

FANS ed osso

FANS and bone

L. Pietrogrande¹, E. Raimondo²

¹Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi, Milano, Direttore Prof. Silvio Scarone;

²U.O. Ortopedia e Traumatologia Ospedale San Paolo, A.S.S.T. Santi Paolo e Carlo, Milano, Direttore prof. Luca Pietrogrande

SUMMARY

The inhibitory action of the prostaglandin synthesis is the basis for a supposed action on the bone of the NSAIDs (Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs), some of the most used drugs. There are, however, few published data on this action, except for the inhibition of bone healing by the NSAIDs.

In the late nineties some studies demonstrating a positive effect of the NSAIDs on bone mass were edited. The positive effect seemed more evident for propionic NSAIDs (ibuprofen, ketoprofen...) and ASA, mainly if in association with the COX-2 inhibitors.

Few years later some clinical studies, variously designed (prospective, retrospective, and case-control), based on large population samples (a range from about 2,000 to 300,000 subjects), demonstrated, unexpectedly, an increase of the fracture risk in the NSAIDs users. The risk resulted variable for different NSAIDs molecules, but there were not a concordance among the studies, except for a not increased risk for ASA.

An increased risk of a second hip fracture after the first fragility hip fracture in the NSAIDs users, dose- and time-dependent, has been recently demonstrated in two propensity-score matching studies on a large population data-base in Taiwan.

The cellular and molecular effects of the NSAIDs on the bone tissue have not yet well clarified. An inhibition of the osteoblastogenesis, but also of the osteoclastogenesis has been demonstrated with different NSAIDs used in cellular cultures. These evidences could explain the increased fracture risk due to a decrease of the biomechanical properties of the bone, without a decreased bone mass.

Reumatismo, 2016; 68 (3): 60-66

■ INTRODUZIONE

IFANS sono tra i farmaci più utilizzati, soprattutto negli anziani, e la loro azione di inibizione della sintesi delle prostaglandine è presupposto per una loro interferenza anche con il metabolismo osseo, ma questo aspetto appare poco studiato in letteratura (1-3).

Se abbastanza numerosi sono gli studi sul ruolo dei FANS nella riparazione delle fratture, dove sembrano inibire le fasi iniziali dominate da fenomeni infiammatori, (4-10) scarsi sono i lavori su di un loro ruolo nell'osteoporosi. Per di più, accanto a dati che sembravano far supporre un loro effetto positivo con aumento della massa ossea, sono comparsi dati su loro effetto negativo con aumento del rischio di frattura.

Scopo di questa review è quello di analizzare questi contributi pubblicati più o meno

recentemente al fine di poter dare elementi con cui orientarsi nella pratica clinica quotidiana nell'uso dei FANS in funzione di un loro eventuale e controverso effetto sull'osso.

■ FANS E MASSA OSSEA

Negli anni '90 compaiono due studi sperimentali su animali che dimostrano un effetto positivo dei FANS sulla massa ossea: uno utilizzando il naprossene in ratte femmina ovariectomizzate (11) e l'altro l'ibuprofene in gerbils (12).

Sulla base di queste evidenze a fine anni 90 viene pubblicato il Rancho Bernardo Study dove gli autori concludevano che l'uso cronico di antiinfiammatori derivati dall'acido propionico può essere utile nel prevenire la perdita ossea in donne anziane. Lo studio osservazionale, cui parteciparono 932 don-

Indirizzo per la corrispondenza:
L. Pietrogrande
E-mail: luca.pietrogrande@unimi.it

ne caucasiche che vivevano in comunità, con età media di 72 anni (min 44, max 98), prevedeva la compilazione di un questionario sull'uso di FANS, validato da personale infermieristico, e la misurazione della BMD in 5 siti (colonna lombare, femore totale e collo, radio diafisi e ultradistale). Tra le partecipanti vennero individuate 114 utilizzatrici abituali di FANS, di cui 84 di derivati propionici (ibuprofene e naprossene soprattutto), e le altre di derivati acetici (indometacina, diclofenac e sulindac). Le donne che usavano i derivati propionici avevano una BMD maggiore in tutti e 5 i siti valutati e significativamente maggiore alla colonna ed alla diafisi radiale, anche dopo correzione per le covariate riguardanti l'osteoporosi. Dopo aver escluso le donne che avevano riferito di essere affette da artrosi, la BMD è risultata significativamente più alta anche nei due siti femorali. Le donne che assumevano estrogeni e derivati propionici avevano massa ancor più alta per un effetto additivo (13).

