

Učinak kalcij montmorilonita te ascogen-a primijenjenih u krmi na tijek cijeljenja lakatne kosti u kokoši

Horvat, Jurica

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:392743>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -](#)
[Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

JURICA HORVAT

**UČINAK KALCIJ MONTMORILONITA TE
ASCOGEN[®]-a PRIMIJENJENIH U KRMI NA
TIJEK CIJELJENJA LAKATNE KOSTI U KOKOŠI**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

KLINIKA ZA KIRURGIJU, ORTOPEDIJU I OFTALMOLOGIJU

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod stručnim vodstvom mentora prof.dr.sc. Berislava Radišića.

PREDSTOJNIK : prof. dr. sc. Boris Pirkić

MENTOR : prof. dr. sc. Berislav Radišić

ČLANOVI POVJERENSTVA ZA OBRANU DIPLOMSKOG RADA:

1. izv. prof. dr. sc. Mario Kreszinger
2. doc. dr. sc. Ozren Smolec
3. prof. dr. sc. Berislav Radišić

ZAHVALA

Zahvaljujem svom mentoru prof.dr.sc. Berislavu Radišiću te prof.emeritusu Hrvoju Maziji koji su mi brojnim stručnim savjetima pomogli pri izradi ovog rada. Zahvaljujem svojim prijateljima i kolegama koji su mi sve ove godine studiranja ostavili u neizbrisivom pamćenju i koji su sa mnom prolazili i najbolje i najgore trenutke mog studiranja. Također, zahvaljujem upravi Fakulteta, svim nastavnicima i tehničkom osoblju Fakulteta koji su mi svojom stručnošću i zalaganjem omogućili da zavolim veterinarsku struku i Veterinarski fakultet. Dakako, beskrajnu zahvalu upućujem svojoj obitelji koja mi je pružila najveću moguću podršku u tijeku mog studiranja i bez koje sve ovo što sam ostvario ne bi bilo moguće.

Jurica Horvat

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA.....	3
3. MATERIJALI I METODE RADA.....	4
3.1. Pokusne životinje.....	4
3.2. Istraživani pripravci.....	6
3.3. Materijali za kirurški zahvat.....	7
3.4. Osteotomija i osteosinteza.....	8
3.5. Procjena cijeljenja loma lakatne kosti.....	8
3.6. Kemijska analiza kosti i krmne smjese.....	9
3.7. Statistička obrada podataka.....	9
4. REZULTATI.....	10
4.1. Tjelesna masa kokoši.....	10
4.2. Opisna analiza rentgenograma.....	13
4.2.1. Skupina kokoši T_{op}	13
4.2.2. Skupina kokoši A_{op}	14
4.2.3. Skupina kokoši $A1_{op}$	15
4.2.4. Skupina kokoši C_{op}	15
4.3. Statistička obrada podataka	16
4.3.1. Mineralni sastav kalusa.....	16
4.3.2. Statistička značajnost razlika rentegoloških praćenih promjena.....	17
5. RASPRAVA.....	20
6. ZAKLJUČCI.....	28
7. POPIS LITERATURE.....	30
8. SAŽETAK.....	33
9. SUMMARY.....	35
10. ŽIVOTOPIS.....	37

PRILOZI

Tablica 1. Broj kokoši u pokusu po skupinama.

Tablica 2. Brojčane oznake kokoši u pokusu po skupinama.

Tablica 3. Osnovni sastav krmne smjese, bez i s dodanim istraživanim pripravcima.

Tablica 4. Anorganski sastav krmne smjese, bez i s dodanim istraživanim pripravcima.

Tablica 5. Tjelesna masa kokoši, **T** skupina. (g)

Tablica 6. Tjelesna masa kokoši, **A** skupina. (g)

Tablica 7. Tjelesna masa kokoši, **A1** skupina. (g)

Tablica 8. Tjelesna masa kokoši, **C** skupina. (g)

Tablica 9. Prosječna tjelesna masa operiranih kokoši (g) tijekom istraživanja.

Tablica 10. Mineralni sastav kalusa (po skupinama).

Tablica 11a. Statistička značajnost (p) reakcija pokosnice i ostalih promjena između skupina drugog tjedna pokusa.

Tablica 11b. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina trećeg tjedna pokusa.

Tablica 11c. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina četvrtog tjedna pokusa.

Tablica 11d. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina petog tjedna pokusa.

Tablica 11e. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina šestog tjednu pokusa.

Tablica 11f. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina sedmog tjedna pokusa.

Tablica 11g. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina osmog tjedna pokusa.

Tablica 12a. Statistička značajnost (p) razlike između aplanacije kalusa i ostalih oblika cijeljenja između skupina petog tjedna pokusa.

Tablica 12b. Statistička značajnost (p) razlike između aplanacije kalusa i ostalih oblika cijeljenja između skupina šestog tjedna pokusa.

Tablica 12c. Statistička značajnost (p) razlike između aplanacije kalusa i ostalih oblika cijeljenja između skupina sedmog tjedna pokusa.

