сустав. Дегенеративные изменения в суставах происходят интенсивно при старении организма, а также при воздействии самых разнообразных повреждающих факторов [1—3]. Основным методом лечения патологических состояний такого рода является применение стероидных и нестероидных противовоспалительных средств, однако их использование может сопровождаться серьезными побочными эффектами [4—6]. Исследования некоторых авторов свидетельствуют о наличии выраженного терапевтического эффекта (купирование воспаления и восстановление структуры хрящевой ткани и функций суставов) такого лечебного физического фактора, как низкочастотный ультразвук (НУЗ), который, как и высокочастотный

ультразвук, оказывает противовоспалительное, обезболивающее, противоотечное действие [7—12]. Установлено, что ультразвуковые колебания низкой частоты стимулируют клеточную пролиферацию и продукцию протеогликанов в хондроцитах [7, 11, 13].

Основой реабилитационной терапии патологических состояний суставов является применение хондропротекторов — лекарственных препаратов, улучшающих метаболизм хряща и замедляющих его деструкцию и оказывающих противовоспалительное действие [14—17]. Хондроитина сульфат (ХС) является одним из компонентов экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани. У больных с артритами, остеоартрозами метаболизм ХС нарушен [2, 19—21]. Фармакокинетические исследования показали, что при пероральном приеме биодоступность хондропротективных препаратов составляет 13—15% ввиду больших размеров молекулы ХС, тогда как при наружном применении его биодоступность увеличивается до 20—40% [22]. Это делает актуальным наружное применение препаратов ХС в комплексном лечении заболеваний суставов.

Для корреспонденции: Улащик Владимир Сергеевич, biblio@fizio.bas-net.by.

For correspondence: Ulashchik Vladimir, biblio@fizio.bas-net.by.

Целью настоящей работы явилось изучение действия НУЗ разных параметров на структуру и функцию ХС с целью обоснования его использования для ультрафонофореза при артрите.

Материалы и методы

Как известно, разработке и внедрению в практику физико-фармакологических методов (электрофорез, ультрафонофорез, магнитофорез и др.) предшествует изучение влияния физического фактора на структуру и фармакологические свойства лекарственного вещества. В свете этих требований и выполнялась настоящая работа.

В серии экспериментов, проводимых *in vitro*, исследовалось влияние НУЗ (частотой 22 кГц) различной интенсивности (0,4, 0,6 и 1 Вт/см²) при непрерывном режиме воздействия и времени экспозиции — 10 мин (с применением аппарата "Тюльпан", разработанного в Беларуси) на структуру ХС. Использовалась контактная стабильная методика воздействия: излучатель устанавливался неподвижно в емкость с растворами различной концентрации ХС. Для оценки сохранности структуры препарата регистрировались спектры поглощения и флюоресценции до и сразу после озвучивания НУЗ указанных параметров. Запись спектров проводилась в Институте физиологии и Институте физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси на спектрофлуориметрах SOLAR CM 2203 (Беларусь) и Hitachi (Япония). До и после озвучивания НУЗ также измеряли вязкость растворов ХС (с использованием капиллярного вискозиметра ВПЖ-3).

На животных (крысах) исследовалось влияние НУЗ на течение воспалительного процесса в голенопредплюсневом суставе. Модель экспериментального артрита создавали введением в полость сустава 1,5% раствора зимозана в объеме 0,2 мл. У всех сформированных 3 групп животных (контрольная и 2 опытные) вызывали артрит. В течение 4 сут оценивалась степень формирования воспалительного процесса: величина отека, визуальная оценка сустава, поведенческие особенности животных. Оценку внешних проявлений артрита проводили в баллах: 0 баллов — артрит отсутствует, 1 балл — слабый артрит, 2 балла — умеренный артрит, 3 балла — выраженный артрит [23].

Животным опытной группы № 1 проводили озвучивание НУЗ зоны патологии (голеностопного сустава), а животным опытной группы № 2 — ультрафонофорез хондропротектора (НУЗ частотой 22 кГц, интенсивностью 0,2 Вт/см² в течение 5 мин с нанесением мази "Хондроксид" объемом 1 см²) в течение 7 дней. По окончании курса процедур животных выводили из эксперимента путем декапитации после наркотизирования и осуществляли забор материала для морфологического исследования. Для этого отбирали образцы всех компонентов тканей сустава в виде суставного блока и приготавливали криостатные срезы толщиной 8—10 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином и нитросиним тетразолием и анализировали с использованием светового микроскопа. Для документирования данных производился перенос изображения с гистологических препаратов на

электронные носители при помощи установки, состоящей из цифровой фотокамеры и персонального компьютера.

