Utjecaj nesteroidnih protuupalnih lijekova na cijeljenje kosti

Matajčić, Slaven

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:817313

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

SLAVEN MATAJČIĆ

UTJECAJ NESTEROIDNIH PROTUUPALNIH LIJEKOVA NA CIJELJENJE KOSTI

Diplomski rad

Zagreb, 2017.

KLINIKA ZA KIRURGIJU, ORTOPEDIJU I OFTALMOLOGIJU

Predstojnik: prof.dr.sc. Boris Pirkić

Mentori: doc.dr.sc. Ozren Smolec

doc.dr.sc. Jelena Šuran

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

dr.sc. Marko Pećin

doc.dr.sc. Jelena Šuran

doc.dr.sc. Ozren Smolec

prof.dr.sc. Mario Kreszinger (zamjena)

ZAHVALA

Veliku zahvalnost dugujem svojim roditeljima i obitelji na podršci, strpljenju i vjeri u mene. Bez njihove velike podrške i pomoći ovo ne bi bilo moguće.

Također veliko hvala mentorima doc.dr.sc. Ozrenu Smolecu i doc.dr.sc. Jeleni Šuran na povjerenju, podršci, strpljenju te korisnim savjetima tijekom studija.

Na kraju, zahvaljujem se prijateljima i kolegama koji su ove prekrasne godine studiranja učinili još ljepšim.

POPIS PRILOGA

Tablica 1 Utjecaj NSPUL-a na cijeljenje kosti: animalni modeli.....13

Tablica 2 Utjecaj NSPUL-a na cijeljenje kosti: animalni modeli.....16

Tablica 3 Utjecaj NSPUL-a na cijeljenje kosti: animalni modeli.....17

Tablica 4 Utjecaj NSPUL-a na cijeljenje kosti: humana istraživanja.....20

SADRŽAJ:

1 UVOD……...…….....…1

2 CIJELJENJE KOSTI…….....……3

2.1. Primarno (angiogeno) cijeljenje……...…….....…3

2.2. Sekundarno koštano cijeljenje…….....4

2.3. Stadiji cijeljenja kosti…….....….4

3 NESTEROIDNI PROTUUPLNI LIJEKOVI, PROSTAGLANDINI, CIKLOOKSIGENAZE…….....….6

3.1. Mehanizam djelovanja NSPUL-a…….....….7

3.2. Ciklooksigenaze…….....….8

3.3. Prostaglandini, ciklooksigenaze i metabolizam kosti……..……9

3.4. Inhibitori ciklooksigenaze……10

4 NSPUL UTJECAJ NA EKSPERIMENTALNIM CIJELJENJIMA KOSTI……...…11

4.1. Utjecaj tradicionalnih NSPUL-a na cijeljenje kosti…….….11

4.2. Utjecaj COX-2 selektivnih inhibitora na cijeljenje kosti……...…..14

5 ISTRAŽIVANJA UČINAKA NSPUL-A NA CIJELJENJE I FORMIRANJE KOSTI U LJUDI……...….18

6 ULOGA COX-2 U CIJELJENJU KOSTI……..…..21

7 RASPRAVA…….23

8 ZAKLJUČAK……..…26

9 SAŽETAK……..…..27

10 SUMMARY……..…..28

11 LITERATURA……...……29

12 ŽIVOTOPIS……..….37

1 UVOD

Mehanizam djelovanja nesteroidnih protuupalnih lijekova tek je nedavno otkriven kada je dokumentirana njihova sposobnost inhibicije cijeljenja kosti. Ro i suradnici 1976. godine uočili su značajno usporeno cijeljenje kosti u štakora terapiranih indomethacinom. Iste godine muškarac od 64 godine sa luksacijom i lomom gležnja terapiran je indometacinom s namjerom sprečavanja tvorbe kalusa za vrijeme čekanja operacije (SUDMANN i sur., 1976).Međutim, u ovom slučaju lom nije zacijelio u 9 tjedana unatoč vanjskom imobilizatoru. Ove početne tvrdnje pokrenule su niz istraživanja na koja su utjecala i istovremena otkrića ciklooksigenaze-2 (COX-2) i bioloških mehanizama cijeljenja kosti. Danas se NSPUL smatraju djelotvornim inhibitorima stvaranja kostiju u eksperimentalnim modelima liječenja prijeloma, spinalnoj fuziji, urastanju kostiju u implantate, mehanički induciranom remodelacijom kostiju i heterotopnoj osifikaciji (O'CONNOR i sur., 2008). Početkom ovoga stoljeća pojam „osteoimunologija“ prvi je put upotrijebljen u opisivanju kompleksne komunikacije između imunosnog sustava i kostura. Ovo interdisciplinarno znanstveno polje već nekoliko godina proučava interakcije signalnih molekula, faktora transkripcije i receptora između skeletnog i imunosnog sustava.Pokazanoje da postoji jasna poveznica između imunološkog sustava, upalnih bolesti i gustoće kostiju (RAUNER i sur. 2007; RIEGEL i sur. 2012). Nadalje, navodi da prostaglandini i upalni proteini imaju važan utjecaj na razvitak i diferencijaciju strukture kostiju, dok upalni proteini mogu imati važan utjecaj na razvoj i diferencijaciju osteoblasta i osteoklasta. Protuupalni prostaglandini i modulatorni upalni proteini sposobni su inhibirati formiranje osteoklasta. Stoga, imunološki sustav bi mogao predstavljati poveznicu između formiranja kosti i resorpcije kosti (NAKASHIMA i sur., 2009; ANANDARAJAH i sur. 2009).Trenutno liječenje bolesti kostiju često uključuje upotrebu protuupalnih lijekova (NSPUL-a). NSPUL mogu biti upotrebljeni kao analgetici ili protuupalni agensi kod postoperativnih ortopedskih zahvata i cijeljenja kosti. (Ne)selektivni NSPUL utječu na metabolizam prostaglandina inhibirajući sintezu COX 1 i/ili 2. Moguće posljedice na probavni sustav su dobro proučene i zabilježene: NSPUL mogu imati erozivni utjecaj na sluznicu želudca, duodenuma, tankog crijeva i kolona. Dugotrajna upotreba može dovesti do krvarenja, upale i perforacija (BJARNASON i sur., 2009). Nespecifični i COX-2 selektivni nesteroidni protuupalni lijekovi (NSPUL) djeluju inhibirajući ciklooksigenazne izoenzime i efektivno smanjujući bol i upalu povezanu s akutnom ili kroničnom mišićnokoštanom patologijom. Međutim, smatra se kako upotreba NSPUL-a kao analgetika negativno pridonosi cijeljenju kosti. Ovaj rad teži pridonošenju detaljnih nepristranih analiza

dosadašnjih istraživanja provedenih na životinjama i ljudima u pogledu NSPUL-a i njihovih utjecaja na cijeljenje kosti.Uloga COX-2 u regeneraciji kosti mora biti bolje definirana kako bi detaljnije mogli utvrditi utjecaj NSPUL-a na cijeljenje kosti.

2 CIJELJENJE KOSTI

Cijeljenje kosti složeni je fiziološki proces koji podrazumijeva koordinirano djelovanje većeg broja stanica i njihovih prekursora kao odgovor na ozljedu, a rezultira potpunom obnovom koštanog tkiva te preuzimanjem fiziološke funkcije istog. U tijeku cijeljenja dolazi do reakcije četiri različita čimbenika: periosta, kosti, koštane srži i okolnog mekog tkiva. Osim navedenih čimbenika optimalno cijeljenje kosti ovisi i o prisutnosti čimbenika rasta, hormona, nutrijenata, opskrbi kisikom, ph, te mehaničkoj stabilnosti na mjestu ozljede (SMOLEC, 2008). Koštanu reakciju, histološki gledano možemo podijeliti na primarno i sekundarno koštano cijeljenje.

2.1 Primarno (angiogeno) koštano cijeljenje

Na primarno (direktno ili angiogeno) koštano cijeljenje ukazano je još 1935. godine, a 1963. godine dokazali su ga na eksperimentalnim životinja i u čovjeka. Primarno koštano cijeljenje je moguće samo u uvjetima gotovo potpunog mirovanja ulomaka, što podrazumijeva odgovarajuću operacijsku tehniku i metodu koja će ostvariti anatomsku repoziciju i stabilnu osteosintezu s infragmentarnom kompresijom. Obzirom na razmaknutost lomne pukotine primarno koštano cijeljenje podijelili smo na kontaktno i pukotinasto cijeljenje. Pri kontaktnom cijeljenju mezenhimalni elementi ne urastaju niti od strane periosta, niti od strane endosta, a rengenološki se u prva četiri tjedna ne uočavaju nikakve promjene u području prijeloma. Nakon četvrtog tjedna osteon izravno urasta iz jednog koštanog ulomka u drugi pri čemu je usmjeren aksijalno na uzdužnu osovinu kosti. Na rubovima osteona pojavljuju se osteoblasti i deponiraju osteiod stvarajući na taj način lamelarnu kost. Opisani proces nazivamo Haversovom pregradnjom, a ona podrazumijeva istodobno spajanje i rekonstrukciju kosti. Ukoliko na mjestu direktnog kontakta zaostaju pukotine govorimo o pukotinskom cijeljenju gdje osteoblasti deponiraju osteoid unutar pukotine tijekom prvih osam dana. U istom razdoblju u pukotinu urastaju krvne žile a lamelarna kost se stvara okomito na uzdužnu osovinu kosti. Zatim se poprečno postavljene lamele pregrađuju aksijalno usmjerenim osteonima po načelu Haversove pregradnje istim procesom kao i prilikom kontaktnog primarnog cijeljenja što objašnjava znatno duže vremensko trajanje pukotinastog cijeljenja. Značajka pukotinastog i kontaktnog primarnog koštanog cijeljenja je odsutnost stvaranja kalusa i primarna osifikacija bez stvaranja hrskavice i veziva, a brzina koštanog cijeljenja u ovom slučaju ovisit će o odnosu površine kontakta i širine pukotine između ulomaka (ŠIŠLJAGIĆ, 2000).

2.2 Sekundarno koštano cijeljenje

Sekundarno koštano cijeljenje zasniva se na reakciji kosti, okolnog mekog tkiva te periosta kao vjerojatno najvažnijeg čimbenika tog procesa (ONI, 1997).Međudjelovanje navedenih struktura predstavlja podlogu za urastanje kapilara i fibroblasta iz periosta, koštane srži i okolnog mekog tkiva. Tada započinje fibroblastična reparacija oko mjesta prijeloma. U nastavku dolazi do migracije hondroblasta i osteoblasta iz periosta i endosta, ali i fibroblasta koji se pod utjecajem raznih čimbenika rasta mogu diferencirati u hondroblaste i osteoblaste. Krajem prvog tjedna novoumnožene stanice stvaraju privremenu koštanu vezu između ulomaka koju nazivamo hrskavični kalus, ili prokalus(ŠIŠLJAGIĆ, 2000). Taj mekani kalus nastao je enhondralnom osifikacijom i nalazimo ga unutar prijelomne pukotine za razliku od tvrdog kalusa koji je nastao intramembranoznom osifikacijom i nalazi se u perifernom dijelu prijeloma (EINHORN, 1998). Sekundarno koštano cijeljenje traje vremenski znatno duže od primarnoga. Stvaranje kalusa kod konzervativnog liječenja poželjna je pojava djelujući s jedne strane kao biološka udlaga, a sa druge strane predstavlja biološki potencijal za regeneraciju koštanog tkiva (ŠIŠLJAGIĆ, 2000).