1. UVOD

Utjecanje na tijek cijeljenja kostiju moguće je primjenom određenih sredstava koja se koriste uglavnom parenteralno (vitamini, minerali, mikroelementi) odnosno lokalno, potičući prokrvljenost u dijelu tijela u kojem se dogodio lom kosti (grijanje, visokofrekventne struje, mikrovalovi) (DONGMEI, i sur., 2013.; TRISI i sur. 2014.; WEHRLE i sur., 2015.). Nastojanja da se jednostavnijim načinom postigne povoljan učinak na cijeljenje kostiju ostvarilo bi se peroralnim davanjem sredstava koja bi mogla dovesti do brže tvorbe kalusa, a zatim i aplanacije odnosno izravnavanja međusobno spojenih koštanih okrajaka. Cilj istraživanja koje opisujemo bio je ustvrditi u kojoj mjeri krmnoj smjesi primiješan mineralni pripravak zeolit (montmorilonit) odnosno odabrani probiotik može na modelu kokoši povoljno djelovati na spomenuti proces loma kosti.

Podlaktične kosti, palčana (radius) i lakatna kost (ulna) protežu se čitavom dužinom podlaktice te, kod sklopljenih krila, leže usporedno s nadlaktičnom kosti (humerus) s kojom čine lakatni zglob. Proksimalno se palčana i lakatna kost još i međusobno uzglobljuju, a učvršćene su radioulnarnim ligamentom (lig. radioulnare), kao i distalno, te se dalje uzglobljuju s kostima zapešća (ZOBUNDŽIJA i sur., 1996.). Koštanu izgradnju (osteogenezu) čine dvije faze: oblikovanje koštanog matriksa (osteoida) te mineralizacija tj. kalcifikacija osteoida odlaganjem mineralnih soli, uglavnom hidroksiapatita, kojom se oblikuje kost (KAPANEN, 2002., KOZARIĆ, 1997.).

Peroralna primjena mikromineralnih pripravaka poznata je u peradarstvu i ono što proizvođači takvih pripravaka navode je bolji proizvodni uspjeh i poboljšano zdravlje, nesivost, oplodnost, povećani broj izleženih pilića te tovnost uz smanjeno uginuće od nespecifičnih bolesti. Osnova takvih tvrdnji temelji se na poboljšanoj aktivnosti imunološkog sustava (JANJEČIĆ i sur., 2017.).

Mikrominerali se resorbiraju iz probavnog sustava i to uglavnom selektivno ovisno o potrebama organizma i iskoristivosti pripravka. Posebna skupina minerala, zeoliti, svoju aktivnost temelje na adsorptivnoj površini. Oni predstavljaju veliku skupinu različitih struktura temeljenih na trodimenzionalnoj osnovi sačinjenoj od tetrahedona silicijevog oksida i aluminijeva oksida. Tvore kanale i šupljine kationa alkalnih metala (Na, K, Li, Cs) i alkalnih zemljinih metala (Ca, Mg, Ba, Sr) tako što kompenziraju negativne valencije

AlO₄ (SUCHY i sur., 2009). Tom velikom površinom osiguravaju adsorpciju štetnih tvari u probavnom sustavu i tako, uvjetno rečeno, poboljšavaju kakvoću krme i konačno uspjeh proizvodnje. Zeoliti se s istom namjenom primjenjuju u svih vrsta domaćih životinja te ptica i kućnih ljubimaca.

Probiotici su danas definirani kao zasebni mikroorganizmi odnosno mješavine mikroorganizama koje mogu u probavnom sustavu uspostaviti eubiozu. Koriste se bakterije jednako u ljudi kao i u životinja. Neki od njih imaju antibiotska svojstva, pr. *Lactobacillus acidophilus*. Probiotik koji je izvorno nosio takvo komercijalno ime nije niti bakterija niti mješavina mikroorganizama, već autolizat kvasnice *Sacharomyces caerevisie* kojim je u određenom trenutku zaustavljen proces autolize oligonukleotida. Pokazalo se da takav pripravak povoljno djeluje na imunološki sustav, poboljšava iskoristivost krme, metabolički usmjeruje probavu prema manjem odlaganju masti i poticanju izgradnje bjelancevina tj. mišićne mase, odnosno njihovu ugradnju u jaje kod peradi. Brojna istraživanja rađena su sredinom 80-tih godina pa se je dokazao bolji imunosni odaziv prema cijepljenju protiv newcastleske bolesti ukoliko je perad krmom dobivala spomenute nukleotide. Učinak se očituje i u proizvodnji riba što im omogućuje značajno brži rast (tilapia - riba srodna šaranu) (YILDIRIM i sur., 2009.). Također poznato je i da trkaći konji na ¼ milje značajno duže mogu galopirati koristeći upravo metabolizam mišićja potaknut djelovanjem oligonukleotida (RAGLAND i sur., 1995.). Postoji pripravak koji se kao dodatak hrani koristi i u ljudi poboljšavajući opće zdravlje.