Nel 2003 venne confermata una relazione positiva tra assunzione di FANS e massa ossea, valutando anche il ruolo dell'aspirina e della selettività dei FANS in uno studio clinico su 2.853 adulti (età media 73,6 anni, 49,5% donne e 50,5% uomini di varie razze) provenienti dalla coorte dello studio Health ABC. La massa ossea, misurata con DXA total body e total hip, dopo correzione per numerosi fattori confondenti, è risultata significativamente maggiore solo per gli utilizzatori di FANS con relativa attività COX-2 inibitoria (celecoxib, piroxicam, etodolac, nabumetone, diclofenac, meclofenamate sodium, salsalate, sulindac i più usati) assunti assieme all'aspirina, mentre per i FANS con relativa selettività per COX-1 l'aumento della massa ossea non è risultato significativo e per l'aspirina da sola la significatività è stata riscontrata solo per il total body. Nella valutazione con la TAC quantitativa vertebrale gli aumenti sono stati significativi sia per la spongiosa che la corticale per i FANS relativamente selettivi per la COX-1, per l'aspirina da sola e per i selettivi per la COX-2 associati all'aspirina (14).

Nel 2008 Shi et al. dimostrarono in tope

ovariectomizzate un'azione positiva dell'aspirina sulla massa ossea e ipotizzarono un'inibizione dell'apoptosi delle cellule mesenchimali mediato da un'azione sui linfociti T (15).

■ FANS E RISCHIO DI FRATTURA

Accanto a questi dati, apparentemente concordi nell'indicare un effetto positivo dei FANS sul metabolismo scheletrico, così come ci si poteva attendere dalla loro azione sulle prostaglandine, sono stati pubblicati, a partire dal 1996, studi che ricercavano un possibile effetto di riduzione del rischio di frattura.

Nel 1996 Bauer et al. dopo aver seguito per 4 anni 7786 donne bianche ultrasessantacinquenni, rilevando la BMD e le fratture clinicamente evidenti, concludevano che l'uso cronico di aspirina e FANS può avere un modesto (1,0-3,1%) effetto positivo sulla massa ossea, ma non vi è nessuna riduzione del rischio di frattura (16).

Nel 2000 van Staa et al. analizzarono retrospettivamente i dati del database nazionale dei medici di medicina generale del Regno Unito per valutare il rischio di frattura in una popolazione reale esposta ai FANS, per mezzo di uno studio retrospettivo di coorte. Nel database furono individuati i soggetti oltre i 18 anni che avevano avuto una o più prescrizioni di FANS tra il 1987 ed il 1997. Questi vennero poi suddivisi in due gruppi in base alla quantità di prescrizioni: 214.577 soggetti con 3 o più prescrizioni di FANS, definiti utilizzatori regolari; 286.850 con 1-2 prescrizioni, utilizzatori occasionali. Furono poi individuati casualmente 214.577 controlli, appaiati per età. Il rischio di frattura nella popolazione del gruppo di controllo risultò essere simile a quello della popolazione generale, con un'incidenza di fratture di 1,3 negli uomini (1,2 nella popolazione generale) e 3,0 nelle donne (2,7) con età tra 75 e 84 anni, di 2,1 negli uomini (2,2) e 4,5 nelle donne (4,5) con 85 o più anni. Il rischio relativo di fratture non vertebrali nei soggetti esposti ad un uso regolare di FANS, rispetto al controllo, risultò essere di 1,47 (95% intervallo di confidenza [CI] 1,42-1,52) e quello

di fratture del femore di 1,08 (0,98-1,19). Nessuna differenza fu rilevata rispetto agli utilizzatori occasionali (RR 1,04; 95% CI 0,99-1,09) e neppure tra utilizzatori di diversi FANS, diclofenac e naprossene rispetto ad ibuprofene. Conclusero pertanto che non vi era nessun elemento per dire che i FANS abbiano un effetto clinicamente rilevante sul metabolismo osseo nella popolazione studiata (17).