Активность ферментов, характеризующих метаболическую активность клеток, сукцинат- и лактатдегидрогеназу (СДГ и ЛДГ), определяли тетразолиевым методом по методике Лойда. Активность ферментов оценивали на основании определения оптической плотности продукта реакции в цитоплазме клеток с помощью компьютерной программы обработки данных Image J, выражая результаты в условных единицах (у.е.) оптической плотности, учитывая по 100 клеток в каждом из 5 срезов. Изучение микропрепаратов, морфометрию и изготовление микрофотографий проводили с помощью светового микроскопа MPV-2 с программным обеспечением и компьютером (производитель "Leitz", Германия).

Статистическая обработка проводилась методами вариационной статистики с вычислением средней арифметической (M) и ее ошибки (m), коэффициента достоверности Стьюдента (t), вероятности достоверности сравниваемых величин (p). Различия рассматривались как достоверные при $p < 0,05$. Расчеты и графическое оформление проводили с использованием программы Microsoft Excel [24].

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования с целью оценки структурной устойчивости препарата к ультразвуку изучены оптические свойства ХС, для чего проводилась запись его спектров поглощения и флюоресценции.

Электронные спектры поглощения исследуемого ХС до и после воздействия НУЗ представлены на рис. 1.

После озвучивания раствора ХС (0,3% раствор) НУЗ частотой 22 кГц и интенсивностью 0,4 и 0,6 Вт/см² не выявлено существенных различий в характере спектра и максимумов поглощения, что свиде-

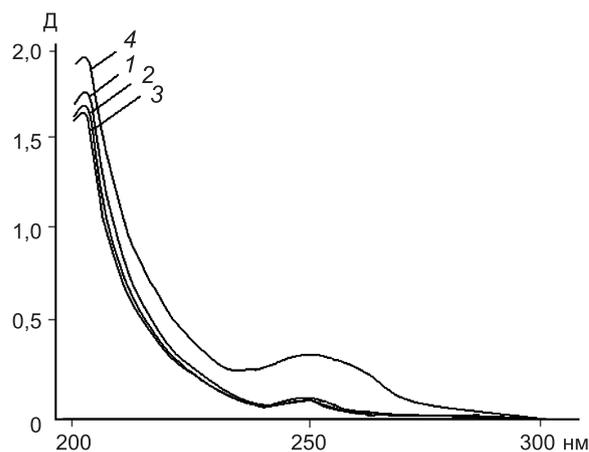


Рис. 1. Спектры поглощения ХС.

1 — 0,3% нативного раствора; 2 — после озвучивания НУЗ частотой 22 кГц, с интенсивностью 0,4 Вт/см²; 3 — с интенсивностью 0,6 Вт/см²; 4 — с интенсивностью 1 Вт/см².

тельствует об отсутствии изменений структуры ХС под действием УЗ малой и средней интенсивности.

Спектры поглощения ХС имеют два максимума поглощения в коротковолновой УФ-области, сохраняющиеся и при воздействии УЗ интенсивностью 0,4 и 0,6 Вт/см². При увеличении интенсивности озвучивания до 1 Вт/см² наблюдается изменение характера спектра поглощения в виде небольшого повышения оптической плотности раствора при сохранении структуры спектра поглощения. Наряду со спектрами поглощения нами регистрировался и спектр флуоресценции ХС до и после озвучивания.

Как известно, спектр флуоресценции сдвинут относительно спектра поглощения в сторону длинных волн. Длина волны возбуждающего света обычно выбирается равной длине волны максимума спектра поглощения. В конкретном случае (см. рис. 1) она равнялась 265 нм. Спектры флуоресценции раствора ХС нативного и обработанного УЗ терапевтических параметров были идентичны. Это подтверждает сохранение структуры хондропротекторного препарата при воздействии на него УЗ изученных терапевтических интенсивностей и указывает на возможность его использования для ультрафонофореза.