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Svrha ovog rada bila je istražiti postoji li povoljan učinak zeolita (montmorilonita) te usporedno oligonukleotida u procesu cijeljenja prijeloma lakatne kosti u kokoši. Također, nastojalo se je utvrditi postoje li razlike u cijeljenju prijeloma kosti u kokoši primijenom različitih pripravaka u odnosu na kontrolnu skupinu koja je hranjena standardnom krmnom smjesom.

Zbog dosadašnjih spoznaja o povoljnom utjecaju kalcijeva montmorilonita te Ascogen[®]-a na organizam životinja pretpostavilo se da će dodatak navedenih tvari u hranidbi kokoši dovesti do boljeg i bržeg cijeljenja prijeloma kosti.

3. MATERIJAL I METODE

U našem smo istraživanju koristili arhivsku građu iz 2005. godine, koja se odnosi na cijeljenje ulne kod kokoši nesilica kojima je u krmnu smjesu dodana određena količina oligonukleotida odnosno zeolita. Zeolit komercijalnog naziva Bentofarm, proizvod je tvrtke Bentomak, (IVANOVSKI, 1990.), a oligonukleotid, tada s komercijalnim imenom Ascogen, proizvod tvrtke Chemoforma Ltd iz Basela, Švicarska.

3.1. Pokusne životinje

U istraživanju koje se provodilo na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu korišteno je 55 kokoši, pasmine lakih hibrida, koje su izlučene iz proizvodnje. Bile su istovjetne dobi 14 mjeseci, pa tako i ujednačenog fiziološkog statusa. Kokoši su slučajnim odabirom raspodijeljene u četiri skupine. Tri su bile pokusne, a jedna kontrolna. Prva skupina brojala je 18 kokoši i toj je skupini u krmu dodavan alumosilikatni mineral kalcijev montmorilonit. Tu skupina, oznake T, činilo je 16 operiranih kokoši (T_{op}) i dvije neoperirane kokoši (T_n). Narednoj skupini kokoši u hranu je dodan probiotik Ascogen 13 dana nakon operacije, a označena je kao A skupina te brojala je 12 operiranih (A_{op}) i dvije neoperirane (A_n) kokoši. Treću pokusnu skupinu činile su kokoši kojima je u krmu dodan probiotik Ascogen, neposredno nakon operacije, a činilo ju je 10 operiranih ($A1_{op}$) i jedna neoperirana ($A1_n$) kokoš. Kontrolna skupina hranjena je standardnom krmnom smjesom za kokoši nesilice. Ta kontrolna skupina (C) sastojala se od 10 operiranih (C_{op}) i dvije neoperirane (C_n) kokoši. Kokoši su označene krilnim markicama radi raspoznavanja, a za potrebe rendgenološke pretrage kokoši su obilježene četveroznakastim brojevima od kojih su korištene prve dvije znamenke.

Tablica 1. Broj kokoši u pokusu po skupinama.

Skupina	T skupina	A – skupina	A1 – skupina	C – skupina
Broj operiranih kokoši	16	12	10	10
Broj neoperiranih kokoši	2	2	1	2
Ukupan broj kokoši u pokusu	18	14	11	12
Broj uginulih za trajanja pokusa	2	0	0	0
Broj kokoši na završetku pokusa (8. tjedan)	16	14	11	12

Tablica 2. Brojčane oznake kokoši u pokusu po skupinama.

OPERIRANE (op)			
T – skupina	A – skupina	A1 – skupina	C – skupina
1601	1641	202	1661
1602	1642	203	1662
1603	1643	204	1663
1604	1644	205	1664
1605	1645	206	1665
1606	1646	207	1666.
1607	1647	208	1667
1608	1648	209	1668
1609	1649	210	1669
1610	1650	211	1670
1693	1691		
216	1694		
217			
218			
219			
220			

NEOPERIRANE (n)			
T – skupina	A – skupina	A1 – skupina	C – skupina
1615	1651	201	1671
1617	1652		1672

Kokoši su smještene u kontroliranim uvjetima u kaveze pokusnog prostora Zavoda za patologiju peradi u uzgoju i proizvodnji pri Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Na početku pokusa kokošima je određena tjelesna masa preciznom elektroničkom vagom. Nasumce izabranim kokošima izvađena je krv (2ml) punkcijom krilne vene, a nakon toga su sve cijepljene protiv newcastleske bolesti (PESTIKAL La Sota SPF, Veterina d.o.o., Hrvatska). Kavezi u koje su smještene kokoši bili su žičani, a raspoređeni su u tri kata, a u svaki je smješteno po 2 kokoši.. Kokošima je krma omogućena *ad libitum* iz žljebastih hranilica. Voda je također bila dostupna *ad libitum*, a za napajanje su korištene klasične pojilice siske (nipple). Temperatura zraka u pokusnom brostoru bila je 23-25⁰C i provjetravanje bilo umjetno,, a za osvjetljenje prostorije 18h dnevno korišteno šest žarulja, jačine 60W.