Nel 2006 Vestergaard e colleghi pubblicarono uno studio caso-controllo su base nazionale per individuare gli effetti sul rischio di frattura dell'uso di farmaci analgesici non oppioidi, ma anche della presenza di artrosi ed artrite. I soggetti studiati furono tutti quelli che avevano riportato una frattura durante il 2000 in Danimarca (124.655) e per ogni caso furono scelti casualmente 3 controlli (373.962), appaiati per età e sesso, dalla popolazione generale. Inizialmente fu considerata l'esposizione al paracetamolo, ai FANS o all'ASA, esaminando l'effetto per mezzo di una stratificazione in base alla dose cumulativa assunta (definita come defined daily dose, DDD) e facendo aggiustamenti per diversi elementi confondenti (situazione socio economica e familiare, comorbilità, altri farmaci potenzialmente rischiosi per cadute o fragilità ossea). I risultati evidenziarono un piccolo aumento del rischio di frattura in chi aveva utilizzato il paracetamolo nell'ultimo anno (OR=1,45, 95% CI 1,41-1,49) ed un rischio invariato per chi aveva assunto l'ASA. Mentre per i FANS i risultati furono eterogenei con un rischio di frattura per una DDD <20 significativamente più alto per l'indometacina (OR=2,70, 95% CI 1,06-6,88), per il tenoxicam (OR=2,27, 95% CI 0,80-6,42), per l'ibuprofene (OR=2,09, 95% CI 2,00-2,18), per il naprossene (OR=2,06, 95% CI 1,77-2,40) fino a valori di non significatività per altri FANS come il ketoprofene o il celecoxib. Con l'aumentare della dose il rischio diminuiva per quasi tutti i FANS, forse, suggeriscono gli autori, perché potrebbe comparire l'effetto positivo sulla massa ossea. L'artrosi risultò essere un fattore di riduzione del rischio di frattura (OR=0,70, 95% CI 0,67-0,72) se la diagnosi risaliva ad oltre un anno prima, mentre l'artrite

reumatoide costituiva un fattore di aumento del rischio di frattura (OR=1,86, 95% CI 1,68-2,07), se la diagnosi era più recente di 1 anno. Gli autori concludevano che i deboli analgesici possono essere associati in vario modo con il rischio di frattura, spesso con modesto aumento del rischio a dosi basse, ma non con il crescere della dose, ma che la mancanza di alcuni dati, come l'aderenza alla terapia, possano influenzare i risultati (18).

Ancora Vestergaard et al. riportarono nel 2011 i dati dello studio DOPS (Danish Osteoporosis Prevention Study), in cui nel 2016 donne in perimenopausa furono seguite per 10 anni, come parte di uno studio in parte randomizzato sulla terapia ormonale sostitutiva, registrando le fratture clinicamente evidenti, la BMD ed altri dati, in rapporto all'assunzione di FANS, paracetamolo, aspirina ed oppioidi. Sebbene vi fossero delle differenze tra le utilizzatrici di questi farmaci e le non utilizzatrici in termini di peso corporeo (peso più alto per le utilizzatrici di paracetamolo e FANS) e valori di 25-OH vitamina D (più bassa tra le utilizzatrici croniche di aspirina ed oppioidi), nessuna differenza significativa, se non una piccola tendenza all'aumento, fu riscontrata nella BMD di colonna, anca, avambraccio e total body in 10 anni. Dopo aggiustamento per i fattori confondenti, però, le utilizzatrici croniche di FANS risultarono aver avuto più fratture (HR=1,44, 95% CI 1,07-1,93) in modo significativo, mentre le utilizzatrici di paracetamolo ed oppioidi presentarono solo una tendenza non significativa in questo senso e quelle di aspirina non presentarono nessun aumento del rischio di frattura (19).

Negli ultimi due anni sono comparsi due studi clinici su FANS ed osteoporosi, realizzati da un gruppo di Taiwan, che affrontano il rischio di frattura scegliendo una popolazione ad alto rischio di frattura, cioè coloro che hanno subito una prima frattura di femore (20, 21).

Nel 2015 è stato pubblicato un primo studio di coorte caso-controllo basato, sui dati del sistema sanitario nazionale di Taiwan, dai quali è stato estratto casualmente un campione di 1 milione di soggetti e tra