С целью выяснения сохраняются ли нативные свойства хондропротектора ХС после действия НУЗ дополнительно проведена оценка изменения вязкости растворов ХС различных концентраций до и после озвучивания. Учитывая тот факт, что в клинической практике используются препараты, содержащие в своем составе от 1 до 10% ХС, проведено исследование растворов ХС с концентрациями 1, 5 и 10%. С помощью капиллярного вискозиметра ВПЖ-3 измерялась вязкость данных растворов ХС до и после озвучивания. Каждое исследование повторялось 3 раза. Всего сделано 60 измерений. Плотность растворов ХС измеряли ареометрами, и она составила для 1, 5 и 10% растворов соответственно 1,001, 0,995 и 0,994 кг/м³. Расчет вязкости проводили по формуле: $\eta = \kappa \cdot t \cdot d$, где κ — коэффициент вискозиметра (равен 1,666); t — время течения жидкости; d — удельная плотность раствора в г/см². Усредненные данные соответствующих измерений приведены в табл. 1.

Вязкость 1% раствора ХС после воздействия НУЗ (0,4 Вт/см²) снижалась на 10,8% относительно исходных данных, 5% раствора — на 6,7% и 10% раствора — на 1,8% соответственно, а при увеличении интенсивности НУЗ до 1 Вт/см² изменения составили для 1% раствора — 7,1%, для 5% раствора — 5,95% и 10% раствора — 0,65%.

В приведенных данных обращают на себя внимание следующие моменты. Во-первых, во всех опытах озвучивание растворов ХС различных концентраций сопровождалось тенденцией ($p > 0,05$) к уменьшению их вязкости. Во-вторых, уменьшение вязкости растворов ХС весьма своеобразно зависело от интенсивности ультразвука: оно было несколько большим при использовании более низкой (0,4 Вт/см²) дозировки физического фактора. Это указывает на неодинаковый характер происходящих сдвигов в растворе ХС под влиянием УЗ различных терапевтических интенсивностей. Возможно, незначительные изменения вязкости в сторону ее увеличения либо снижения под влиянием НУЗ можно объяснить изменением подвижности связей макромолекул ХС, изменением их гидратации, распадом ассоциатов или образованием комплексов с различным числом молекул. В-третьих, данные спектрофотометрии озвученных растворов незначительно различаются с результатами вискозиметрических исследований: спектры поглощения препарата изменились только после озвучивания при интенсивности 1 Вт/см², в то время как вязкость его растворов больше уменьшалась при использовании ультразвука интенсивностью 0,4 Вт/см². Наблюдаемое некоторое расхождение спектрофотометрических и вискозиметрических данных, по-видимому, отражает различный характер выявляемых этими методами изменений в растворах ХС, подвергнутых воздействию НУЗ, и подчеркивает необходимость комплексного подхода (с использованием различных методов) к разработке условий фонофореза лекарственных веществ.

Сохранение оптических и гидродинамических свойств растворов ХС после действия ультразвуковых волн, свидетельствующее об отсутствии разрушения хондропротектора данным физическим фактором, указывает на пригодность данного препарата для лекарственного ультрафонофореза, т.е. для введения его в организм НУЗ терапевтических дозировок.

У животных с экспериментальным мимозановым артритом контрольной и опытных групп на 7-е сутки после введения мимозана в голенопредплюсневый сустав правой задней лапы отмечалась его выраженная отечность, развивался синовит, определялась деформация сустава, кожа над суставом имела красновато-синошный цвет (табл. 2). На 14-й день развития воспаления у животных контрольной группы отек в области правого голенопредплюсневого сустава увеличился, по-прежнему наблюдалась деформация сустава, у 30% животных сохранялись признаки гиперемии кожной поверхности вокруг больного сустава.