3.2. Istraživani pripravnici

Tijekom istraživanja kokoši su hranjene temeljnom krmnom smjesom za nesilice hibride lakih pasmina, kojoj su dodani bilo mineralni pripravak odnosno oligonukleotidni probiotik. Prvoj skupini (skupina T), u krmu je dodano 2% kalcijevog montmorilonita. Pripravak se dobiva hidrotermalnom obradom posebnih vrsta glina. Preostalim skupinama (A1 i A) u krmu je dodano 2000 ppm oligonukleotidskog probiotika Ascogen-a. Ascogen sadrži RNK, nukleotide i njihove prekursore, nužne za optimalno funkcioniranje imunostnog sustava jer pospješuju tvorbu krvnih stanica. Kontrolna skupina hranjena je osnovnom krmnom smjesom bez ikakvih dodataka. Tablicama 3 i 4 prikazan je osnovni mineralni sastav spomenutih dodataka. Statističkom analizom postignutih rezultata nisu nađene statistički značajne razlike.

Tablica 3. Osnovni sastav krmne smjese, bez i s dodanim istraživanim pripravcima.

	Sirovi protein, %	Sirova vlaknina, %	Sirova mast, %	Vlaga, %	Pepeo, %
OSNOVNA SMJESA	17,41	2,31	2,62	9,27	11,98
+KALCIJEV MONTMORILONIT	17,71	2,92	2,75	9,56	12,23
+ ASCOGEN	15,49	2,60	–	9,71	12,53

Tablica 4. Anorganski sastav krmne smjese, bez i s dodanim istraživanim pripravcima.

	Ca, %	P, %	NaCl %	Na, ppm	Mn, ppm	Cu, ppm	Zn, ppm	Fe, ppm	Mg, ppm	K, ppm
OSNOVNA SMJESA	3,60	0,7	0,46	1800	89,0	14,8	200	154	1560	8,96
+ KALCIJEV MONTMORILONIT	3,30	0,7	0,43	1690	90,0	12,6	175	594	2040	8,32
+ASCOGEN	3,75	0,7	0,48	1890	89,6	10,4	178	195	1560	7,72

3.3. Materijali za kirurški zahvat

Na kokošima je primijenjena opća anestezija pripravkom diazepam (Apaurin[®], Krka, Slovenija) u dozi 0,5 mg/kg i ketamin hidroklorid (Narketan[®]10, Vétoquinol, Švicarska) u dozi 20 mg/kg tjelesne mase. Prije operacije trebalo je dezinficirati operacijsko polje, a za što se koristio 96% etanol (Ethanol, Kemika, Hrvatska) i povidon jodid koncentracije 7% i 10% (Betadine[®], Alkaloid, Makedonija). Preventivno je korišten antibiotik enrofloksacin (Vetoflok 5%[®], Veterina d.o.o., Hrvatska) u dozi 10 mg/kg tjelesne mase. U operaciji osteosinteze postavljanjem izvanjskog dvofaznog fiksatora tipa I korištene su ekstenzijske igle po Kirschneru (Instrumentaria d.o.o., Hrvatska) promjera 1,2 i 1,5 mm, duljine 200 mm, zašiljene na oba kraja, a vanjski dijelovi igala povezani su metalnim nastavkom i učvršćeni polimerizirajućom masom, polimetilmetakrilatom

(PMMA; Technovit[®], Hereaus Kulzer, Werheim, Njemačka). Umjetni poprečni lom kosti u sredini dijafize izveden je pneumatskom ortopedskom pilom debljine lista pile 0,5 mm, koja radi na principu njihala (Aesculap). Svileni konci korišteni za šivanje kožnih rana bili su odebljine 3-0 (Silk, 3-0, Davis and Geck Division, American Cyanamid Company).

3.4. Osteotomija i osteosinteza

Na svim životinjama korištenim u pokusu primijenjena je osteotomija desne lakatne kosti. Kirurški zahvat izveden je u općoj anesteziji intramuskularnom aplikacijom pripravaka diazepama i ketamin- hidroklorida. Postavljeni su izvanjski fiksatori za koje su korištene igle po Kirschneru. Fiksatori su izvedeni tako da su ekstenzijske igle uvedene u obliku slova X u proksimalni i distalni ulomak lakatne kosti, a vanjski dijelovi igala premošteni su metalnim nastavkom paralelnim s lakatnom kosti i učvršćeni polimetilmetakrilatnim cementom (PMMA). Rez načinjen na dorzalnoj strani desnog krila išao je kroz kožu, mišićje i pokosnicu, te je ortopedskom pilom u sredini dijafize desne lakatne kosti načinjen umjetni prekid tijeka kosti debljine 0,5 mm. Rana je sašivena svilenim koncem s 3-4 pojedinačna čvorasta šava. Spomenuti antibiotik, apliciran je preoperativno u prsno mišićje, te se njegovo davanje nastavilo do petog dana nakon operacije.