Tabella I

Anno	Autore	Disegno	Popolazione	Età media	Mssa ossea	Rischio di frattura	Molecole con effetto su osso	Qualità
1996	Bauer DC	prospettico 4 anni	7.786 donne bianche >65	74	lieve aumento	invariato	sia FANS che ASA	++
1998	Morton DJ	osservazionale	932 donne istituzionalizzate	72	aumentata	n.v.	solo con FANS propionici	++
2000	van Staa TP	retrospettivo	715.000 adulti dal sistema sanitario UK	55	n.v.	aumento non significativo	non differenze	++
2003	Carbone LD	osservazionale	2.853 uomini e donne studio Health ABC	73,6	aumentata	n.v.	solo con anti COX-2 prevalente (non propionici)	+++
2006	Vestergaard P	caso-controllo 1 anno	598.000 da database nazionale danese	43,4	n.v.	aumentato inversamente dose	per indometcina, tenoxicam, ibuprofene, naprossene	+++
2011	Vestergaard P	prospettico 10 anni	2.016 donne da DOPStudy	50	tendenza all'aumento	aumentato	non valutate ASA invariato	+++
2015	Huang KC	caso-controllo propensity score 10 a.	34.725 adulti >40 a. dal sistema sanitario di Taiwan	72	n.v.	aumentato 2° frattura femore	non valutate	++
2016	Chuang PY	caso-controllo propensity score 5 a.	1.500 adulti >40 a. dal sistema sanitario di Taiwan	74	n.v.	aumentato 2° fr. femore dose dipendente	diclofenac celecoxib più rischio oltre 60 a.	+++

questi sono stati identificati 34.725 pazienti, di 40 anni o più, che avevano sostenuto una frattura del femore prossimale trattata chirurgicamente tra il 1999 ed il 2009. Per definire un uso cronico di FANS è stato individuato un uso per almeno 14 giorni al mese per 3 mesi e per controllare gli attori confondenti i dati sono stati accoppiati tramite la tecnica del “propensity-score”. L’analisi dei dati ha mostrato che l’uso cronico di FANS costituisce un significativo fattore di rischio per la seconda frattura di femore nei pazienti che sono stati operati per la prima, con una OR=2,15 (95% CI: 2,07-2,33). Tramite l’utilizzo delle curve di Kaplan-Meier il rischio aumentato si è confermato anche per diversi sottogruppi di varia età e in sottogruppi con Charlson Comorbidity Index maggiore uguale a 5 o <5, con o senza diabete mellito, ipertensione o iperlipidemia. Gli autori raccomandano pertanto di ridurre l’uso clinico dei FANS nei fratturati di femore (20).

Lo stesso gruppo di Taiwan ha pubblicato un secondo studio, nel quale ha identificato i pazienti di 40 o più anni, che hanno avuto

una prima frattura di femore, trattata chirurgicamente, tra il 1996 ed il 2004 e li ha seguiti fino al 2009. Tra questi, utilizzando sempre il “propensity-score matching” per controllare i fattori confondenti, come le comorbilità o l’uso di bisfosfonati, hanno identificato 94 casi di pazienti con una seconda frattura di femore e 461 controlli senza nuova frattura. I farmaci studiati sono stati i FANS, comparati con il paracetamolo ed il desametasone. Dall’analisi dei dati è risultata una correlazione fortemente negativa (Pearson’s $r=-0,920$, $P=0,003$) tra dose giornaliera media di FANS e probabilità di incorrere nella seconda frattura di femore, a testimonianza di un rischio di frattura più elevato per dosi elevate di FANS. Attraverso le curve di Kaplan-Meier si è poi evidenziato una tendenza all’aumento del rischio della seconda frattura nella popolazione esposta ai FANS ($P<0,001$). Inoltre nei pazienti esposti ai FANS di 60 o più anni il rischio della seconda frattura era maggiore rispetto a quelli con meno di 60 anni se assumevano diclofenac ($P=0,016$) e celecoxib ($P=0,003$) o il desametaso-

ne ($P=0,018$), ma non il paracetamolo ($P=0,074$). Gli autori concludono che dai dati analizzati risulta un rischio dose e tempo dipendente di incorrere in una seconda frattura significativamente più elevato nei pazienti che assumono FANS, soprattutto se anziani (21).

■ POSSIBILI MECCANISMI D'AZIONE

Scarsi e controversi sono i dati riguardo i possibili meccanismi attraverso i quali i FANS possano avere un effetto su massa ossea e rischio di frattura. C'è qualche evidenza sul ruolo delle prostaglandine sul metabolismo osseo, ma la loro azione può differire anche in senso diametralmente opposto in base alla prostaglandina coinvolta ed alla ciclossigenasi attivata, COX-1 o COX-2. Nell'osso normale, in risposta agli stimoli meccanici, prevale la PGE_2 che ha un'azione anabolica sulla proliferazione ed azione degli osteoblasti tramite un'attivazione della COX-2. Mentre in situazioni patologiche, ad esempio di infiammazione, la PGE_2 può stimolare il riassorbimento dell'osso tramite un aumento dell'attività degli osteoclasti. Nella riparazione delle fratture le prostaglandine sembrano esercitare entrambe le azioni in fasi temporalmente diverse (22).