2.3 Stadiji cijeljenja kosti

Neposredno poslije prijeloma dolazi do znatnoga krvarenja iz traumatski prekinutih krvnih žila unutar kosti, oštećenog periosta i okolnog mekanog tkiva, a krvni ugrušak okružuje slomljeno koštano tkivo i okolne dijelove mekanog tkiva (ŠIŠLJAGIĆ, 2000).Inicijalni stadij krvarenja dovodi do stvaranja fibrinskog ugruška između prijelomnih ulomaka uz uspostavljanje slabe početne mehaničke stabilnosti.U prva dva dana dolazi do progresivnog raspadanja eritrocita što osigurava trajan sterilni upalni podražaj koji dovodi do vazodilatacije okolnih krvnih žila (hiperemija), edema i infiltracije leukocitima(uglavnom neutrofilima). Poslije dva dana neutrofilima se pridružuje veliki broj makrofaga, koji započinju fagocitozu nekrotičnoga i devitaliziranoga tkiva (ŠIŠLJAGIĆ, 2000). Novostvoreni fibrinski ugrušak predstavlja izvor molekula koje dovode do kaskade staničnih promjena važnih u cijeljenju koštanih prijeloma.Glavnu ulogu u početnoj fazi cijeljenja imaju citokini (IL-1, IL-6), trombociti, koštani morfogenetski proteini i mezenhimalne zametne stanice. Upalne stanice secerniraju IL-1, IL-6 i TNFalfa koji djeluju kemotaksijski na druge upalne stanice i

aktivaciju zametnih stanica. Koncentracija IL-1 i IL-6 najveća je prvog dana nakon prijeloma dok je treći dan gotovo neznatna.Istodobno, trombociti aktivirani trombinom i subendotelijalnim kolagenom secerniraju signalne molekule PDGF i TGF-β, koje su važne u regulaciji stanične proliferacije i diferencijacije te potiču procese kemotaksije i angiogeneze putem kojih se stvaraju nove krvne žile i uspostavlja cirkulacija kao osnovni preduvjet koštanog cijeljenja. Osim toga, urastanje novih krvnih žila u formirajući kalus regulirana je sa FGF, VEGF i angiopoetinom 1 i 2 (GERSTENFELD, 2003).Sljedeći čimbenik važan kod cijeljenja kosti su mezenhimske zametne stanice koje se nalaze u kambijskom sloju periosta. Pod utjecajem BMP-ova počinje diferencijacija zametnih u osteoprogenitorske stanice. Dokazano je da BMP 2,6 i 9 imaju važnu ulogu pri diferencijaciji mezenhimalnih zametnih stanica u osteoprogenitorske stanice.U sljedećoj fazi osteoprogenitorske stanice pod utjecajem BMP 2,4,7 i 9 postaju osteoblasti te konačno osteociti (EINHORN, 1998). Auxhasen je 1907. godine utvrdio da se cijeljenje kosti odvija u pet faza: 1.faza upale

2.faza stvaranja granulacijskog tkiva

3.faza stvaranja kalusa

4.faza preoblikovanja

5.faza oblikovanja

Moguća uloga markera kostiju u procjeni napretka cijeljenja, rizika odgođenog sraštanja ili nesraštanja i utjecaj inovacija u ubrzavanju cijeljenja prijeloma ne smije se zanemariti. Kvantitativne promjene u skeletnoj pregradnji mogu se jednostavno i neinvazivno procijeniti mjerenjem markera kostiju. Oni se obično dijele u tri kategorije; 1) markere resorpcije kostiju, 2) regulacijski proteini osteoklasta i 3) markeri za stvaranje kostiju. Mnogobrojna nova saznanja o biokemiji kosti matriksa koriste se u interpretaciji i karakterizaciji različitih faza cijeljenja prijeloma. Rano poznavanje pojedinačnog napretka prijeloma moglo bi pomoći u izbjegavanju odgođenog sraštanja ili nesraštanja kosti, omogućujući modifikaciju domaćinovog biološkog odgovora. Razine koštanih markera variraju tijekom trajanja cijeljenja prijeloma. Uobičajeni biomarkeri koštane pregradnje: koštana alkalna fosfataza (BALP) i osteokalcin (OC) kao indikatori stvaranja kostiju i C-terminalni telopeptid (CTx) tipa I kolagena kao marker resorpcije kostiju (EINHORN i sur., 2010).

3 NESTEROIDNI PROTUUPALNI LIJEKOVI, PROSTAGLANDINI, CIKLOOKSIGENAZE

Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSPUL) su nenarkotični lijekovi koji imaju analgetsko, protuupalno i antipiretsko djelovanje (HANSON, 2002). Klasificirani su po svojoj kemijskoj strukturi, kao i prema njihovoj specifičnoj inhibitorskoj aktivnosti za enzime povezane s proizvodnjom eikozanoida (npr. produkcija prostaglandina, prostaciklina, leukotriena, lipoksina…). S boljim razumijevanjem važnosti upravljanjem boli kod malih životinja uporaba NSPUL-a je konstantno u porastu. NSPUL se obilno propisuju u kontroli boli i upale povezanih s osteoartritisom, traumom i operacijama. Prednost nad narkoticima im predstavlja činjenica da ne uzrokuju sedaciju ili ataksiju, te omogućuju brži oporavak od anestezije. U situacijama gdje se zahtjeva bolja analgezija (npr. ortopedske operacije) NSPUL se mogu kombinirati s narkotičkim analgeticima. Takav multimodalni pristup omogućuje smanjenje doze narkotika. Sigurnost NSPUL-a je relativno dobro poznata. Postoje određene varijacije u nuspojavama kod različitih NSPUL-a ovisno o njihovom specifičnom mehanizmu djelovanja. Međutim, najčešće nuspojave jesu gastrointestinalne, renalne i hepatičke. Osim toga, neki NSPUL utječu na aktivnost trombocita i mogu produžiti vrijeme krvarenja.Postoji i vrsna specifičnost NSPUL-a u pogledu enzimske specifičnosti, farmakokinetike, metabolizma i sigurnosonog profila (HANSON, 2002). Stoga se u obzir mora uzeti izbor prikladnog pacijenta i monitoring prilikom odabira NSPUL-a.

3.1 Mehanizam djelovanja NSPUL-a

Mehanizam djelovanja NSPUL-a uključuje inhibiciju nekoliko medijatora upale u kaskadi arahidonske kiseline. Eikozanoidi se formiraju iz arahidonske kiseline djelovanjem COX i lipoksigenaze (LOX). Djelovanje COX-a dovodi do produkcije prostaglandina, prostaciklina i tromboksana, dok djelovanje LOX-a dovodi do produkcije leukotriena i lipoksina. Trenutno se zna da sintezu prostaglandina kataliziraju barem dva oblika cikooksigenaza: COX-1 i COX-2 (HANSON, 2002). COX su prisutne u svim stanicama osim u zrelim krvnim stanicama. Međutim, ometanje aktivnosti COX-a među i unutar tkiva vrlo je heterogeno. COX-1 je konstitutivno izražena i enzimatski aktivna u različitim tkivima, uključujući želudac, crijeva, bubrege i trombocite. Aktivnost COX-1 primarno je fiziološka, uključuje zaštitu želudčane sluznice, renalni krvotok i vaskularnu homeostazu. U nekim slučajevima COX-1 može imati upalno djelovanje, ali to nije njena glavna uloga. Ciklooksigenaza-2 je primarno inducirana medijatorima(posrednicima) poput serumskog faktora rasta, citokina i mitogena. Aktivnost COX-2 primarno je povezana s patološkim procesima (bol, upala, groznica/temperatura). COX-2 ima i fiziološko djelovanje povezano s održavanjem renalnog krvotoka, reprodukcijom i signalizacijom stanica, ali aktivnost joj je najviše izražena prilikom upala. Nedavno je pronađena i treća ciklooksigenaza, COX-3, međutim njena točna uloga ostaje nepoznata. Postoje dokazi da će i dodatne varijante COX-a biti opisane u budućnosti. Drugi važni produkt metabolizma arahidonske kiseline su leukotrieni, čija je produkcija posredovana enzimom LOX(lipoksigenaza), koju pronalazimo u plućima, trombocitima i bijelim krvnim stanicama (HANSON, 2002). Pretpostavljeno je da su NSPUL-i manje djelotvorni kao protuupalni agensi od glukokortikosteroida, jer prekursorni posrednici upale mogu slobodno ući u put lipoksigenaze, te i dalje stvarati upalu. Iako se tvrdi da neki NSPUL-i, kao što je ketoprofen, također inhibiraju lipoksigenazu in vitro, ovaj učinak ima tendenciju biti ovisan o vrsti i tkivu i nije dokazan s kliničkim dozama in vivo. Noviji dvojni COX/LOX inhibitori proučavani su za ljudsku upotrebu, s jednim, tepoksalin, koji se korsiti u veterinarskoj medicini. Ipak, do danas nije dokazano da takvi lijekovi imaju veću kliničku učinkovitost i sigurnost od čistih COX inhibitora (HANSON, 2002).

3.2 Ciklooksigenaze

Ciklooksigenaze kataliziraju prva dva koraka u biosintezi prostaglandina iz arahidonske kiseline kako bi formirali PGG2 na kojeg onda djeluju različiti enzimi i proizvode prostanoide; prostaciklin sintetaza proizvodi prostaciklin (PGI2), tromboksan sintetaza proizvodi tromboksan i prostaglandin izomerazaproizvodi PGE2 i PGF2 kao i druge prostaglandine. Arahidonska kiselina je nezasićena masna kiselina s 20 ugljikovih atoma, sastoji se od staničnih fosfolipida i sintetizirana je iz esencijalnih masnih kiselina linoleinske i linolenske kiseline. Kada se oštete membrane otpuštaju se endogeni peptidi lipokortini koji aktiviraju fosfolipazu A2 (HANSON, 2002). Ovo otpuštanje je potaknuto štetnim podražajem na membranu od strane infekcije, traume, temperature ili nakupljanja trombocita. Otpušta se arahidonska kiselina iz membraninih fosfolipida putem djelovanja fosfolipaze A2 i C. Kada je otpuštena, arahidonska kiselina ulazi na otvor enzimskog kanala ciklooksigenaze gdje se oksigenira i oslobađa se slobodni radikal. Rezultat je ciklička struktura s 5 ugljika koja karakterizira prostaglandine. Kao što je navedeno ranije postoje dvije glavne izoforme ciklooksigenaze: COX-1 i COX-2. Obje izoforme sastoje se od dugog i uskok kanala sa zakrivljenim krajem. U ljudi, COX-2 ima valin na mjestu izoleucina koji je prisutan u COX-1. To stvara prostornu promjenu u COX-2 enzimskom kanalu čineći ga širim. NSPUL-i koji inhibiraju COX čine to na način što blokiraju enzimski kanal i sprečavaju aktivaciju arahidonske kiseline. Neselektivni NSPUL, oni koji inhibiraju i COX-1 i COX-2 imaju užu konformaciju što im omogućuje okupiranje i blokadu oba enzimska kanala (HANSON, 2002). Oni koji selektivno inhibiraju COX-2 imaju širu konfiguraciju što im omogućuje uspješno blokiranje COX-2 kanala, ali slabije djelotvorno blokiraju COX-1 kanal. Postoje primjetne razlike u kinetici vezanja NSPUL-a na COX-1 i COX-2. COX-1 inhibicija podrazumijeva hidrogeno vezanje, ono je momentalno i generalno je kompetitivno reverzibilno. Međutim, utjecaj može biti i ireverzibilan, kao kod aspirina kojiinducira acetilaciju u COX-1 veznom kanalu i ireverzibilno inaktivira trombocitnu COX-1. COX-2 inhibicija može uključivati kovalentno vezanje i može rezultirati konformacijskom promjenom. Ovisna je o vremenu i spora do nereverzibilna(nepovratna) (HANSON, 2002).