Таблица 1

Влияние озвучивания НУЗ (частота 22 кГц, интенсивность 0,4 и 1 Вт/см²) растворов ХС на их вязкость

Концентрация раствора ХС, %	Время протекания раствора до озвучивания НУЗ, с	Время протекания раствора после озвучивания (0,4/1 Вт/см ²), с	Вязкость растворов ХС до озвучивания, мПа/с	Вязкость растворов ХС после озвучивания НУЗ (0,4/1 Вт/см ²), мПа/с
1	1,40 ± 0,03	1,29 ± 0,03/1,34 ± 0,04	2,41	2,15/2,24
5	2,99 ± 0,02	2,78 ± 0,05/2,81 ± 0,05	5,05	4,71/4,75
10	6,59 ± 0,07	6,43 ± 0,04/6,58 ± 0,06	11,3	11,10/11,34

Таблица 2

Характеристика артрита до и после применения НУЗ и фонофореза хондроитина сульфата

Показатель	Воздействие НУЗ (22 кГц; 0,2 Вт/см ²)		Фонофорез ХС (22 кГц; 0,2 Вт/см ²)	
	контрольная группа	опытная группа № 1	контрольная группа	опытная группа № 2
Оценка артрита на 7-е сутки, балл	1,5 ± 0,17	1,8 ± 0,20	1,6 ± 0,16	1,6 ± 0,2
Оценка артрита на 14-е сутки, балл	2,38 ± 0,18*	1,6 ± 0,24	2,04 ± 0,17*	1,3 ± 0,23*
Окружность сустава на 7-е сутки, см	3,22 ± 0,08	3,44 ± 0,09	3,28 ± 0,12	3,29 ± 0,08
Окружность сустава на 14-е сутки, см	3,78 ± 0,11*	3,24 ± 0,19	3,60 ± 0,08	3,07 ± 0,12

Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с 7-ми сутками.

У крыс опытной группы № 1, подвергшихся действию НУЗ, также сохранялись признаки воспалительной реакции, однако их выраженность была менее значительной — признаки гиперемии кожи у всех животных отсутствовали, отек сустава значительно уменьшился. Следует отметить, что у здоровых интактных крыс окружность как правого, так и левого суставов была одинакова и составляла $2,29 \pm 0,03$ см и к 14-му дню эксперимента равнялась $2,31 \pm 0,04$ см.

В контрольной группе воспалительный процесс в течение периода наблюдений продолжал нарастать, о чем свидетельствовало дальнейшее увеличение окружности сустава (на 14-е сутки развития артрита прирост составил 17,4%). В результате воздействия НУЗ окружность воспаленного сустава у животных опытной группы уменьшилась на 5,8% ($p > 0,05$) после 7 процедур.

У крыс опытной группы № 2, подвергшихся фонофорезу ХС, также сохранялись признаки воспалительной реакции, но их выраженность различалась: к 14-м суткам в контрольной группе показатели артрита по балльной системе увеличились на 27,5%, а в этой опытной — снизились на 18,75%. Окружность воспаленной конечности у первых возросла на 9,7%, тогда как у вторых снизилась на 6,7%.

На 14-й день развития воспаления в контрольной группе животных (сформирован артрит) регистрировались выраженные дегенеративно-дистрофические изменения во всех составных компонентах "синовиальной среды сустава": в суставной сумке, синовиальной оболочке, полости сустава и в суставном хряще. Синовиальная оболочка сустава была отечна, гиперемирована, гипертрофирована. В ней наблюдались пролиферация синовиоцитов, возрастание пространств между волокнами (рис. 2, а на 3-й стр. обложки). Воспалительный лейкоцитарный инфильтрат был виден во всех слоях и элементах "синовиальной среды сустава" (рис. 2, б на 3-й стр. обложки).

Деструктивные изменения хряща обнаруживались во всех слоях, имеющих нечеткие очертания и границы. В поверхностном слое, который был истончен и разволокнен, выявлялись уплощенные и одиночные хондроциты. В промежуточном слое встречались пустые лакуны, много клеток с пикнотизированными ядрами.

В суставном хряще, кроме хондроцитов с четкой структурой ядра и цитоплазмы, встречалось большое

количество измененных хрящевых клеток (рис. 3, а на 3-й стр. обложки). Нередко эти изменения сводились к цитолизу с явлениями лизиса как цитоплазмы, так и ядра хондроцита. При окраске по методу Лойда в цитоплазме клеток регистрировалась высокая активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) (рис. 3, б на 3-й стр. обложки).

Результатом действия НУЗ с частотой 22 кГц и интенсивностью 0,2 Вт/см² на воспаленный сустав явилось значимое визуальное уменьшение признаков воспаления (см. табл. 2). В синовиальной оболочке сустава отмечалось снижение объема лейкоцитарного инфильтрата. На гистологических препаратах в суставном хряще отмечена структурная гетерогенность хондроцитов, находящихся на разной стадии функциональной активности.