3.5. Procjena cijeljenja loma lakatne kosti

Cijeljenje loma kosti praćeno je radiološki, za što su korištene zelene rendgenografske folije (T –MAT S/RA Film, 100 NIF/24x30 cm, Kodak), te rendgenska cijev (Siemens, Njemačka).

Sve operirane kokši snimane su svaki tjedan i to u latero-lateralnoj i dorzo-ventralnoj projekciji s pomoću rendgenske cijevi, pri zelenom spektru i parametrima ekspozicije 40 kW i 6 mAs. Dobiveni rendgenogrami opisno su interpretirani posebno za svaki tjedan i za svaku kokoš i pratile su se vidljive promjene postoperativno, tijekom cijeljenja loma.

Nakon završetka pokusa sve kokoši su žrtvovane postupkom cervikalne dislokacije. Od svake skupine kokoši uzet je skupni uzorak kalusa mase 7,5 grama i to od reprezentativnog uzorka od pet kokoši po skupini za kemijsku analizu mineralnog sastava kosti.

3.6. Kemijska analiza kosti i krmne smjese

Za analizu krmne smjese za nesilice i krmne smjese s dodatkom klinoptilolita i kalcijeva montomorilonita i oligonukleotidskog probiotika Ascogen[®]-a uzeti su uzorci mase 1 kg. Uzorci s dodacima uzeti su nakon njihova umiješavanja u smjesu mješalicom za beton u trajanju sedam minuta. Organski i mineralni sastav smjese, kao i mineralni sastav koštanog kalusa određeni su atomskom apsorpcijskom spektrofotometrijom (MORRIS, 1951; PERKIN – ELMER, 1964).

3.7. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu podataka koristilo se osobno računalo, preko kojega su se pomoću odgovarajućeg programa za statističku obradu podataka (STATISTICA, verzija 6.1., StatSoft. Inc 1984–2003) obradili dobiveni podaci. Za određivanje statistički značajnih razlika dobivenih rezultata koristio se hi-kvadrat test, a razina statističke značajnosti postavljena je na $p < 0,05$. Statistička analiza skupnih podataka sastava krmne smjese, tjelesne mase kokoši i mineralnog sastava kalusa među skupinama načinjena je neparametrijskom analizom pomoću Kruskal – Wallis testa. Kao prag značajnosti uzeto je $p < 0,05$.

4. REZULTATI

4. 1. Tjelesna masa kokoši

Svih 55 kokoši korištenih u pokusu označeno je krilnim markicama. Njihova tjelesna masa izmjerena je na dan dolaska, prije operacije, te svakog tjedna do kraja pokusa, u osmom tjednu. (Tablice 5., 6., 7., 8. i 9.). Tablicom 10. prikazane su srednje vrijednosti tjelesnih mase kokoši u svakom tjednu.

Tablica 5. Tjelesna masa kokoši, T skupina. (g)

T_{op} *	prije operacije	1.tjedan	2.tjedan	3.tjedan	4.tjedan	5.tjedan	6.tjedan	7.tjedan	8.tjedan
1601	1849,5	1873,3	1797,4	1792,6	1599,7				
1602	1502,7	1457,4	1448,7	1546,2	1509,7	1455,8	1415,7	1447,9	1374,9
1603	1620,4	1646,3	1537,6	1631,8	1571,4	1641,2	1568,7	1628,7	1576,3
1604	1860,3	1664,3	1646,8	1768,5	1806,3	1879,4	1667,7	1891,6	1832,7
1605	1793,7	1783,0	1757,4	1831,7	1825,9	1742,9	1679,4	1851,7	1957,9
1606	2005,1	1886,0	1752,0	1885,6	1903,7	2033,0	1861,3	1902,7	1897,0
1607	1882,6	1831,6	1843,7	1790,6	1764,3	1659,8	1562,4	1506,7	1460,4
1608	2280,3	2310,8	1977,3						
1609	2084,3	1710,2	1487,8	1471,7	1429,5	1614,2	1472,3	1617,8	1498,6
1610	1605,3	1448,4	1483,7	1522,9	1575,8	1504,6	1491,5	1586,1	1658,0
1693	2117,6	1887,1	1867,8	2008,7	1795,4	1842,7	1846,3	1922,9	1944,3
216	2048,6	1847,0	1909,3	1849,7	1890,4	1776,4	1904,6	1937,6	1875,9
217	1967,0	1639,5	1757,3	1733,2	1761,8	1639,7	1488,8	1739,6	
218	1960,2	1761,8	1911,9	1882,9	1936,4	1793,5	1947,9	1958,3	1607,5
219	1798,4	1784,7	1726,8	1702,7	1756,4	1701,4	1735,7	1695,4	1681,0
220	2067,5	1973,1	1908,6	1821,7	1902,7	1825,7	1972,6	1939,7	1905,7
T_n **									
1615	1945,7	1532,1	1752,1	1864,3	2062,4	1986,7	2012,0	1998,3	2079,6
1617	2538,2	2609,3	2627,1	2584,0	2654,6	2716,7	2846,7	2724,5	2804,6