3.3 Prostaglandini, ciklooksigenaze i metabolizam kosti

Koštano tkivo je u stalnom procesu destrukcije starog i sinteze novog tkiva u procesu koji se naziva koštana remodelacija. Disbalans u koštanom remodeliranju može dovesti do osteoporoze i osteopetroze (O'CONNOR i sur., 2008). Prostaglandini, sintetizirani od arahidonske kiseline putem aktivnosti ciklooksigenaze, posreduju koštanoj destrukciji i formaciji. Ciklooksigenaza (COX) je početni enzim u pretvorbi arahidonske kiseline u prostaglandine. Izolirana su dva različita oblika ciklooksigenaza, COX-1 i COX-2. COX-1 je konstitutivan i uključen u fiziološke funkcije poput probavne zaštite i homeostaze, dok je COX-2 induktivnog karaktera i uključen u patofiziološke procese poput boli, upale i groznice. Dok molekularne i fiziološke povezanosti koje bi mogle objasniti paradoks koštane destrukcije i formacije inducirane prostaglandinima nisu dobro istražene i shvaćene, osnova paradoksa leži u činjenici da prostaglandini mogu nezavisno stimulirati aktivnost osteoblasta i osteoklasta do te mjere da razaraju i sintetiziraju kost (RADI i sur., 2005). S obzirom na očigledan utjecaj prostaglandina na normalnu koštanu fiziologiju, postavlja se pitanje uloge metabolizma ciklooksigenaza i nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSPUL-a), koji inhibiraju aktivnost ciklooksigenaza tokom cijeljenja kosti kada se nova kost brzo stvara i preoblikuje u zrelu lamelarnu kost.

3.4 Inhibitori ciklooksigenaze

Nesteroidni protuupalni lijekovi obično se koriste za ublažavanje akutnih i kroničnih bolova u mišićima i kostima. Akutne ozljede mišića i kosti karakteriziraju lokalizirano otečenje, upala i bol, a često uključuje i abnormalnu distenziju ili parcijalnu rupturu ligamenata i tetiva ili loma kosti. Kronična oboljenja koštanoga i mišićnoga tkiva poput osteoartritisa ili Pagetove bolesti također prati lokalizirana upala i otok tkiva. Terapija NSPUL-ovima smanjuje lokalnu upalu i bol inhibirajući ciklooksigenaze. Tradicionalni NSPUL-i inhibiraju i COX-1 i COX-2 gotovo jednako i mogu izazvati mnoge nuspojave. NSPUL mogu utjecati na koagulacijske parametre, krvni tlak, funkciju bubrega, a najčešće gastrointestinalni sustav (LANGFORD i sur., 2006). Naime, upotreba NSPUL-a može izazvati gastrointestinalna krvarenja i perforacije koje mogu biti smrtonosne. Nuspojave NSPUL-a pripisuju se inhibiciji COX-1 jer se konstitutivno izražava i funkcionira u zaštiti želučane sluznice i regulaciji agregacije trombocita (GONZALEZ i sur., 2010; LANAS, 2010) . Novi oblik ciklooksigenaznog enzima otkriven je 1989., COX-2 (SIMMONS i sur., 1989; O'BANION i sur., 1991; FLETCHER i sur., 1992). Ovo otkriće potaknulo je interes za definiranje veze između aktivnosti ciklooksigenaze i upale kako bi se razumjela uporaba NSPUL-a i njihove nuspojave.Utvrđeno je da je ekspresija COX-2 inducirana ozljedom tkiva,te nakon štetnih podražaja povezanih s upalom (SALVEMINI i sur., 1993; ZHANG i sur., 1997; SIMMONS i sur., 2004). Ubrzo nakon toga, pretpostavilo se kako NSPUL terapija smanjuje bol i upalu tako što primarno inhibira COX-2, a ne COX-1. Posljedično tome razvijeni su novi lijekovi koji selektivno inhibiraju COX-2. Pretpostavljalo se kako ovi COX-2 selektivni inhibitori smanjuju gastrointestinalne i druge nuspojave jer homeostatske funkcije COX-1 ostaju očuvane. Celekoksib i rofekoksib postali su prvi COX-2 selektivni inhibitori dostupni za kliničku upotrebu. S obzirom da se NSPUL često koriste u terapiji oboljenja koštanomišićnog sustava i boli, njihov utjecaj na cijeljenje loma kosti istraživan je u posljednjih 35 godina (RO i sur., 1976; BARATIERI i sur., 1979; SUDMANN i sur., 1979; ALLEN i sur., 1980; ENDO i sur., 2002; SIMON i sur., 2002; ENDO i sur., 2005; DIMMEN i sur., 2009; O'CONNOR i sur., 2009). Ova istraživanja su pokazala da primjena NSPUL-a i COX-2 selektivnih NSPUL-a može narušiti ili produžiti cijeljenje kosti i smanjiti mehanički integritet kosti koja cijeli.

4 NSPUL UTJECAJ NA EKSPERIMENTALNIM MODELIMA CIJELJENJA KOSTI

4.1. Utjecaj tradicionalnih NSPUL-a na cijeljenje kosti

Mnoga istraživanja pokazala su da tradicionalni NSPUL-i (nespecifični) poput aspirina, indomethacina i ibuprofena ometaju cijeljenje kosti na raznim životinjskim modelima.(tablica 1)(HUUSKO i sur., 1975; RO i sur., 1976; SUDMANN i sur., 1979; ELVES i sur., 1982; TORNKVIST i sur., 1984; SATO i sur., 1986; GOODMAN i sur., 2002; LONG i sur., 2002; GIORDANO i sur., 2003; RIEW i sur., 2003; LEONELLI i sur., 2006; KARACHALIOS i sur., 2007; KRISCHAK i sur., 2007). Ro i sur. 1976prvi su opisali utjecaj tradicionalnih NSPUL-a na ishod cijeljenja kosti. U ovom istraživanju koristili su se zatvorenim, nestabilnim lomovima bedrene kosti u štakora kako bi dokazali da indomethacin odgađa cijeljenje kosti. Specifičnije, indomethacin je usporavao razgradnju hematoma prijeloma i narušavao biomehanička svojstva kosti. Nedugo potom, (ALLEN i sur.,1980) poduprli su ove zaključke dokazavši da indomethacin i aspirin uzrokuju prolongirano cijeljenje kosti kod loma radiusa i ulne štakora (Tablica 3).Daljnja istraživanja u desetljećima koja su slijedila nastavila su podržavati rezultate tih ranijih istraživanja i snažno naglašavala negativne učinke tradicionalnih NSPUL pri cijeljenju kosti. Ibuprofen (30mg/kg na dan) i indomethacin (1mg/kg na dan) dovode do smanjenja mehaničkih svojstava i produženog sazrijevanja kalusa (ALTMAN i sur., 1995). U modelu lomagoljeniceštakora, terapija indomethacinom uzrokovala je smanjenje mineralne gustoće kosti (BMD) na mjestu loma nakon 2tjedna (DIMMEN i sur., 2009). Smanjena BMD korelira sa smanjenim konačnim momentom savijanja i krutosti savijanja u trećem tjednu (DIMMEN i sur., 2009).Isto tako dokazano je da indomethacin primjenjen na modelu loma bedrene kosti štakora smanjuje mehanička svojstva kalusa u 4.-om i 6.-om tjednu nakon loma. Međutim, biomehanička svojstva kalusa između kontrolne skupine i indomethacinom tretirane skupine bila su vrlo slična do 8. tjedna (SIMON i sur., 2002). Druga istraživanja pokazala su dai smanjena snaga kostiju, povezana sa terapijom indomethacinom u ranijoj fazi, nestaje do12.og tjedna nakon loma (BROWN i sur., 2004; MULLIS i sur., 2006). Ovi rezultati pokazuju da neselektivni NSPUL-ovi odgađaju zacjeljivanje prijeloma, ali nemaju nikakvih štetnih utjecaja na krajnji učinak cijeljenja prijeloma u tim životinjskim modelima. Većina istraživanja koja su koristila osteotomiju dokazala suda indomethacin i ibuprofen usporavaju cijeljenje kosti (HUUSKO i sur., 1975; ELVES i sur., 1982; TORNKVIST i sur., 1984; SATO i sur., 1986; KRISCHAK i sur., 2007;

REIKERAAS i sur., 1998). Nasuprot tome, samo nekoliko studija ukazuje na to da NSPUL-ovi imaju malo ili nikakav utjecaj na ishod iscjeljenja prijeloma(RO i sur., 1978; MBUGUA i sur., 1989; MORE i sur., 1989; HUO i sur., 1991; AKMAN i sur., 2002). Jedna studija zaključuje da liječenje indomethacinom nije imalo utjecaja na kortikalno cijeljenje kosti nakon malog oštećenja bušenjem (promjera 2 mm)(KELLER i sur., 1990). Međutim, opseg ove studije bio je ograničen na testiranje vremenski(6 tjedana) te kvantitativnim parametrima. Druga istraživanja pokazuju kako neselektivni NSPUL usporavaju cijeljenje loma u većih životinjskih modela poput zečeva i pasa(BARATIERI i sur., 1979; SUDMANN i sur., 1979; O'CONNOR i sur., 2009). Koštana resorpcija i formacija može biti regulirana prostaglandinom E2(BLACKWELL i sur., 2010).Dokazano je da se prostaglandini E i F također otpuštaju nakon loma(DEKEL i sur., 1981).Terapiranje neselektivnim ili COX-2 specifičnim NSPUL-ovima u dozama usporedivim s dozama namijenjenim ljudima (diclofenac, 5mg/kg ili celekoksib, 4mg/kg) smanjuju razine prostaglandina E2 i F2 α u kalusu te negativno utječu na cijeljenje kosti (SIMON i sur., 2007). Smatra se da smanjenje količine prostaglandina u okolini loma doprinosi lošijem cijeljenju kosti.