Указанное выше ультразвуковое воздействие благотворно сказывалось на обменных процессах в клетках синовиальной среды сустава, что подтверждалось гистохимическими исследованиями активности окислительно-восстановительных ферментов. Так, после курсового воздействия НУЗ повышалась активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в синовиоцитах и хондроцитах соответственно на 11 и 28% по сравнению с животными контрольной группы. Таким образом, можно утверждать, что НУЗ данных параметров оказывает выраженное противовоспалительное и трофико-стимулирующее действие на процессы в тканях сустава.

В результате проведения 6—8 процедур ультрафонофореза с хондропротектором на область голенопредплюсневой сустава крысам с экспериментальным артритом в суставных тканях регистрировались признаки остаточного воспалительного процесса, что выражалось в небольшом отеке суставной сумки и распространённой смешанно-клеточной инфильтрации.

Воспалительный лейкоцитарный инфильтрат наблюдался во всех слоях синовиоцитов, однако, визуальная численность и площадь воспалительных клеточных инфильтратов были намного меньше по сравнению с таковыми суставами не только нелеченых контрольных крыс с экспериментальным артритом, но и получавших ультразвуковую терапию. Синовиальная оболочка была гипертрофирована. Синовиоциты местами пролиферировали, формируя несколько рядов продолговатых клеток фибробластического ряда (рис. 4 на 3-й стр. обложки). Соединительнотканые волокна переходной зоны (области перехода между синови-

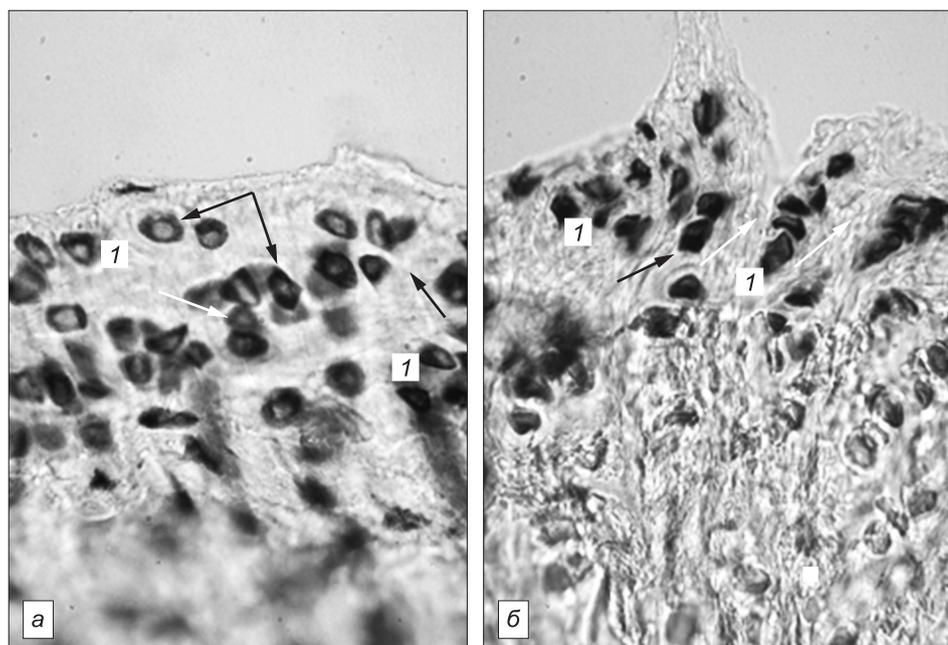


Рис. 5. Участок суставного хряща крыс с экспериментальным артритом после ультрафонофореза хондропротектора.

Микрофото. Метод ЛДГ. Ув. 25. Черными стрелками обозначены хрящевые клетки (хондроциты), белыми — монетные столбики. 1 — межклеточное вещество.

альными клетками и хондроцитами) частично были разволокнены с оптическими пустотами между ними.

У животных этой группы после применения лекарственного ультрафонофореза в синовиоцитах выявлена активизация аэробного окисления глюкозы (фермента СДГ) по сравнению с животными с экспериментальным артритом. Значение этого фермента в синовиоцитах составляло при экспериментальном артритом — $63,64 \pm 7,2$ у.е., а при сочетанном воздействии — $75,16 \pm 7,9$ у.е. (увеличение на 18,1%). При этом активность анаэробных процессов снизилась на 18,7% по сравнению с артритом и составляла $112,02 \pm 10,8$ у.е. (в контроле $137,8 \pm 9,9$ у.е.).