Già nel 1999 veniva dimostrata una controversa azione delle prostaglandine e dei FANS (ketorolac e indometacina), che risultavano entrambi inibire la sintesi di DNA e la mitosi di pre-osteoblasti in culture cellulari, con per altro un aumento della produzione di fosfatasi alcalina e collagene tipo I nelle fasi iniziali di differenziazione in osteoblasti (23).

Queste incertezze venivano confermate da una review del 2013, che analizzando diversi studi su quest'argomento, concludeva che non vi erano dati sufficienti a dimostrare un effetto chiaro sul metabolismo osseo e tantomeno era possibile ipotizzare un meccanismo d'azione.

Più recentemente in un modello di riparazione tissutale è stata dimostrata un'azione di inibizione della vitalità di una linea cellulare di preosteoblasti murini da parte

dei FANS, indipendentemente dalla specificità, con la riduzione della attivazione dei geni per la produzione di fosfatasi alcalina, Runx2, ed osetocalcina, quest'ultima solo per i COX-1 inibitori (24).

Quest'anno è apparso un interessante studio su culture di osteoclasti attivati con RANKL ha dimostrato che l'aspirina ha un'azione di inibizione della osteoclastogenesi, forse mediata dalla soppressione dell'attivazione di NF- κ B and MAPKs (25).

Nel 2015 è apparso anche uno studio su ratto dove sono stati studiati aspetti istologici e biomeccanici dell'osso dopo una somministrazione prolungata (12 settimane) di celecoxib, confrontato con il desametasone ed il metotrexate. Il celecoxib ha dimostrato stimolare il riassorbimento osseo con una diminuzione della massa ossea ed un deterioramento delle proprietà meccaniche (26).

■ DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I dati reperiti in letteratura negli ultimi 20 anni non consentono di porre chiarezza sull'azione dei FANS sul tessuto osseo. Se infatti abbiamo dati sperimentali e clinici su di un possibile effetto positivo sulla massa ossea, (11-14) abbiamo anche dati su di un possibile effetto negativo sul rischio di frattura (18-21). Per entrambi gli effetti, però, abbiamo anche dati neutri (16, 17).

Certamente l'eterogeneità degli studi potrebbe essere una delle cause di questi dati contrastanti, eterogeneità per i diversi FANS studiati, per gli outcome diversi e, ovviamente, per le diverse tipologie di studio. Riguardo a questo aspetto, disponiamo di studi prospettici di numerosità più che sufficiente che attestano sia l'effetto positivo sulla massa ossea (13, 14), che quello negativo sul rischio di frattura, (19) ma anche gli studi retrospettivi poggiano su robuste basi sia per numerosità che per rigore di analisi statistica (17-21).

Per quanto riguarda gli studi sulla massa ossea, vi è anche da osservare la eterogeneità nei sistemi di misurazione e nelle sedi misurate, oltre che l'esiguità delle variazio-

ni di BMD registrate (13, 14). In questi studi viene anche spontaneo osservare come non vi sia concordanza su quali FANS siano più efficaci, infatti, eccetto che per l'aspirina, dove l'effetto di aumento della massa ossea è ben documentato, i FANS più efficaci nell'aumento della BMD sono i COX-1 o i COX2 inibitori a seconda dello studio (13, 14).

Negli studi clinici, un'altra fonte di confusione è la diversa considerazione della dose assunta, in alcuni studi, infatti, vengono considerati utilizzatori di FANS coloro per i quali risultavano almeno 3 prescrizioni nel periodo di osservazione, esteso anche per 10 anni, (17) in altri, per fortuna è stato possibile una correlazione con la dose assunta, scoprendo che l'aumento del rischio di frattura dovuto ai FANS sembra ridursi con l'aumentare della dose prescritta, ma avanzano dubbi per mancanza di dati reale aderenza alla terapia (18).