Tablica 1 Utjecaj NSPUL-a na cijeljenje kosti: animalni modeli

NSPUL	Vrsta, dob, spol, težina	Model kosti	Doza(e) Mg/kg/ dan	Primjena	Test	Vremenski period	Ishod	Ref.
Aspirin	Štakor ♂, 45 dana	Lom radiusa i ulne	100, 200, 300	PO 21 dan	Histološki	22 dana	Inhibicija kod najveće doze	ALLEN, 1980
Celekoksib	Miševi, 8-10tj., ≈25g	Zatvoreni, stabilni lom goljenice	10, 50	PO, pelete	Histološki, Mehanički test	12 tjedana	Bez učinka	MULLIS, 2006
Celekoksib	Štakor, ♂, 6-9mj., ≈580g	Zatvoreni, stabilni lom bedr. kosti	4	PO	Histološki, mehanički test, RTG	8 tjedana	Inhibicija	SIMON, 2002
Celekoksib	Štakor, ♂, 300g	Zatvoreni, stabilni lom bedr. kosti	3	PO	Histološki, mehanički test, RTG	12 tjedana	Bez učinka	BROWN, 2004
Celekoksib	Štakor, ♀, ≈270g	Zatvoreni, stabilni lom bedr. kosti	2, 4, 8	PO	RTG, mehanički test	8 tjedana	Inhibicija u svim dozama, ne prije 5.og dana	SIMON, 2007
Celekoksib	Štakor, ♀, 250-300g	Zatvoreni, stabilni lom bedr. kosti	4	PO	Histološki, mehanički test, RTG	5 tjedana	Inhibicija	KATOH, 2010

4.2 Utjecaj COX-2 selektivnih inhibitora na cijeljenje kosti

S pojavom COX-2 selektivnih NSPUL-a i njihove nominalne prednosti u odnosu na tradicionalne NSPUL, liječnici su ih počeli koristiti za akutno i kronično liječenje boli. Kao rezultat toga znanstvenici su počeli proučavati utjecaj COX-2 selektivnih NSPUL na cijeljenje kosti. Učinci COX-2 inhibitora na cijeljenje kosti i dalje su diskutabilni. Mnoga postojeća istraživanja pronašla su inhibitorno djelovanje istih (FORWOOD i sur., 1996; MARTIN i sur., 1999; SIMON i sur., 2002; GOODMAN i sur., 2002; GERSTENFELD i sur., 2003; BERGENSTOCK i sur., 2005; GOODMAN i sur., 2005; MULLIS i sur., 2006; MURNAGHAN i sur., 2006; KARACHALIOS i sur., 2007; SIMON i sur., 2007;), ali nekoliko istraživanja je pokazalo da nemaju trajne negativne posljedicena cijeljenje koštanoga tkiva. (HO i sur., 1998; LONG i sur., 2002; BROWN i sur., 2004; MULLIS i sur., 2006). Glavni čimbenici koji mogu činiti razliku između tih studija su varijabilnost doziranja lijeka, trajanje doziranja, broj životinja korištenih u svakoj studiji, dob životinje, vrsta modela prijeloma te vrjednovanje rezultata.Simon i sur. pokazali su da je cijeljenje loma bedrene kosti znatno pogoršano kod COX-2 knockout miševa (pokusni miševi sa inaktiviranim genom)i kod štakora tretiranih celekoksibom ili rofekoksibom; dodatno utvrđujući važnost COX-2 za cijeljenje kosti(SIMON i sur., 2002). Rendgensko i histološko ispitivanje cijeljenja loma bedrene kosti kod COX-1 knockout miševa i COX-2 knockout miševa pokazao je obilan kalus koji podliježe endohondralnoj osifikaciji. Cijeljenje loma bedrene kosti kod štakora kojima je davan rofekoksib(3mg / kg, QD) također je znatno pogoršano na osnovi radioloških i histoloških promatranja. Nasuprot tome, liječenje celekoksibom (4 mg / kg, QD) izgledalo je manje štetno za liječenje loma bedrene kosti kod štakora temeljeno na analizi torzionog mehaničkog ispitivanja(SIMON i sur., 2002). Podaci ostalih istraživanja podupiru ove rezultate dokazujući da COX-2 inhibitori poput celekoksib, rofekoksib, parekoksib i meloksikam djeluju nepovoljno na cijeljenje loma u miševa i štakora(GERSTENFELD i sur., 2003; BERGENSTOCK i sur., 2005; GOODMAN i sur., 2005; MURNAGHAN i sur., 2006; KARACHALIOS i sur., 2007). Primjerice, Gerstenfeld i sur 2003. pokazali su da je peroralna doza parekoksib-a (1,5 mg / kg) uzrokovala zakašnjelo cijeljenje loma bedrene kosti u mužjaka štakora smanjujući materijalna svojstva kosti tri tjedna nakon loma i strukturnih svojstava u petom tjednu nakon loma. Nasuprot tome, nekoliko studija je pokazalo da inhibitori COX-2 nemaju trajan učinak na cijeljenje loma bedrene kosti(LONG i sur., 2002; BROWN i sur., 2004; MULLIS i sur., 2006). Brown i sur. ispitali su učinke celekoksib-a (3

mg / kg / dan) na lom bedrene kosti štakora(BROWN i sur., 2004) (Tablica 1). Lijekovi su davani dnevno u hrani počevši jedan dan nakon loma kosti i nastavljeni do žrtvovanja. Cijeljenje je utvrđivano kvalitativnom histologijom, radiografski i mehaničkim testiranjem u 4, 8 i 12 tjedana nakon prijeloma. Rezultati su pokazali da celekoksib dovodi samo do ranih, negativnih histoloških promjena koje nisu pokazale značajne razlike u dvanaestom tjednu istraživanja.Provedeno je istraživanje gdje su miševi s lomom goljenice hranjeni peletama s celekoksibom (10mg/kg i 50mg/kg) i rofekoksibom (1mg/kg i 5mg/kg) na dan (MULLIS i sur., 2006).Cijeljenje je mjereno histološkom analizom u drugom tjednu i biomehaničkim testiranjem u četvrtom, osmom i 12.-om tjednu.Niske doze rofekoksiba (1 mg / kg) dovele su do smanjenja mehaničkih svojstava u osmom tjednu nakon prijeloma, ali nakon 12 tjedana nije nađena nikakva razlika (Tablica 2). Da bi se riješila ta odstupanja, provedena je sveobuhvatna studija za određivanje doza i vremenski ovisnih učinaka COX-2 selektivnih NSPUL na liječenje prijeloma u štakora(SIMON i sur., 2007). Prethodne studije, koje su testirale učinke celekoksiba na liječenje prijeloma, koristile su muške štakore u kojima celekoksib ima vrijeme eliminacije od približno četiri sata(SIMON i sur., 2002; LONG i sur., 2002; GERSTENFELD i sur., 2003; BROWN i sur., 2004; MULLIS i sur., 2006; MURNAGHAN i sur., 2006). Nasuprot tome, ova studija koristila je ženske štakore jer je vrijeme uklanjanja celekoksib-a kod ženskih štakora približno 11 sati, što je vrlo slično onom kod ljudi(SIMON i sur., 2007). Podaci iz ove studije pokazali su da je celekoksib apliciran u terapijskoj dozi za ljude (4 mg / kg, BID) tijekom ranih faza cijeljenja prijeloma, značajno smanjio mehanička svojstva kalusa bedrene kosti u kasnijim fazama cijeljenja i povećao broj nesraštenih koštanih ulomaka kostiju (SIMON i sur., 2007). Ova studija je također pokazala da odgađanje primjene celekoksiba do sedam ili više dana nakon prijeloma poboljšava cijeljenje. Druge studije podupiru ove rezultate što upućuje na to da bi izbjegavanje primjene NSPUL u ranoj fazi liječenja prijeloma moglo smanjiti negativne učinke(GERSTENFELD i sur., 2003; VIRCHENKO i sur., 2004).Ovo istraživanje pokazalo je da negativni učinci celekoksib-a na liječenje prijeloma ovise o dozi lijeka, duljini liječenja te vremenu primjene celekoksib-a od nastanka loma kosti. Na kraju, podaci potkrepljuju zaključak da primjena COX-2 selektivnih NSPUL-a negativno utječe na cijeljenje loma.

Tablica 2.

NSPUL	Vrsta, dob, spol, težina	Model kosti	Doza(e) Mg/kg/ dan	Primjena	Test	Vremenski period	Ishod	Ref.
Rofekoksib	Miševi, ♂, 8-10tj., ≈25g	Zatvoreni, stabilni lom goljenice	1, 5	PO, pelete	Histološki, mehanički test	12 tjedana	Inhibicija u 8tj.	MULLIS, 2006
Rofekoksib	Štakor, ♂, 6-9mj., ≈580g	Zatvoreni, stabilni lom bedr.kosti	3	PO	Histološki, mehanički test, RTG	8 tjedana	Inhibicija	SIMON, 2002
Rofekoksib	Štakor, ♂, 300g	Zatvoreni, stabilni lom bedr. kosti	8	PO	Histološki, RTG	4 tjedna	Inhibicija	LEONELLI, 2006
Rofekoksib	Kunić, ♂, 3mj., 3.5kg	Otvoreni, nestabilni lom lakatne kosti	0,5	PO	Histološki, mehanički test	6 tjedana	Inhibicija	KARACHALIOS, 2007
Rofekoksib	Kunić, ♂, 3.5kg	Fibula, osteotomia	50	PO 3x na dan, 28 dana	Histološki, mehanički test	12 tjedana	Inhibicija	O'CONNOR , 2009
Meloksikam	Kunić, ♂, 3mj., 3.5kg	Otvoreni, nestabilni, lom lakatne kosti	0,3	PO	Histološki, mehanički test	6 tjedana	Inhibicija	KARACHALIOS, 2007
Ketorolac	Miševi, ♂, 8-10tj., ≈25g	Zatvoreni, stabilni lom goljenice	2	PO, pelete	Histološki, mehanički test	12 tjedana	Inhibicija u 4tj.	MULLIS, 2006

Tablica 3.

NSPUL	Vrsta, dob, spol, težina	Model kosti	Doza(e) Mg/kg/ dan	Primjena	Test	Vremenski period	Ishod	Ref.
Indometacin	Pas, 12-21kg	3. metakarpalna kost	5	PO BID 8 dana	Histološki, RTG	8 tjedana	Bez učinka	MBUGUA, 1989
Indometacin	Kunić, ♂, 3mj., 3.5kg	Otvoreni, nestabilni lom lakatne kosti	2	PO	Histološki, mehanički test	6 tjedana	Inhibicija	KARACHALIOS, 2007
Indometacin	Kunić, 3.5kg	Otvoreni, nestabilni lom goljenice	12.5	U vodi za piće, 4 dana prije operacije, PO	Histološki	6 tjedana	Bez učinka	KELLER, 1990
Indometacin	Kunići, ♂i ♀, 4mj., 2.1-3.5kg	Otvoreni, nestabilni lom bedrene kosti	5	PO	Mehanički test	8 tjedana	Inhibicija	TORNKVIST, 1984
Indometacin	Štakor, ♂, ≈300g	Zatvoreni, stabilni lom bedrene kosti	1	PO	Histološki, mehanički test, RTG	12 tjedana	Bez učinka	BROWN, 2004
Indometacin	Štakor, ♂, 45 dana	Zatvoren nestabilni lom podlaktice	1, 2, 4	PO 21 dan	Histološki	22 dana	Inhibicija kod svih doza	ALLEN, 1980
Indometacin	Štakor, ♂	Zatvoreni, nestabilni lom bedrene kosti	2	PO	Histološki, mehanički test, RTG	24 dana	Inhibicija	RO, 1976

* PO = post-op; BID = 2x na dan.