Исследование суставного хряща в опытных группах показало, что его строение было близким к такому при воздействии одним УЗ. При ультрафонофорезе хрящевой матрикс практически не разрушался, округлой и овальной формы хондроциты располагались группами по 2—3 клетки в одной лакуне и были разобщены межклеточным веществом (рис. 5, а), что характерно для физиологической нормы. Здесь значительно чаще встречались делящиеся клетки, которые образовывали так называемые "монетные столбики" (рис. 5, б).

В результате проведения гистохимического исследования после сочетанного воздействия в хондроцитах выявлены незначительные метаболические изменения. Так, на 14-е сутки в хрящевых клетках выявлялось увеличение активности СДГ до $55,02 \pm 7,3$ у.е. (в группе с артритом до $50,21 \pm 6,9$ у.е.) и снижение активности ЛДГ до $135,19 \pm 10,7$ у.е. (в группе с артритом — $140,61 \pm 11,1$ у.е.).

Следует отметить, что в результате проведенного микроскопического исследования выявлены стереотипные структурные изменения в суставных тканях животных, подвергшихся раздельному и сочетанно-

му воздействию низкочастотного УЗ и ультрафонофореза хондропротектора: незначительная воспалительная инфильтрация клетками лейкоцитарного ряда, пролиферация синовиоцитов, гетерогенность хондроцитов. Важно подчеркнуть, что при ультрафонофорезе хондроитина сульфата положительные морфологические изменения были выражены сильнее и отмечались у большего количества животных.

При гистохимическом исследовании установлена разнонаправленная реакция со стороны клеток синовиальной оболочки и суставного хряща крыс с экспериментальным артритом на ультрафонофорез хондропротектора. Так, после сочетанного воздействия активизация окислительно-восстановительных процессов в цикле Кребса, свидетельствующая о повышении функциональной

активности клеток, регистрировалась только в синовиоцитах, о чем свидетельствовало значимое повышение активности его ключевого фермента — СДГ и в то же время выражено снижение активности анаэробных процессов (ЛДГ). В хондроцитах значимое увеличение показателей фермента СДГ отмечалось при раздельном воздействии только УЗ. Следовательно, по результатам гистохимического исследования наиболее выраженный противовоспалительный и трофикостимулирующий эффект наблюдался после ультрафонофореза хондропротекторного препарата в клетках синовиальной оболочки. В хрящевых клетках эти процессы выражены слабее.

Таким образом, выполненные *in vitro* эксперименты свидетельствуют об отсутствии структурных изменений ХС при воздействии низкочастотным ультразвуком терапевтических интенсивностей, а исследования на модели экспериментального артрита подтвердили сохранение и потенцирование фармакотерапевтических свойств хондропротектора при его низкочастотном ультрафонофорезе. Полученные данные указывают на пригодность ХС для сочетанного использования с низкочастотным (22 кГц) ультразвуком и обосновывают целесообразность применения ультрафонофореза этого препарата при воспалительно-дегенеративных заболеваниях суставов. Настоящее заключение подтверждают и хорошие результаты применения фонофореза ХС при травмах и заболеваниях опорно-двигательного аппарата у спортивных лошадей [25].

ЛИТЕРАТУРА

1. Felson D.T. Osteoarthritis of the knee. N. Engl. J. Med. 2006; 354: 841-8.
2. Алексеева Л.И., Архангельская Г.С., Давыдова А.Ф. и др. Отдаленные результаты применения структума (по материалам