Se però consideriamo il rischio di frattura negli utilizzatori di FANS, gli studi più robusti per disegno prospettico (19), per numerosità di pazienti (17, 20), o per scelta di analisi statistica (20, 21) consentono di affermare che il rischio di fratture clinicamente evidenti, soprattutto non vertebrali, sia realmente aumentato con un rischio che risulta aumentato, a seconda degli studi, da 1,4 (19) a 2,7 (18).

Solo in alcuni studi abbiamo dati sulla correlazione tra selettività dei FANS e rischio di frattura, ma ancor a una volta non sembrano concordare: se, infatti, nello studio di Vestergaard i FANS con l'OR più elevata sono l'indometacina, il tenoxicam, l'ibuprofene ed il naprossene (tutti prevalentemente COX-1 selettivi) ed il rischio non è

aumentato per il celecoxib (18), nello studio di Chuang il rischio risulta aumentato soprattutto per diclofenac e celecoxib (prevalentemente COX-2 selettivi) nei pazienti anziani (21).

Mentre per i FANS i dati sembrano indicare un effetto contrastante su massa ossea e rischio di frattura, diverso sembra il ruolo dell'ASA, dove gli effetti sembrano concordare, sia in termini di aumento della massa ossea (14) che in termini di assenza di interferenza sul rischio di frattura (18), anche in associazione con altri FANS (14). Riguardo al meccanismo d'azione dei FANS sull'osso sembra esserci ancora molto da chiarire, come, forse, per l'esatto ruolo delle prostaglandine. Sebbene i dati siano frammentati, si può comunque ipotizzare un'azione di inibizione della osteoblastogenesi (23, 24) e forse della osteoclastogenesi (25) da parte dei FANS, proprio per il ruolo bimodale delle prostaglandine nell'osso.

In conclusione, da quanto emerso dalla revisione della letteratura, si può affermare che i FANS, come si ipotizzava negli anni novanta, sembrano interferire con l'osso, con un aumento del rischio di frattura negli utilizzatori cronici, soprattutto se anziani, che potrebbe essere mediato da un deterioramento delle competenze meccaniche per una ridotta osteoblastogenesi (26), piuttosto che per una riduzione della massa ossea, che sembra al contrario poter aumentare con i FANS e con l'aspirina in particolare (15).

Per tali evidenze si ritiene auspicabile una maggiore attenzione nella prescrizione dei FANS negli anziani con altri fattori di rischio per fratture da fragilità.

RIASSUNTO

Per i FANS è ipotizzata da tempo una loro azione sull'osso ed il loro ruolo inibitorio nella riparazione delle fratture la conferma, ma controverso è il ruolo nell'osteoporosi.

Dagli anni 90 vari studi dimostravano un effetto positivo sulla massa ossea di FANS e aspirina, ma in studi successivi di vario disegno (da 2.000 a 300.000 soggetti prospettici o retrospettivi) il rischio di frattura risultava aumentato a seconda dei FANS, ma mai con l'aspirina.

Non chiariti sono i meccanismi di azione sull'osso. Sembra che i FANS inibiscano l'osteoblastogenesi, ma anche la osteoclastogenesi, con un deterioramento delle competenze meccaniche, senza riduzione della massa ossea.

■ BIBLIOGRAFIA

Raisz LG. Physiologic and pathologic roles of prostaglandins and other eicosanoids in bone metabolism. *J Nutr.* 1995; 125: 2024S-2027S.