5 ISTRAŽIVANJA UČINAKA NSPUL-A NA CIJELJENJE I FORMIRANJE KOSTI U LJUDI

Terapija NSPUL može imati klinički važan utjecaj na formiranje kosti u ljudi. Negativan utjecaj NSPUL-a pri formiranju kosti kod životinja dobro je dokumentiran. Međutim, puno se manje zna o učinku NSPUL-a u osteogenezi u ljudi. U jednom opsežnom istraživanju pokazano je da primjena NSPUL –a može inhibirati osteogenezu smanjujući količinu ili učestalost stvaranja heterotopnog koštanoga tkiva nakon prijeloma bočnog zgloba i vrata bedrene kosti te nakon artroplastike bočnog zgloba(MCLAREN, 1990; GEBUHR i sur., 1995; MOORE i sur., 1998; BURD i sur., 2001. Mehanizam koji se temelji na NSPUL-induciranoj redukciji heterotopnog stvaranja kostiju ostaje nepoznat. Trenutno ne postoje značajna istraživanja koja proučavaju učinak NSPUL-a na cijeljenje lomova kod ljudi. Međutim, nekoliko manjih studija ispitalo je djelovanje NSPUL-a na cijeljenje kosti u ljudi (Tablica 4). Retrospektivne studije pokazuju da NSPUL terapija može znatno narušiti cijeljenje prijeloma kod ljudi. U retrospektivnoj studiji osmišljenoj kako bi se procijenili učinci reaminga(proširenja) na rezultate iscjeljivanja loma bedrene kosti, utvrđeno je da je najznačajnija varijabla koja utječe na uspješno iscjeljivanje loma bedrene kosti bila upotreba NSPUL-a(GIANNOUDIS i sur., 2000). Ispitani su podaci 377 pacijenata s lomom bedrene kosti, a u 32 su pronađeni nezarasli lomovi. Od ostatka bolesnika, 67 je imalo usporedive ozljede, ko-morbiditete, i povijest liječenja, ali u tih bolesnika bedrena kost je zacijelila. Od 32 bolesnika s nesraštenim kostima 62.5% je koristilo NSPUL, dok je samo 13.4% bolesnika sa zacijeljenom bedrenom kosti koristilo NSPUL. Uvjerljivu retrospektivnu studiju izveli su Burd i sur. (BURD i sur., 2001). Prije toga, ova skupina je izvršila randomizirano ispitivanje kako bi se usporedila učinkovitost lokalizirane terapije zračenjem nasuprot sistemske indomethacinske terapije u smanjenju učestalosti ili težine heterotopne osifikacije nakon acetabularnih prijeloma(BURD i sur., 2001). Koristeći istu skupinu pacijenata, Burd et al. su se zapitali da li je terapija indomethacinom utjecala na cijeljenje dodatnih lomova dugih kosti u istraživanim pacijentima(BURD i sur., 2003). Pronašli su 7% nesraštenih kostiju u lokaliziranoj terapiji zračenjem i 26% nesraštenih kostiju u grupi terapiranoj indomethacinom. Jedna retrospektivna studija, međutim, nije uspjela identificirati bilo koji negativni učinak uporabe NSPUL-a na cijeljenje humerusa(BURD i sur., 2003). Otprilike 10% od 9995 bolesnika u studiji s lomom humeralne osovine koristilo je NSPUL u jednom trenutku u razdoblju od 90 dana nakon loma. Samo je 105 od 9995 bolesnika podleglo operaciji sanacije

nesraštenih kostiju, a 33 od tih 105 pacijenata s nesraštenim kostima je koristilo NSPUL. Druga istraživanja također ukazuju da uporaba NSPUL-a može povećati rizik prijeloma i smanjiti mineralnu gustoću kostiju(BAUER i sur., 1996; VAN STAA i sur., 2000). Nemamo saznanja o bilo kakvim humanim istraživanjima koja su specifično ispitala djelovanje COX-2 selektivnih inhibitora na cijeljenje lomova kosti.

Tablica 4. Utjecaj NSPUL-a na cijeljenje kosti: humana istraživanja

NSPUL	Broj pacijenata	Dob	Zahvat, ozljeda	Doza(e)	Vremenski period	Rezultat	Ref.
Piroksikam	Exp:21 Kont:21	63	Lom, distalni radius	20mg/kg/dan 8 tjedana	12 tjedana	Exp: 28% zahtjevalo operaciju Kont: -	ADOLPHSON, 1993
Ibuprofen	Exp:32 Kont:67	Exp:35 Kont:38	Lom	Različite, 1-21tjedan	7+ mj.	Inhibicija Exp: 10.74 omjer vjerojatnosti	GIANNOUDIS, 2000
Indometacin	Exp:74 Kont:36	Exp:39.5 Kont:38.6	Lom acetabuluma zdjelice	25mg QID 6 tjedana	3-11mj.	Inhibicija, Exp:29% nesraštenih Kont:7% nesraštenih	BURD, 2003
NSPUL-i	Exp:893 Kont:5781	Exp:74 Kont:74	Lom	5-7x na tjedan	24 mj.	Nema zaštitnog učinka na naknadni rizik od prijeloma	BAUER, 1996
Indometacin	Exp:41 Kont:34	Exp:43 Kont:47	Lom acetabuluma zdjelice	25mg, 3x na dan, 6 tjedana	12mj.	Nema razlike	MOORE, 1998

*Exp = eksperimentalna skupina; Kont = kontrola; QID = 3x na dan.

6 ULOGA COX-2 U CIJELJENJU KOSTI

Očito je da je COX-2 pozitivan reglulator u cijeljenju lomova kosti. Međutim, mehanizmi kojima COX-2 potiče cijeljenje ili kojima COX-2 otežava cijeljenje kosti su nepoznati. Vjerojatno je da gubitak funkcije COX-2 zbog NSPUL-a mijenja mnoge stanične signalne putove potrebne za cijeljenje kostiju . Jedna teorija objašnjava da je djelovanje COX-2 esencijalno za pretvorbu mezenhimalnih stanica u osteoblaste koji su potrebni za normalno cijeljenje kosti. Stoga je očekivano da inhibicija aktivnosti COX-2 negativno utječe na osteogenezu.Zhang i sur. otkrili su da kultura stanica koštane srži COX-2 knockout miševa (onih s inhibiranim/izbačenim COX-2) proizvodi manje osteoblasta nego divlji miševi, (ZHANG i sur., 2002). Također je pokazano da COX-2 doprinosi BMP-2 induciranoj osteoblastičkoj diferencijaciji *in vitro* i *in vivo* tijekom ektopične formacije kosti(CHIKAZU i sur., 2002). Međutim, COX-2 knockout miševi su normalno formirali kosture i pokazali zadovoljavajući postnatalni rast što ukazuje da gubitak aktivnosti COX-2 inherentno ne sprječava diferencijaciju matičnih stanica u osteoblaste.

Druga teorija objašnjava da analgetski učinak NSPUL-a omogućuje eksperimentalnim životinjama da se prijevremeno i često oslanjaju na ozlijeđeni ud, što dovodi do ponovne ozljede i produženog cijeljenja. Ova teorija testirana je na štakorima s lomom bedrene kosti koristeći celekoksib (3mg/kg/dan ili 6mg/kg/dan) i acetaminopen (60mg/kg/dan ili 300mg/kg/dan) za ublažavanje boli u trajanju od 10 dana nakon loma(BERGENSTOCK i sur., 2005). Rezultati istraživanja pokazali su da je celekoksib inhibirao cijeljenje, dok acetaminopen nije utjecao na cijeljenje. Drugo istraživanje koristilo je acetaminopen, celekoksib i SCIO-469 (COTTRELL i sur., 2009). Svi su lijekovi pružali značajno olakšanje boli, međutim samo celekoksib je za rezultat imao otežano cijeljenje kosti.Ovi podacipokazali su da sama analgezija nije dovoljan uzrok negativnih utjecaja celekoksib-a ili NSPUL terapije u cijeljenju loma. Stoga teorija ponovno ozljeđivanje zbog analgetskog učinka NSPUL-a nije podržana trenutnim eksperimentalnim dokazima. Treća teorija kaže da COX-2 ovisni prostaglandini potiču angiogenezu koja je potrebna za cijeljenje loma(EINHORN i sur., 1995; HAUSMAN i sur., 2001). Istraživanja su pokazala da prostaglandini i COX-2 reguliraju angiogenezu koja je od vitalne važnosti za osteogenezu (KATOH i sur., 2010). Murnaghan i sur. poduprli su ovu teoriju dokazavši da primjena rofekoksib-a reduciraprotok krvi u području lomne pukotine i otežava cijeljenje kosti na modelu loma kosti kod miša(MURNAGHAN i sur., 2006). S druge strane dokazano je da terapiranje COX-2

knockout miševa prostaglandin E2 receptor 4 (EP4) agonistom povećava prokrvljenost kalusa i pojačava cijeljenje kosti(XIE i sur., 2009). Ovi podaci ukazuju da COX-2 ima ulogu u poticanju angiogeneze tijekom cijeljenja loma. Četvrta teorija govori da gubitak ili inhibicija COX-2 skreće arahidonsku kiselinu u 5-lipoxygenazu (5-LO) put koji mijenja upalni odgovor i negativno utječe na cijeljenje kosti[99]. Lipooksigenaza (5-LO) je ključni enzim u produkciji leukotriena iz arahidonske kiseline i inhibicija 5-LO ubrzava cijeljenje loma u štakora(COTTRELL i sur., 2009). Leukotrieni mogu smanjiti proliferaciju osteoblasta i njihovu aktivnost *in vitro*, te stimulirati formaciju i aktivnost osteoklasta(REN i sur., 1991; GALLWITZ i sur., 1993; GARCIA i sur., 1996; BONEWALD i sur., 1997; TRAIANEDES i sur., 1998; MAXIS i sur., 2006). Razina leukotriena B4 u kalusu veća je 4,4 puta u COX-2 knockout miševa.Ovi podaci ukazuju da aktivnost 5-LO inhibira cijeljenje loma, a gubitak COX-2 povećava aktivnost 5-LO. To znači da smanjena koncentracija COX-2 uzrokuje otežano cijeljenje kosti.

U modelu cijeljenja bedrene kosti štakora primjena celexosiba značajno utječe na cijeljenje na nekoliko načina(COTTRELL i sur., 2009). Primjena celekoksiba utječe na proliferaciju stanica kalusa, ali ne utječe na brojnost stanica.Celekoksib također dovodi do povećanja razine agrekana i tip II kolagen mRNA, koji ukazuju na diferencijaciju hondrocita i stvaranje hrskavice. Ovo je u skladu s histološkim i histomorfometrijskim mjerenjima koja pokazuju stvaranje hrskavičnog kalusa u modelima životinja s nedostatkom COX-2. Međutim, razina tipa X kolagen mRNA bila je značajno smanjena u odnosu na visoku razinu tipa II kolagena i agrekan mRNA.To nam govori da kalusni hondrociti u štakora koji su primali celekoksib nisupodlegli hipertrofiji što reducira formiranje kalcificirane hrskavice, narušava endohondralnu osifikaciju te u konačnici sprječava cijeljenje. Iako postoje mnoge teorije o ulozi COX-2 u liječenju lomova, pitanja i dalje ostaju neodgovorena. Primjerice ne znamo kada ili u kojim stanicama nastajeCOX-2 tokom cijeljenjaloma.Nadalje,niti znamo tipove prostaglandina i drugih eikozanoida proizvedenih tijekom cijeljenja loma te kako gubitak funkcije u jednom od enzima koji metabolizira arahidonsku kiselinu utječe na aktivnost preostalih enzima. Razumijevanje tih i drugih osnovnih parametara metabolizma arahidonske kiseline tijekom cijeljenja prijeloma pružit će ključne informacije potrebne za pročišćavanje hipoteza, koje se mogu testirati, za razjašnjenje funkcije COX-2 tijekom regeneracije kostiju.