* T_{op}= operirane kokoši

** T_n= neoperirane kokoši

Tablica 6. Tjelesna masa kokoši, **A** skupina. (g)

A_{op}*	prije operacije	1.tjedan	2.tjedan	3.tjedan	4.tjedan	5.tjedan	6.tjedan	7.tjedan	8.tjedan
1641	1980,4	1893,7	1875,2	1960,3	1974,1	2018,7	1941,2	1912,8	1940,4
1642	1813,0	1564,3	1629,5	1830,2	1702,5	1814,9	1733,6	1751,7	1859,8
1643	1955,0	1940,7	1906,7	1836,2	1822,3	1939,1	1857,8	1874,2	1987,1
1644	1742,6	1600,4	1163,6	1099,6	1281,4	1529,3	1504,7	1576,4	1677,9
1645	1877,6	1557,8	1560,6	1769,7	1819,7	1842,9	1734,9	1843,7	1887,5
1646	1820,9	1605,6	1690,6	1732,6	1775,9	1833,7	1807,2	1824,7	1877,7
1647	1792,4	1837,6	1641,8	1622,6	1616,9	1721,7	1687,4	1676,4	1736,2
1648	2032,6	1871,1	1776,7	1804,2	1812,7	1843,4	1784,3	1831,7	1776,3
1649	2041,6	1935,8	1808,6	1917,4	1941,8	1972,6	2019,7	2152,7	2141,8
1650	1817,4	1780,4	1795,2	1805,4	1817,5	1928,7	1850,9	1905,3	1962,4
1691	1762,2	1795,0	1862,3	1880,4	1798,0	1898,6	1813,4	1738,7	1961,6
1694	2013,4	2095,3	1697,4	1981,4	2001,2	2084,6	2074,3	2080,9	2160,4
A_n**									
1651	2324,7	2272,1	2384,7	2293,7	2377,2	2309,7	2316,4	2258,7	2225,2
1652	1741,6	1736,8	1763,7	1718,5	1669,2	1698,7	1708,7	1680,3	1719,8

* A_{op}= operirane kokoši

** A_n= neoperirane kokoši

Tablica 7. Tjelesna masa kokoši, **A1** skupina. (g)

A1_{op}*	prije operacije	1.tjedan	2.tjedan	3.tjedan	4.tjedan	5.tjedan	6.tjedan	7.tjedan	8.tjedan
202	2313,7	2171,8	2251,0	2233,7	2146,3	2240,3	2221,7	2216,4	2180,6
203	2180,7	2003,7	1970,9	2054,4	2048,7	2041,8	2036,2	2005,1	1976,5
204	1968,7	1781,6	1897,6	1869,3	1851,8	1769,1	1764,7	1730,7	1760,3
205	2045,8	1953,7	2017,4	2021,7	2022,4	2066,6	2098,3	2033,7	1956,3
206	1917,1	1672,4	1802,3	1763,3	1774,2	1788,7	1844,1	1828,0	4876,2
207	2309,6	2171,9	2198,4	2050,4	2101,3	2081,7	2071,2	1837,4	1933,3
208	2449,6	2247,6	2204,3	2106,9	2155,7	2148,6	1884,5	1903,2	1580,4
209	1945,6	1741,0	1773,6	1850,7	1930,7	1819,3	1864,3	1767,0	1635,8
210	2047,8	1972,6	2045,3	2027,9	2112,3	2081,3	2141,2	2108,4	2096,5
211	1800,3	1455,6	1381,0	1418,7	1518,7	1554,2	1590,9	1573,8	1587,6
A1_n**									
201	2573,6	1869,3	1794,6	1867,6	1893,0	1834,6	1804,6	1804,5	1805,9

* A1_{op}= operirane kokoši

** A1_n= neoperirane kokoši

Tablica 8. Tjelesna masa kokoši, C skupina. (g)

C_{op}*	prije operacije	1.tjedan	2.tjedan	3.tjedan	4.tjedan	5.tjedan	6.tjedan	7.tjedan	8.tjedan
1661	1887,6	1960,4	1959,1	1927,3	1934,9	1979,4	1994,1	2060,7	2129,4
1662	1904,1	1673,8	1727,6	1790,5	1809,0	1731,4	1872,3	2039,7	2101,3
1663	1826,4	1837,4	1837,7	1828,7	1816,7	1678,6	1768,4	1796,3	1880,6
1664	1810,7	1782,8	1781,0	1887,1	1830,6	1876,9	1812,7	1863,4	2003,6
1665	1684,2	1510,4	1614,7	1610,3	1569,0	1609,6	1562,4	1556,9	1682,5
1666	1851,7	1965,4	1824,1	1898,3	1915,1	1873,5	1831,7	1860,8	1876,7
1667	1505,1	1128,5	1205,0	1235,4	1384,0	1512,6	1640,7	1735,6	1755,3
1668	1861,9	1581,7	1550,1	1510,8	1482,8	1567,9	1571,1	1664,2	1679,4
1669	1694,3	1506,7	1560,3	1577,6	1585,8	1585,5	1395,2	1189,6	1050,1
1670	1890,3	1727,4	1751,9	1824,3	1823,1	1790,5	1798,7	1807,6	1931,8
C_n**									
1671	1774,6	1734,3	1747,4	1827,8	1840,7	1831,2	1783,8	1852,1	1768,5
1672	1894,3	1882,8	1878,4	1868,4	1954,3	1747,6	1738,6	1841,7	1847,9