- многоцентрового исследования). *Терапевтический архив*. 2003; 75: 82—6.
3. Palmer T., Toombs J.D. Managing joint pain in primary care. *J. Am. Board Fam. Pract.* 2004; 17: 832—42.
 4. Ананьева Л.П. Симптоматическая терапия боли при ревматических заболеваниях. *Терапия боли в ревматологии*. 2002; 4 (8): 32—5.
 5. Бадюкин В.В. Медикаментозная терапия первичного (идиопатического) остеоартроза. *Русский медицинский журнал*. 2003; 11(5): 243—5.
 6. Насонов Е.Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов: терапевтические перспективы. *Русский медицинский журнал*. 2002; 10 (4): 206—12.
 7. Ивашенко С.В., Берлов Г.А. Морфологическая картина костной ткани после воздействия низкочастотным ультразвуком. *Медицинский журнал*. 2007; 1: 42—4.
 8. Зубкова П.О. Теоретические основы ультразвуковой терапии. *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. 2005; 3: 3—7.
 9. Морозова И.Л., Куклова Е.Н., Улащик В.С., Молчанова А.Ю. Модуляция низкочастотным ультразвуком ноцицептивной чувствительности крыс. *Новости медико-биологических наук*. 2011; 4(4): 138—43.
 10. Улащик В.С., Лукомский И.В. *Общая физиотерапия*. Минск: 2003.
 11. Улащик В.С. Низкочастотный ультразвук: действие на организм, лечебное применение и перспективы исследования. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2000; 6: 3—8.
 12. Улащик В.С. Ультрафонофорез лекарственных веществ. *Медицинские знания*. 2005; 1: 21—3.
 13. Бадюкин В.В. Препараты хондроитина сульфата в интенсификации репарации гиалинового хряща. *Российский медицинский журнал*. *Ревматология*. 2009; 17 (21): 1—5.
 14. Jordan K.M., Arden N.K., Doherty M. EULAR recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: report of a task force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCSIT). *Ann. Rheum. Dis.* 2003; 62: 1145—55.
 15. Towheed T.E., Maxwell L., Anastassiades T.P. Glucosamine therapy for treating osteoarthritis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2005; CD002946.
 16. Беневоленская Л.И., Алексеева Л.И., Зайцева Е.М. Эффективность препарата Терафлекс у больных с остеоартрозом коленных и тазобедренных суставов (открытое рандомизированное исследование). *Русский медицинский журнал*. 2005; 13 (8): 525—7.
 17. Долгова Л.Н. *Рациональная практика локальной терапии остеоартроза*: Дисс. ... д-ра мед. наук. Ярославль; 2011.
 18. Leeb B.F., Schweizer M., Montag K., Smolen J. A meta-analysis of chondroitin sulfate in the treatment of osteoarthritis. *J. Rheumatol.* 2000; (1): 205—11.
 19. Richey F., Bruyere O., Ethgen O. et al. Structural and symptomatic efficacy of glucosamine and chondroitin in knee osteoarthritis: a comprehensive meta-analysis. *Arch. Intern. Med.* 2003; 163: 1514—22.
 20. Lorenzo P., Bayliss M.T., Heinegard D. Altered patterns and synthesis of extracellular matrix macromolecules in early osteoarthritis. *Matrix Biol.* 2004; 23 (6): 381—91.
 21. Чичасова Н.В. Место медленнодействующих препаратов в рациональной терапии деформирующего остеоартроза. *Ревматология*. 2005; 7(8): 634—8.
 22. Насонова В.А., Насонов Е.Л. *Рациональная фармакотерапия ревматических заболеваний*. М.: Литерра; 2003.
 23. Чурко В.В., Балабанова Р.М., Олюнин Ю.А. и др. Внутрисуставное введение лорноксикама: клинико-экспериментальное обоснование и оценка эффективности. *Consilium Medicum*. 2006; S (7): 74—8.
 24. Каминский Л.С. Статистическая обработка лабораторных и клинических данных. *Применение статистики в научной и практической работе врача*. Л.; 1964.
 25. Зубовский Д.К., Улащик В.С., Финогенов А.Ю., Шимко О.В. Применение фонофореза хондроитина сульфата при травмах и заболеваниях опорно-двигательного аппарата у спортивных лошадей. *Мир спорта*. 2013; 4 (53): 38—42.
 2. Alekseeva L.I., Arhangel'skaja G.S., Davydova A.F. et al. Long-term results of the struktum (based on a multicenter study). *Терапевтический архив*. 2003; 75(): 82—6. (in Russian)
 3. Palmer T., Toombs J.D. Managing joint pain in primary care. *J. Am. Board Fam. Pract.* 2004; 17: 832—42.