7 RASPRAVA

Iako NSPUL negativno utječu na cijeljenje kosti, ne postoje dovoljan broj istraživanja za nekorištenje NSPUL-a prilikom lomova i ortopedskih zahvata u domaćih životinja. Naravno, lomovi i osteotomije mogu zacijeliti prilikom upotrebe NSPUL-a i oni su važni zbog njihovog protuupalnog i analgetsko djelovanja. Međutim, kada su brzina i djelotvornost cijeljenja kosti od velike važnosti, kao što je to slučaj prilikom odgođenog cijeljenja, nemogućnosti zacjeljenja, ili kod pacijenata gdje se očekuje usporeno cijeljenje kosti, razborito je razmotriti dostupne podatke o djelovanju NSPUL-a. Kod modela štakora, COX-2 selektivni NSPUL ne pomažu prilikom cijeljenja kosti u usporedbi s neselektivnim NSPUL-ima. U ljudi najvjerodostojnija studija koja pokazuje klinički relevantan učinak na cijeljenje kosti je ona s indomethacinom, neselektivnim NSPUL-om (BURD i sur., 2003). U pasa cijeljenje kosti inhibirao je carprofen, COX-2 selektivni NSPUL (OCHI i sur., 2009). Odluka o korištenju COX-2 selektivnih ili neselektivnih NSPUL trebala bi se svoditi na druge kriterije poput štetnih nuspojava, cijene i dostupnosti. Recentna literatura navodi da visoke doze i dulja primjena NSPUL-a ima negativan učinak na cijeljenje kosti. Također postoje dokazi koji podržavaju tvrdnju da NSPUL inducirana inhibicija cijeljenja kosti može biti reverzibilna kada se prekine upotreba NSPUL-a. Istraživanja koja pokazuju inhibiciju cijeljenja kosti kod ljudi i pasa uključuju dugotrajnu upotrebu NSPUL-a. Stoga je smisleno ukinuti terapiju NSPUL-ima u razumnom vremenu nakon ozlijede, ako NSPUL više nije potreban kao analgetik. Mnogi lokalni i sustavni čimbenici također mogu utjecati na cijeljenje kosti, te tako dodatno otežati identifikaciju nezavisnog učinka NSPUL-a. Lokalni čimbenici uključuju tip loma, lomnu pukotinu, fiksacijsku tehniku (položaj, stabilnost), prisutnost infekcije, te stupanj prokrvljenosti. Sustavni čimbenici uključuju dob, spol, metabolički i nutritivni status, istovremene bolesti (endokrinopatije, neoplazije, imunodeficijencija, kronične upalne bolesti, primarne mišičnoskeletne bolesti), lijekovi (kortikosteroidi, kemoterapeutici, antibiotici, antikoagulansi), i dr.(POUNTOS i sur., 2008). Upotreba NSPUL-a može imati negativne, dodatne, ili sinergističke učinke na cijeljenje kosti u kombinaciji s drugim uvjetima ili okolišnim čimbenicima. Do danas je dostupno malo informacija koje istražuju ove kombinirane učinke ili identificiraju pacijente s većim rizikom od usporenog cijeljenja loma induciranog NSPUL-ima.Dugi niz godina NSPUL-i su igrali važnu ulogu u kontroliranju posttraumatske boli. Međutim, nekoliko autora istaknulo je da NSPUL-i mogu inhibirati proces cijeljenja kosti. Dostupni podaci koji su dobiveni istraživanjima na animalnim modelima procjenjuju svojstva novoformirane kosti u životinja koje su primale NSPUL u

različitim dozama i trajanju. Očekivani su jednoliki rezultati. Ali naprotiv, rezultati su raznoliki i kontradiktorni. Postavlja se pitanje kako brojna istraživanja nisu mogla donijeti jasno objašnjenje utjecaja i načina djelovanja NSPUL-a na cijeljenje kosti u životinja. Razlike nisu bile samo između vrsta, doza i trajanja primjene lijeka, već i među identičnim parametrima. Na primjer, 30mg/kg/dan ibuprofena davanog peroralno štakorima nije imalo utjecaja na prijelom bedrene kosti (HUO i sur., 1991). Dok su Altman i sur. 1995. uočili sporiji proces cijeljenja i značajne razlike mehaničkih i histoloških svojstava bedrene kosti u štakora. Mnogi istraživači koristili su dugotrajnu primjenu ili visoke doze NSPUL-a. Na primjer, Leonelli i sur. usporedili su utjecaj 30mg/kg/dan ibuprofena i 8mg/kg/dan rofekoksiba na zatvorenom lomu bedrene kosti na modelu štakora (LEONELLI i sur., 2006). Njihovi rezultati pokazali su 64.7% nezacjeljenja kod štakora koji su primali rofekoksib i 17.6% ko štakora koji su primali ibuprofen, ali doza rofekoksiba bila je 10 puta veća nego doza koja se daje ljudima prilikom akutne boli. Također je nejasno je li ova raznolikost rezultata rezultat među- ili unutar- vrsnih razlika, kompenzacijskih lokalnih i sistemskih čimbenika, ili čak različite farmakokinetike lijekova u laboratorijskim modelima u usporedbi s ljudima. Moguće je i da sekundarni čimbenici utječu na konačni rezultat. Složenost loma također predstavljaju važan čimbenik koji bi mogao objasniti razlike između istraživanja. Složenost loma, korištena sila, ozljeda mekih tkiva i stabilnost loma mogu utjecati na konačni rezultat. Ovu tvrdnju dodatno potvrđuje i istraživanje Engebretsena i sur. koji su pokazali da je indomethacin djelovao negativno kod nestabilnih lomova, dok kod stabilnih nije imao značajan utjecaj u usporedbi s kontrolama (REIKERAAS i sur., 1998). Moguće je, na primjer, da NSPUL interferira samo u endohondralnoj osifikaciji, stoga, ako je prijelom multifragmentalan i vrlo nestabilan, NSPUL-ovi mogu imati štetan učinak na proces konsolidacije, dok bi u stabilnijem prijelomu NSPUL-ovi mogli biti potpuno neučinkoviti. Jedino pozitivna mogla bi biti činjenica da je većina studija na životinjama uključivala male životinje, to jest glodavce i kuniće, dok raspoloživa ispitivanja koja uključuju koze i pse ne pokazuju nikakav učinak na cijeljenje kostiju (MBUGUA i sur., 1989; VAN DER HEIDE i sur., 2008). To bi mogao biti važan nalaz jer karakteristične razlike među vrstama s obzirom na sastav kostiju, gustoću kostiju, mehaničku sposobnost i stanice kostiju postoje i izraženije su kod malih glodavaca, (AERSSENS i sur., 1998). S druge strane, farmakokinetika NSPUL-a mogla bi biti različita kod životinja i ljudi. I dapače, istraživanja koja analiziraju kinetičke parametre NSPUL-a pokazuju značajne razlike (RAHAL i sur., 2008; MIYATAKE i sur., 2009). Ipak, potrebna su dodatna istraživanja za potvrđivanje ovih pretpostavki. Također je i u in vitro istraživanjima teško objasniti dobivene rezultate. Neke studije pokazuju snažan

učinak NSPUL-a na potencijal osteoprogenitornih stanica da proliferiraju i diferenciraju prema osteogenoj lozi, dok druge studije to opovrgavaju. Odlučujući čimbenik može biti korištenje stanica različitih vrsta koje uključuju stanice glodavaca, kokoši, konja, pasa, svinja i ljudskih stanica (TORNKVIST i sur., 1984; MULLER i sur., 2011). Ova raznolikost mogla bi biti ključna jer stanice životinja mogu reagirati drugačije nego ljudske stanice. Razlike mogu postojati i između istih osteoprogenitornih stanica izoliranih od ljudi s prijelomom i onih bez prijeloma, jer se aktiviraju sustavni signali koji prisiljavaju stanice na proliferaciju ili diferencijaciju u određenom smjeru kao rezultat traumatskog poticaja (POUNTOS i sur., 2008). Vrijedi reći da NSPUL mogu utjecati na osteoprogenitorne stanice putem daleko različitim od inhibicije COX-1 i COX-2 enzima, stoga bi razlike u parametrima kulture tkiva mogle utjecati na konačni rezultat. Ovaj takozvani „ne-COX efekt“ nažalost je slabo shvaćen.

8 ZAKLJUČAK

Nesteroidni protuupalni lijekovi zbog svoje sposobnosti inhibicije produkcije prostaglandina, ublažavaju lokalni upalni odgovor, desenzibilizirajući periferne receptore boli. Iako su dobri analgetici, neke studije pokazale su da mogu inhibirati cijeljenje kosti, dok se druge studije ne slažu s tom tvrdnjom. To je izazvalo širok raspon odgovora medicinske zajednice, od preporučivanja opreznog korištenja do preporuka izbjegavanja nesteroidnih protuupalnih lijekova kod prijeloma. U nedostatku čvrstih znanstvenih dokaza koji se odnose na uporabu NSPUL-a nakon prijeloma, ne može se donijeti konačan sud u pogledu njihove upotrebe. Međutim, na temelju dostupne literature, mogu se izdati neke jednostavne pažljivo izvedene preporuke. Prema mišljenju autora, postoje slabi dokazi koji bi bili uzrok kontraindiciranosti primjeneNSPUL-a nakon loma. Kliničari bi ih trebali koristiti kod pacijenata niskog rizika i koristiti ne duže od tjedan dana nakon loma. Potrebna su dodatna dobro kontrolirana klinička ispitivanja. Odabir, randomizacija pacijenata i načini prevladavanja etičkih problema su ključni. Osim toga, definiranje puta kojim NSPUL utječu na stanice kosti bio bi od najveće važnosti.

9 SAŽETAK

Ovaj pregled nastojao je pružiti nepristranu analizu trenutne literature o nesteroidnim protuupalnim lijekovima i njihovom utjecaju na cijeljenje kosti. Istraživanja pokazuju da NSPUL-i inhibiraju ili odgađaju cijeljenje prijeloma u većoj ili manjoj mjeri ovisno o specifičnom lijeku, načinu primjene, trajanju primjene i sposobnosti inhibicije COX-2. Većina animalnih studija i nekolicina humanih studija koje postoje podržavaju ovaj zaključak. Budući da je sve jasnije da je funkcija COX-2 kritična za regeneraciju kosti, dobro bi bilo definirati omjer rizika i koristi za uporabu NSPUL-a. Potrebno je uzeti u obzir opće stanje pacijenta, kao što je težina prijeloma, starost, dijabetes i kardiovaskularno zdravlje prilikom procjene omjera rizika i koristi. Daljnja istraživanja potrebna su za definiranje uloge COX-2 u regeneraciji kostiju i hoće li NSPUL terapija dodatno otežati cijeljenje frakture ili druge regenerativne procese s obzirom na opće stanje pacijenta. Istraživanja na glodavcima i kunićima pokazala su jasne dokaze da NSPUL-i negativno utječu na cijeljenje kosti. Klinička važnost ovog učinka ostaje upitna u pogledu veterinarske i humane medicine. Buduća eksperimentalna kliničkaistraživanja na domaćim životinjama su potrebna kako bi uputila veterinare koje NSPUL-e, kada, u kojoj dozi i koliko dugo koristiti u pacijenata s lomom kosti.

10 SUMMARY

EFFECT OF NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS ON BONE HEALING

This review strived to provide an unbiased analysis of the current literature in regard to nonsteroidal anti-inflammatory drugs and their effect on bone healing. Overwhelmingly, this review demonstrates that NSAIDs inhibit or delay fracture healing to a greater or lesser degree, depending on the specific drug, mode of administration, administration period and ability to inhibit COX-2. The majority of animal studies and the few human studies that exist support this conclusion. Since it is increasingly clear that the function of COX-2 is critical for bone regeneration, defining the risk-benefit ratio for NSAID use is critical. Patient co-morbid conditions, such as, fracture severity, advanced age, diabetes, and cardiovascular health, will need to be considered when assessing the risk-benefit ratio. Future research is needed to define the role of COX-2 in bone regeneration and whether NSAID therapy will further impair fracture healing or other regenerative processes in the presence of these co-morbid conditions. Research using rodent and rabbit models provides strong evidence that NSAID negatively affect bone healing. Whether this effect is clinically important is controversial in both human and veterinary medicine. Further experimental and clinical trials involving domestic species and veterinary NSAID are needed to guide veterinarians as they decide which, when, atwhat dose, and for how long NSAID should be prescribed after bone injury.