1. Raisz LG. Prostaglandins and bone: physiology and pathophysiology. *Osteoarthritis Cartilage.* 1999 7: 419-21
2. Raisz LG. Potential impact of selective cyclooxygenase-2 inhibitors on bone metabolism in health and disease. *Am J Med.* 2001; 110: 43S-45S.
3. Allen HL, Wase A, Bear WT. Indomethacin and aspirin: Effect of nonsteroidal anti-inflammatory agents on the rate of fracture repair in the rat. *Acta Orthop Scand.* 1980; 51: 595-600.
4. Törnkvist H, Lindholm TS. Effect of ibuprofen on mass and composition of fracture callus and bone. *Scand J Rheumatol.* 1980; 9: 167-71.
5. Törnkvist H, Bauer FCH, Nilsson OS. Influence of indomethacin on experimental bone metabolism in rats. *Clin Orthop.* 1985; 193: 264-70.
6. Nilsson OS, Bauer HCF, Brosjö O, Törnkvist H. Influence of indomethacin on induced heterotopic bone formation in rats. *Clin Orthop.* 1986; 207: 239-45.
7. Keller J, Bayer-Kristensen I, Bak B, Bünger C, Anderson PK, Lucht U, Melsen F. Indomethacin and bone remodeling effect on cortical bone after osteotomy in rabbits. *Acta Orthop Scand.* 1989; 60: 119-21.
8. Trancik T, Mills W, Vinson N. The effect of indomethacin, aspirin, and ibuprofen on bone ingrowth into a porouscoated implant. *Clin Orthop.* 1989; 249: 113-21.
9. Di Cesare PE, Nimni ME, Peng L, Yazdi M, Cheung DT. Effects of indomethacin on demineralized bone-induced heterotopic ossification in the rat. *J Orthop Res.* 1991; 9: 855-61.
10. Lane NE, Coble T, Kimmel DB. Effect of naproxen on cancellous bone in ovariectomized rats. *J Bone Miner Res.* 1990; 5: 1029-35.
11. Jungkeit MC, Chole RA. Ibuprofen inhibits localized bone resorption in the middle ear. *Calcif Tissue Int.* 1991; 48: 267-71.
12. Morton DJ, Barrett-Connor EL, Schneider DL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and bone mineral density in older women: The Rancho Bernardo Study. *J Bone Miner Res.* 1998; 13: 1924-31.
13. Carbone LD, Tylavsky FA, Cauley JA, Harris TB, Lang TF, Bauer DC, Barrow KD, Kritchevsky SB. Association between bone mineral density and the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and aspirin: impact of cyclooxygenase selectivity. *J. Bone Miner Res.* 2003; 18: 1795-802.
14. Shi S, Yamaza T, Akiyama K. Is aspirin treatment an appropriate intervention to osteoporosis? *Fut Rheumatol.* 2008; 1; 3: 499-502
15. Bauer DC, Orwoll ES, Fox KM, Vogt TM, Lane NE, Hochberg MC, Stone K, Nevitt MC. Aspirin and NSAID Use in Older Women: Effect on Bone Mineral Density and Fracture Risk. *J Bone Miner Res.* 1996; 11: 29-35.
16. van Staa TP, Leufkens HG, Cooper C. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of fractures. *Bone.* 2000; 27: 563-8.
18. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Fracture risk associated with use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, acetylsalicylic acid, and acetaminophen and the effects of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Calcif Tissue Int.* 2006; 79: 84-94.
19. P. Vestergaard & P. Hermann & J.-E. B. Jensen & P. Eiken & L. Mosekilde. Effects of paracetamol, non-steroidal anti-inflammatory drugs, acetylsalicylic acid, and opioids on bone mineral density and risk of fracture: results of the Danish Osteoporosis Prevention Study (DOPS) *Osteoporos Int.* 2012; 23: 1255-65
20. Huang KC, Huang TW, Yang TY, Lee MS. Chronic NSAIDs Use Increases the Risk of a Second Hip Fracture in Patients After Hip Fracture Surgery: Evidence From a STROBE-Compliant Population-Based Study. *Medicine.* 2015; 94: 1-7.
21. Chuang PY, Shen SH, Yang TY, Huang TW, Huang KC. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of a second hip fracture: a propensity-score matching study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016; 17: 201-8.
22. Fracon RN, Teófilo JM, Satin RB, Lamano T. Prostaglandins and bone: potential risks and benefits related to the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in clinical dentistry. *J Oral Sci.* 2008; 50: 247-52.
23. Ho ML, Chang JK, Chuang LY, Hsu HK, Wang GJ. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostaglandins on osteoblastic functions. *Biochem Pharmacol.* 1999; 58: 983-90.
24. Schwarting T, Pretzsch S, Debus F, Ruchholtz S, Lechler P. The Effect of Cyclooxygenase Inhibition on Tendon-Bone Healing in an In Vitro Coculture Model. *Mediators Inflamm.* 2015; 926369.
25. Zeng YP, Yang C, Li Y, Fan Y, Yang HJ, Liu B, Sang HX. Aspirin inhibits osteoclastogenesis by suppressing the activation of NF- κ B and MAPKs in RANKL-induced RAW264.7 cells. *Mol Med Rep.* 2016; 14: 1957-62.
26. Liu Y, Cui Y, Chen Y, Gao X, Su Y, Cui L. Effects of dexamethasone, celecoxib, and methotrexate on the histology and metabolism of bone tissue in healthy sprague Dawley rats. *Clinical Interventions in Aging.* 2015; 10: 1245-53.