 4. Anan'eva L. P. Symptomatic treatment of pain in rheumatic diseases. *Терапия боли в ревматологии*. 2002; 4 (8): 32—5. (in Russian)
 5. Badokin V.V. Drug therapy of primary (idiopathic) osteoarthritis. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2003; 11(5): 243—5. (in Russian)
 6. Nasonov E.L. The application of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: therapeutic perspectives. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2002; 10 (4): 206—12. (in Russian)
 7. Ivashenko S.V., Berlov G.A. Morphological pattern of bone tissue after exposure to low-frequency ultrasound. *Meditsinskiy zhurnal*. 2007; 1: 42—4. (in Russian)
 8. Zubkova P.O. Theoretical background of ultrasound therapy. *Fizioterapiya, bal'neologiya i reabilitatsiya*. 2005; 3: 3—7. (in Russian)
 9. Morozova I.L., Kuklova E.N., Ulashchik V.S., Molchanova A.Yu. Frequency dependence of physiological action of ultrasound. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk*. 2011; 4(4): 138—43. (in Russian)
 10. Ulashchik V.S., Lukomskiy I.V. *General Physiotherapy [Obshchaya fizioterapiya]*. Minsk: 2003. (in Russian)
 11. Ulashchik V.S. Low-frequency ultrasound: effect on the organism, therapeutic employment and prospects of research. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoy fizicheskoy kultury*. 2000; 6: 3—8. (in Russian)
 12. Ulashchik V.S. Ultraphonophoresis of drugs. *Meditsinskie znaniya*. 2005; 1: 21—3. (in Russian)
 13. Badokin V.V. The use of chondroitin sulfate for intensification of hyaline cartilage repair. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. *Revmatologiya*. 2009; 17 (21): 1—5. (in Russian)
 14. Jordan K.M., Arden N.K., Doherty M. EULAR recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: report of a task force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCSIT). *Ann. Rheum. Dis.* 2003; 62: 1145—55.
 15. Towheed T.E., Maxwell L., Anastassiades T.P. Glucosamine therapy for treating osteoarthritis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2005; CD002946.
 16. Benevolenskaja L.I., Alekseeva L.I., Zaytseva E.M. Efficacy of Theraflex in patients with osteoarthritis of the knee and hip joints (open randomized study). *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2005; 13 (8): 525—7. (in Russian)
 17. Dolgova L.N. *Rational practices in Local Therapy of Osteoarthritis: Diss. Yaroslavl*; 2011. (in Russian)
 18. Leeb B.F., Schweizer M., Montag K., Smolen J. A meta-analysis of chondroitin sulfate in the treatment of osteoarthritis. *J. Rheumatol.* 2000; (1): 205—11.
 19. Richey F., Bruyere O., Ethgen O. et al. Structural and symptomatic efficacy of glucosamine and chondroitin in knee osteoarthritis: a comprehensive meta-analysis. *Arch. Intern. Med.* 2003; 163: 1514—22.
 20. Lorenzo P., Bayliss M.T., Heinegard D. Altered patterns and synthesis of extracellular matrix macromolecules in early osteoarthritis. *Matrix Biol.* 2004; 23 (6): 381—91.
 21. Chichasova N.V. Application of slow-acting drugs in the treatment of deforming osteoarthritis. *Revmatologiya*. 2005; 7(8): 634—8. (in Russian)
 22. Nasonova V.A., Nasonov E.L. *Rational Pharmacotherapy of Rheumatic Diseases*. Moscow: Literra; 2003. (in Russian)
 23. Churko V.V., Balabanova R.M., Olyunin Yu.A. et al. Intraarticular injection of lornoxicam: clinical and experimental study and efficiency assessment. *Consilium Medicum*. 2006; S (7): 74—8. (in Russian)
 24. Kaminskiy L.S. *Statistical Analysis of Laboratory and Clinical Data [Statisticheskaya obrabotka laboratornykh i klinicheskikh dannykh. Primenenie statistiki v nauchnoy i prakticheskoy rabote vracha]*. Leningrad; 1964. (in Russian)
 25. Zubovskiy D.K., Ulashchik V.S., Finogenov A.Yu., Shimko O.V. Implementation of chondroitin sulfate phonophoresis at condition of trauma or locomotor system of sportive horses. *Mir sporta*. 2013; 4 (53): 38—42. (in Russian)

REFERENCES

1. Felson D.T. N. Osteoarthritis of the knee. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 841—8.

Поступила 25.06.14
Received 25.06.14