11LITERATURA:

1. ADOLPHSON, P., H. ABBASZADEGAN, U. JONSSON, N. DALEN, H.E. SJOBERG, S. KALEN (1993): No effects of piroxicam on osteopenia and recovery after Colles' fracture—A randomized, double-blind, placebo-controlled, prospective trial. Arch. Orthop. Trauma Surg.112, 127–130.
2. AERSSENS, J., S. BOONEN, G. LOWET, J. DEQUEKER (1998): Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potential implications for in vivo bone research. Endocrinology, vol. 139, no. 2, pp. 663–670.
3. AKMAN, S., A. GOGUS, N. SENER, B. BILGIC, B. AKSOY, F. SECKIN (2002):Effect of diclofenac sodium on union of tibial fractures in rats. Adv. Ther19, 119–125.
4. ALTMAN, R. D., L. L. LATTA, R. KEER, K. RENFREE, F. J. HORNICEK, K. BANOVAC (1995): Effect of nonsteroidal antiinflammatory drugs on fracture healing: a laboratory study in rats. Journal of Orthopaedic Trauma, vol. 9, no. 5, pp. 392–400.
5. ALLEN, H.L., A. WASE, W.T. BEAR (1980): Indomethacin and aspirin: Effect of nonsteroidal antiinflammatory agents on the rate of fracture repair in the rat. Acta Orthop.51, 595–600.
6. ANANDARAJAH, A. P., E. M. SCHWARZ (2009):Bone loss in the spondyloarthropathies: role of osteoclast, RANKL, RANK and OPG in the spondyloarthropathies. Adv Exp Med Biol. 649:85–99.
7. BARATIERI, A., R. DELI (1979):The effect on bone repair of aspirin cones placed in extraction sockets in dogs: A histopathologic study. J. Oral Pathol.8, 198–206.
8. BAUER, D. C., E. S. ORWOLL, K. M. FOX, T. M. VOGT, N. E. LANE, M. C. HOCHBERG, K. STONE, M. C. NEVITT (1996): Aspirin and NSAID use in older women: effect on bone mineral density and fracture risk—Study of Osteoporotic Fractures Research Group. J. Bone Miner. Res.11, 29–35.
9. BERGENSTOCK, M., W. MIN, A. M. SIMON, C. SABATINO, J P. O'CONNOR (2005):A comparison between the effects of acetaminophen and celekoksib on bone fracture healing in rats. J. Orthop. Trauma, 19, 717–723.
10. BJARNASON I., K. TAKEUCHI (2009): Intestinal permeability in the pathogenesis of NSAIDinduced enteropathy. J Gastroenterol. 44(19):23–9.

11. BLACKWELL, K.A., L. G. RAISZ, C. C. PILBEAM (2010):Prostaglandins in bone: Bad cop, good cop? Trends Endocrinol. Metab., 21, 294–301.
12. BROWN, K.M., M. M. SAUNDERS, T. KIRSCH, H. J. DONAHUE, J. S. REID (2004):Effect of COX-2-specific inhibition on fracture-healing in the rat femur. J. Bone Joint Surg. Am.86A, 116–123.
13. BONEWALD, L.F., M. FLYNN, M. QIAO, M. R. DALLAS, G. R. MUNDY, B. F. BOYCE (1997):Mice lacking 5-lipoxygenase have increased cortical bone thickness. Adv. Exp. Med. Biol.433, 299–302.
14. BURD, T. A., K. J. LOWRY, J. O. ANGLEN (2001):Indomethacin compared with localized irradiation for the prevention of heterotopic ossification following surgical treatment of acetabular fractures. J.Bone Joint Surg. Am.83A, 1783–1788.
15. BURD, T. A., M. S. HUGHES, J. O. ANGLEN (2003): Heterotopic ossification prophylaxis with indomethacin increases the risk of long-bone nonunion. J. Bone Joint Surg. Br. 2003, 85B, 700–705.
16. CHIKAZU, D., X. LI, H. KAWAGUCHI, Y. SAKUMA, O. S. VOZNESENSKY, D. J. ADAMS, M. XU, K. HOSHIO, V. KATAVIC, H. R. HERSCHMAN, L. G. RAISZ, C. C. PILBEAM (2002):Bone morphogenetic protein 2 induces cyclo-oxygenase 2 in osteoblasts via a Cbfal binding site: Role in effects of bone morphogenetic protein 2 in vitro and in vivo. J. Bone Miner. Res. 17, 1430–1440.
17. COTTRELL, J.A., J. P. O'CONNOR (2009): Pharmacological inhibition of 5-lipoxygenase accelerates and enhances fracture-healing. J. Bone Joint Surg. Am.91, 2653–2665.
18. DAHNERS, L. E., B. H. MULLIS (2004): Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on bone formation and soft-tissue healing. The Journal of the American Academy of OrthopaedicSurgeons, vol. 12, no. 3, pp. 139–143.
19. DAVIS, T.R., C. E. ACKROYD (1988):Non-steroidal anti-inflammatory agents in the management of Colles' fractures. Br. J .Clin. Pract.42, 184–189.
20. DEKEL, S., G. LENTHALL, M. J. FRANCIS (1981):Release of prostaglandins from bone and muscle after tibial fracture—An experimental study in rabbits. J. Bone Joint Surg. Br.63B, 185–189.
21. DIMMEN, S., L. ENGEBRETSEN, L. NORDSLETTEN, J. E. MADSEN (2009):Negative effects of parecoxib and indomethacin on tendon healing: An experimental study in rats. Knee Surg. Sports Traumatol.Arthrosc.17, 835–839.

22. EINHORN, T.A., R. J. MAJESKA, E. B. RUSH, P. M. LEVINE, M. C. HOROWITZ (1995): The expression of cytokine activity by fracture callus. J. Bone Miner. Res.10, 1272–1281.
23. EINHORN, T. A., C. TZIOUPIS, P. V. GIANNOUDIS (2010): Bone turnover markers in fracture healing.
24. ELVES, M.W., I. BAYLEY, P. J. ROYLANCE (1982): The effect of indomethacin upon experimental fractures in the rat. Acta Orthop. Scand.53, 35–41.
25. ENDO, K., K. SAIRYO, S. KORNATSURBARA, T. SASA, H. EGAWA, D. YONEKURA, K. ADACHI, T. OGAWA (2002):Cyclooxygenase-2 Inhibitor Inhibits the Fracture Healing. J. Physiol. Anthropol. Appl. Hum.Sci. 21, 235–238.
26. ENDO, K., K. SAIRYO, S. KOMATSUBARA, T. SASA, H. EGAWA, T.OGAWA, D. YONEKURA, R. MURAKAMI, N. YASUI (2005): Cyclooxygenase-2 inhibitor delays fracture healing in rats. Acta Orthop.76, 470–474.
27. FITZGERALD, G.A., C. PATRONO (2001): The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. N. Engl. J. Med. 345, 433–442.
28. FITZGERALD, G.A. (2004): Coxibs and cardiovascular disease. N. Engl. J. Med.351, 1709–1711.
29. FLETCHER, B.S., D. A. KUJUBU, D. M. PERRIN, H. R. HERSCHMAN (1992):Structure of the mitogen-inducible TIS10 gene and demonstration that the TIS10-encoded protein is a functional prostaglandin G/H synthase. J. Biol. Chem. 267, 4338–4344.
30. FORWOOD, M.R (1996):Inducible cyclo-oxygenase (COX-2) mediates the induction of bone formation by mechanical loading in vivo. J. Bone Miner. Res.11, 1688–1693.
31. GALLWITZ, W.E., G. R. MUNDY, C. H. LEE, M. QIAO, G. D. ROODMAN, M. RAFTERY, S. J. GASKELL, L. F. BONEWALD (1993):5-Lipoxygenase metabolites of arachidonic acid stimulate isolated osteoclasts to resorb calcified matrices. J. Biol. Chem.268, 10087–10094.
32. GARCIA, C., B. F. BOYCE, J. GILLES, M. DALLAS, M. QIAO, G. R. MUNDY, L. F. BONEWALD (1996): Leukotriene B4 stimulates osteoclastic bone resorption both in vitro and in vivo. J. Bone Miner. Res.11, 1619–1627.
33. GEBUHR, P., H. WILBEK, M. SOELBERG (1995):Naproxen for 8 days can prevent heterotopic ossification after hip arthroplasty. Clin. Orthop. Relat. Res.166–169.
34. GERSTENFELD, L.C., M. THIEDE, K. SEIBERT, C. MIELKE, D. PHIPPARD, B. SVAGR, D. CULLINANE, T. A. EINHORN (2003): Differential inhibition of

fracture healing by non-selective and cyclooxygenase-2 selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. J. Orthop. Res. 21, 670–675.

35. GIANNOUDIS, P.V., D. A. MACDONALD, S. J. MATTHEWS, R. M. SMITH, A. J. FURLONG, P. DE BOER (2000): Nonunion of the femoral diaphysis-The influence of reaming and non-steroidal antiinflammatory drugs. J. Bone Joint Surg. Br. 82, 655-658.
36. GIORDANO, V., M. GIORDANO, I. G. KNACKFUSS, M. I. APFEL, R. D. GOMES (2003):Effect of tenoxicam on fracture healing in rat tibiae. Injury 34, 85–94.
37. GONZALEZ, E.L., P. PATRIGNANI, S. TACCONELLI, L. A. RODRIGUEZ (2010): Variability of risk of upper gastrointestinal bleeding among nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Arthritis Rheum. [Epub ahead of print].
38. GOODMAN, S., T. MA, M. TRINDADE, T. IKENOUE, I. MATSUURA, N. WONG, N. FOX, M. GENOVESE, D. REGULA, R. L. SMITH (2002):COX-2 selective NSAID decreases bone ingrowth in vivo. J. Orthop.Res.20, 1164–1169.
39. GOODMAN, S. B., T. MA, L. MITSUNAGA, K. MIYANISHI, M. C. GENOVESE, R. L. SMITH (2005):Temporaleffects of a COX-2-selective NSAID on bone ingrowth. J. Biomed. Mater. Res.72, 279–287.
40. HANSON, P. D., J. E. MADDISON (2002): NSAIDS and chondroprotective agents.
41. HAUSMAN, M.R., M. B. SCHAFFLER, R. J. MAJESKA (2001): Prevention of fracture healing in rats by an inhibitor of angiogenesis. Bone.29, 560–564.
42. HO, M.L., J. K. CHANG, G. J. WANG (1998): Effects of ketorolac on bone repair: A radiographic study in modeled demineralized bone matrix grafted rabbits. Pharmacology 57, 148–159.
43. HUO, M. H., N.W. TROIANO, R. R. PELKER, C.M. GUNDBERG, G. E. FRIEDLAENDER (1991): The influence of Ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. Journal of OrthopaedicResearch, vol. 9, no. 3, pp. 383–390
44. HUUSKO, P.J., L. H. NIEMINEN, L. S. NIEMINEN (1975):The effect of indomethacin on tooth extraction wound healing in rats. Experientia 31, 1056–1058.
45. KARACHALIOS, T., L. BOURSINOS, L. POULTSIDES, L. KHALDI, K.N. MALIZOS (2007):The effects of the shortterm administration of low therapeutic doses of anti-COX-2 agents on the healing of fractures. An experimental study in rabbits. J. Bone Joint Surg. Br.89, 1253–1260.