* C_{op}= operirane kokoši** C_n= neoperirane kokoši**Tablica 9.** Prosječna tjelesna masa operiranih kokoši (g) tijekom istraživanja.

	prije operacije	1. tjedan	2. tjedan	3. tjedan	4. tjedan	5. tjedan	6. tjedan	7. tjedan	8. tjedan
T_{op}	1902,72	1781,53	1738,38	1749,37	1735,29	1722,16	1686,78	1759,05	1713,09
A_{op}	1887,43	1789,81	1700,68	1770,00	1780,33	1869,02	1817,45	1847,43	1914,09
A1_{op}	2097,89	1917,19	1954,18	1939,70	1966,21	1959,16	1951,71	1900,37	2158,35
C_{op}	1791,63	1667,45	1681,15	1709,03	1715,10	1720,59	1724,73	1757,48	1809,07

Tijekom pokusa mijenja se tjelesna masa kokoši, poglavito u prvom tjednu, jer operirane kokoši tijekom prvog tjedna praktički nisu jele krutu krmnu smjesu, već samo pile vodu. Nakon prvog tjedna tjelesna se masa u svim skupinama održava pri istim vrijednostima ili tek neznatno raste, osim u kokoši skupine A_{op} gdje se smanjenje tjelesne mase nastavlja. Tek u osmom tjednu pokusa tjelesna masa u kokoši skupina A1_{op}, A_{op} i C_{op} se povećava, a u skupini T_{op} se neznatno smanjuje. Te promjene tjelesne mase u osmom tjednu ukazuju na postignuto zdravlje kokoši te je vidljiv i očevidan tijek ozdravljenja u zadnjem tjednu. Porast tjelesne mase skupine kokoši A1_{op} na kraju pokusa statistički je značajan u odnosu na preostale skupine što se može dovesti u neposrednu vezu s primijenjenim pripravkom koji su te kokoši dobivale tijekom pokusa.

4. 2. Opisna analiza rendgenograma

4. 2. 1. Skupina kokoši T_{op}

Nakon prvog tjedna nisu uočene promjene na mjestu loma u petnaest kokoši (93,75%), dok u jedne (6,25%) naknadno nalazimo lom distalnog ulomka na mjestu postavljanja fiksatora. U drugom tjednu šest kokoši (37,5%) pokazuje znakove periostoze. U trećem tjednu, u deset kokoši (62,5%) se javljaju znakovi periostoze, u pet (31,25%) započinje cijeljenje (sanacija), dok je jedna kokoš (6,25%) očituje rendgenološke znakove osteomijelitisa. Tijekom četvrtog tjedna jedna kokoš je uginula zbog opstrukcije jajovoda. Od preostalih kokoši, njih dvanaest (80%) očituje znakove cijeljenja, dok se u tri (20%) javlja osteomijelitis. U petom tjednu uginula je još jedna kokoš ove skupine zbog dijetetske nekroze jetre. Tijekom petog i šestog tjedna, u dvanaest kokoši (85,71%) nastavlja se cijeljenje, a dvije kokoši (14,29%) odaju znakove osteomijelitisa. Cijeljenje loma u sedmom tjednu pokusa obuhvaćalo je aplanaciju u jedne (7,14%), uobičajenu sanaciju u deset (71,43%), te usporenu sanaciju u jedne kokoši (7,14%). Od preostale dvije kokoši, u jedne (7,14%) se nazirao osteomijelitis, a u druge (7,14%) znakovi pseudoartroze. Posljednji, osmi tjedan pokusa, obilježili su porast broja aplaniranih kalusa u pet kokoši (35,71%), uobičajeni tijekom cijeljenja u šest (42,86%), dok je u jedne kokoši tekla usporena sanacija (7,14%). Učestalost osteomijelitisa i pseudoartroze nije se mijenjala u odnosu na sedmi tjedan. Neposredno nakon operacije jednoj kokoši je ispao fiksator i naknadno je nastao lom na distalnom ulomku lakatne kosti, a do kraja pokusa cijeljenje se nastavilo bez fiksatora. Drugoj je kokoši fiksator otpao u petom tjednu, trećoj u šestom tjednu, ali samo na proksimalnom ulomku, te još jednoj kokoši u osmom tjednu pokusa.