46. KATOH, H., K. HOSONO, Y. ITO, T. SUZUKI, Y. OGAWA, H. KUBO, H. KAMATA, T. MISHIMA, H. TAMAKI, H. SAKAGAMI, Y. SUGIMOTO, S. NARUMIYA, M. WATANABE, M. MAJIMA (2010):COX-2 and prostaglandin EP3/EP4 signaling regulate the tumor stromal proangiogenic microenvironment via CXCL12-CXCR4 chemokine systems. Am. J. Pathol.176, 1469–1483.
47. KELLER, J., P. KJAERSGAARD-ANDERSEN, I. BAYER-KRISTENSEN, F. MELSEN (1990).Indomethacin and bone trauma. Effects on remodeling of rabbit bone. Acta Orthop.61, 66–69.
48. KRISCHAK, G.D., P. AUGAT, R. BLAKYTNY, L. CLAES, L. KINZL, A. BECK (2007): The non-steroidal antiinflammatory drug diclofenac reduces appearance of osteoblasts in bone defect healing in rats. Arch. Orthop. Trauma Surg. 127, 453–458.
49. LANAS, A. (2010): A review of the gastrointestinal safety data—A gastroenterologist's perspective. Rheumatology, 49 (Suppl. 2), ii3–ii10.
50. LEONELLI, S. M., B. A. GOLDBERG, J. SAFANDA, M. R. BAGWE, S. SETHURATNAM, S. J. KING (2006): Effects of a cyclooxygenase-2 inhibitor (rofecoxib) on bone healing. American Journal ofOrthopedics, vol.35, no.2, pp.79–84.
51. LONG, J., S. LEWIS, T. KUKLO, Y. ZHU, K. D. RIEW (2002): The effect of cyclooxygenase-2 inhibitors on spinal fusion. J. Bone Joint Surg. Am.84A, 1763–1768.
52. MARTIN, G.J., J. R. BODEN, S.D. TITUS (1999): Recombinant human bone morphogenetic protein-2 overcomes the inhibitory effect of ketorolac, a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID), on posterolateral lumbar intertransverse process spine fusion. Spine.24, 2188–2194.
53. MAXIS, K., A. DELALANDRE, J. MARTEL-PELLETIER, J. P. PELLETIER, N. DUVAL, D. LAJEUNESSE (2006):The shunt from the cyclooxygenase to lipoxygenase pathway in human osteoarthritic subchondral osteoblasts is linked with a variable expression of the 5-lipoxygenase-activating protein. ArthritisRes. Ther.8, R181.
54. MBUGUA, S. W., L. A. SKOGLUND, AND P. LØKKEN (1989): Effects of phenylbutazone and indomethacin on the post-operative course following experimental orthopaedic surgery in dogs. Acta veterinaria Scandinavica, vol. 30, no. 1, pp. 27–35.
55. MCLAREN, A.C. (1990):Prophylaxis with indomethacin for heterotopic bone—After open reduction of fractures of the acetabulum. J. Bone Joint Surg. Am.72, 245–247.

56. MIYATAKE, S., H. ICHIYAMA, E. KONDO, K. YASUDA (2009): Randomized clinical comparisons of diclofenac concentration in the soft tissues and blood plasma between topical and oral applications. British Journal of Clinical Pharmacology, vol. 67, no. 1, pp. 125–129.
57. MOORE, K.D., K. GOSS, J. O. ANGLEN 81998): Indomethacin versus radiation therapy for prophylaxis against heterotopic ossification in acetabular fractures: A randomised, prospective study. J. BoneJoint Surg. Br.80, 259–263.
58. MORE, R.C., M. H. KODY, J. M. KABO, F. J. DOREY, R. A. MEALS (1989):The effects of two nonsteroidal antiinflammatory drugs on limb swelling, joint stiffness, and bone torsional strength following fracture in a rabbit model. Clin. Orthop. Relat. Res.247, 306–312.
59. MULLIS, B.H., S. T. COPLAND, P.S. WEINHOLD, T. MICLAU, G. E. LESTER, G. D. BOS (2006):Effect of COX-2 inhibitors and non-steroidal anti-inflammatory drugs on a mouse fracture model. Injury,37, 827–837.
60. MURNAGHAN, M., G. LI, D. R. MARSH (2006): Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced fracture nonunion: An inhibition of angiogenesis? J. Bone Joint Surg. Am. 88 (Suppl. 3), 140–147.
61. NAKASHIMA, T., H. TAKAYANAGI (2009): Osteoclasts Immune Syst.
62. OCHI, H., Y. HARA, Y. ASOU (2009):Effect of long-term administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs on fracture healing in dogs. (Poster presentation) ACVS Veterinary Symposium October 8-10; Washington DC, USA.
63. O'CONNOR, J.P., J. T. CAPO, V. TAN, J. A. COTTRELL, M. B. MANIGRASSO, N. BONTEMPO, J. R. PARSONS (2009):A comparison of the effects of ibuprofen and rofecoxib on rabbit fibula osteotomy healing. Acta Orthop.80, 597–605.
64. O'CONNOR, J. P., T. LYSZ (2008):Celekoksib, NSAIDs and the skeleton. Drugs Today, 44: 693–709.
65. POUNTOS, I., T. GEORGOULI, T. J. BLOKHUIS (2008): Pharmacological agents and impairment of fracture healing: What is the evidence? Injury, 39: 384–394.
66. POUNTOS, I., P. V. GIANNOUDIS, E. JONES (2011): NSAIDS inhibit in vitro MSC chondrogenesis but not osteogenesis: implications for mechanism of bone formation inhibition in man. Journal of Cellular and MolecularMedicine, vol. 15, no.3, pp. 525–534.
67. RADI, Z.A., N. K. KHAN (2005):Effects of cyclooxygenase inhibition on bone, tendon, and ligament healing. Inflamm. Res.54, 358–366.

68. RAHAL A., A. KUMAR, A. H. AHMAD, J. K. MALIK (2008): Pharmacokinetics of diclofenac and its interaction with enrofloxacin in sheep. Research in Veterinary Science, vol. 84, no. 3, pp. 452–456.
69. RAUNER, M., S. WOLFGANG, P. PIETSCHMANN (2007):Osteoimmunology. Int Arch Allergy Immunol.143:31–48.
70. REIKERAAS, O., L. ENGEBRETSEN (1998): Effects of ketoralac tromethamine and indomethacin on primary and secondary bone healing—An experimental study in rats. Arch. Orthop. Trauma Surg.118, 50–52.
71. REN, W., R. DZIAK (1991):Effects of leukotrienes on osteoblastic cell proliferation. Calcified Tissue Int., 49, 197–201.
72. RIEGEL, A. (2012):Human polymorphonuclear neutrophils express RANK and are activated by its ligand, RANKL. Eur J Immunol. 42(4):975–81.
73. RIEW, K.D., J. LONG, J. RHEE, S. LEWIS, T. KUKLO, Y. J. KIM, Y. YUKAWA, Y. ZHU (2003):Timedependent inhibitory effects of indomethacin on spinal fusion. J. Bone Joint Surg. Am.85A, 632–634.
74. RO, J., N. LANGELAND, J. SANDER (1978):Effect of indomethacin on collagen metabolism of rat fracture callus in vitro. Acta Orthop.49, 323–328.
75. RO, J., E. SUDMANN, P. F. MARTON (1976):Effect of indomethacin on fracture healing in rats. Acta Orthop Scand. 47: 588–599.
76. SALVEMINI, D., T. P. MISKO, J. L. MASFERRER, K. SEIBERT, M. G. CURRIE, P. NEEDLEMAN (1993): Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.90, 7240–7244.
77. SATO, S., T. KIM, T. ARAI, S. MARUYAMA, M. TAJIMA, N. UTSUMI (1986):Comparison between the effects of dexamethasone and indomethacin on bone wound healing. Jpn. J. Pharmacol.42, 71–78.
78. SIMMONS, D.L., D. B. LEVY, Y. YANNONI, R. L. ERIKSON (1989):Identification of a phorbol esterrepressible v-src-inducible gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 1178–1182.
79. SIMMONS, D.L., R. M. BOTTING, T. HLA (2004):Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. Pharmacol. Rev.56, 387–437.
80. SIMON, A.M., J. P. O'CONNOR (2007):Dose and time-dependent effects of cyclooxygenase-2 inhibition on fracture-healing. J. Bone Joint Surg. Am.89, 500–511.
81. SIMON, A.M., M. B. MANIGRASSO, J. P. O'CONNOR (2002):Cyclo-oxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. J. Bone Miner. Res.17, 963–976.

82. SMOLEC, O.(2008): Cijeljenje kritičnoga defekta radijusa kunića primjenom autolognoga presatka velikoga omentuma. Doktorska disertacija. Veterinarski fakultet.Zagreb.
83. SUDMANN, E., G. BANG (1979):Indomethacin-induced inhibition of haversian remodelling in rabbits. Acta Orthop.50, 621–627.
84. SUDMANN, E., T. HAGEN (1976): Indomethacin-induced delayed fracture healing. Arch Orthop Unfall-Chir. 85: 151–154.
85. ŠIŠLJAGIĆ, V. (2000): Cijeljenje kosti. Med .Vjesn.32(1-4), 105-109.
86. TORNKVIST, H., T. S. LINDHOLM, P. NETZ, L. STROMBERG, T. C. LINDHOLM (1984):Effect of ibuprofen and indomethacin on bone metabolism reflected in bone strength. Clin. Orthop. Relat. Res.187, 255–259.
87. TRAIANEDES, K., M. R. DALLAS, I. R. GARRETT, G. R. MUNDY, L. F. BONEWALD (1998):5-Lipoxygenase metabolites inhibit bone formation in vitro. Endocrinology. 139, 3178–3184.
88. VAN DERHEIDE, H. J., G.HANNINK, P. BUMA, B.W. SCHREURS (2008): No effect of ketoprofen and meloxicam on bone graft ingrowth: a bone chamber study in goats. Acta Orthopaedica, vol. 79, no. 4, pp. 548–554.
89. VAN STAA, T.P., H. G. LEUFKENS, C. COOPER (2000): Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of fractures. Bone.27, 563–568.
90. VIRCHENKO, O., B. SKOGLUND, P. ASPENBERG (2004):Parecoxib impairs early tendon repair but improves later remodeling. Am. J. Sports Med.32, 1743–1747.
91. XIE, C., B. LIANG, M. XUE, A. S. LIN, A. LOISELLE, E. M. SCHWARZ, R. E. GULDBERG, R. J. O'KEEFE, X. ZHANG (2009):Rescue of impaired fracture healing in COX-2-/- mice via activation of prostaglandin E2 receptor subtype 4. Am. J. Pathol.175, 772–785.
92. ZHANG, X., E. M. SCHWARZ, D. A. YOUNG, J. E. PUZAS, R. N. ROSIER, R. J. O'KEEFE (2002): Cyclooxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. J. Clin. Invest.109, 1405–1415.

12 ŽIVOTOPIS

Slaven Matajčić rođen je 30. ožujka 1991. godine u Našicama. Osnovnu školu završio je u OŠ Ivane Brlić-Mažuranić u Orahovici, te potom i opću gimnaziju u SŠ Stjepana Ivšića u Orahovici 2009. godine s odličnim uspjehom. Veterinarski fakultet u Zagrebu upisao je 2010. godine, gdje je tri godine proveo volontirajući na Klinici za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju. Sudjelovao je u izborima za studentski zbor u dva navrata. Jednom kao član biračkog odbora, a drugi put kao predsjednik izbornog povjerenstva.