4. 2. 2. Skupina kokoši A_{op}

U prvom tjednu pokusa u 11 kokoši (91,67%) nisu rendgenografski vidljive promjene, a u jedne (8,33%), kojoj je ispao fiksator, uočen je sekundarni lom na distalnom ulomku lakatne kosti na mjestu postavljanja alanteze koji se proširio do primarne lomne pukotine čineći opsežan koštani odlomak. Tijekom drugog tjedna javljaju se znakovi

periostoze u 11 kokoši (91,67%). Pored toga, u jedne kokoši (8,33%) se javio lom distalnog ulomka lakatne kosti na mjestu postavljanja alanteze koji se nije širio prema primarnoj lomnoj pukotini. U trećem tjednu znakove cijeljenja očitovale su četiri kokoši (33,33%), znakove osteomijelitisa njih pet (41,67%), a u svega tri (25%) uočeni su znakovi reakcije pokosnice. Uobičajeni tijek cijeljenja od ukupno pet kokoši u četvrtom tjednu je prisutno u tri (25%), a u dvije (16,67%) je usporenog tijeka. Osteomijelitis na mjestu loma zabilježen je u preostalih pet kokoši (41,67%), a u dvije (16,67%) reakcija pokosnice. Tijekom petog tjedna u po tri kokoši je cijeljenje uobičajeno (25%), odnosno usporeno (25%) pa je tako očitovano u ukupno šest kokoši. Pored toga u šest kokoši (50%) očitovan je osteomijelitis budući da jedna kokoš ulazi u ovu kategoriju iz bujanja pokosnice. Tijekom šestog tjedna također u tri kokoši (25%) očitovani su znakovi uobičajenog cijeljenja, dok je u četiri (33,33%) cijeljenje usporeno, a u četvrte se na proksimalnom ulomku izvukla metalna alanteza. Osteomijelitis na mjestu loma još je uočljiv u tri kokoši (25%) jer u jedne počinje usporeno cijeljenje loma, dok se u dvije (16,67%) zapaža oblikovanje pseudoartroze. Kod četiri kokoši (33,33%) u sedmom tjednu cijeljenje teče uobičajeno, a u pet usporeno (41,67%). Na kraju pokusa u osmom tjednu aplanacija kalusa je nađena u dvije kokoši (16,67%), uobičajen tijek cijeljenja također u dvije (16,67%), usporen tijek cijeljenja u četiri (33,33%), a u četiri kokoši (33,33%) nastao je lažni zglobov (pseudoartroza)

4. 2. 3. Skupina kokoši A1_{op}

U prvom tjednu kod jedne kokoši (10%) uočava se odlomak kosti na mjestu loma, a u preostalih devet (90%) nema rendgenološki vidljivih promjena. Reakcije pokosnice zapažaju se u drugom tjednu u sedam kokoši (70%), a u tri (30%) još nema rendgenološki uočljivih promjena. Tijekom trećeg tjedna reakcije pokosnice uočljive su u devet kokoši (90%), a u jedne (10%) jasni su znakovi cijeljenja. Četvrtog tjedna uobičajeno cijeljenje je izraženo već u osam kokoši (80%), u jedne (10%) je usporenog tijeka, a u jedne kokoši (10%) primijećene su osteomijelitičke promjene. U petom tjednu u dvije kokoši (20%) nastupa aplanacija kalusa, u pet (50%) cijeljenje teče uobičajenim, a u dvije (20%) usporenim. Tijekom. Šestog tjedna aplanacija kalusa se zapaža u tri kokoši (30%), uobičajeno cijeljenje u četiri (40%), dok je u dvije kokoši (20%) cijeljenje usporeno. Osteomijelitis i dalje nalazimo u jedne kokoši (10%). Tijekom sedmog i osmog tjedna dolazi do aplanacije kalusa u sedam kokoši (70%), usporenog cijeljenja u dvije (20%), dok je osteomijelitis ostao i dalje u jedne (10%) kokoši. Po završetku pokusa u kontrolne kokoši lom je zacijelio s aplanacijom kalusa.

4. 2. 4. Skupina kokoši C_{op}

Prvog tjedna u devet kokoši (90%) rendgenološki nisu vidljive promjene, a u jedne kokoši (10%) na proksimalnom ulomku kosti na mjestu postavljanja alanteze uočena je lomna linija koja vodi u primarnu lomnu pukotinu i čini veći odlomak. Drugog tjedna u osam kokoši (80%) zapaža se reakcija pokosnice, a u dvije (20%) i dalje nema rendgenološki uočljive promjene. Cijeljenje se uočava trećeg tjedna kod pet (50%), znakovi osteomijelitisa u tri (30%), te bujanja pokosnice u dvije (20%) kokoši. Četvrtog tjedna cijeljenje je nastupilo u šest kokoši (60%), dok se u jedne (10%) i dalje uočavaju reakcije pokosnice. Osteomijelitis, nastao trećeg tjedna, i dalje je prisutan u tri kokoši (30%). Cijeljenje i bujanja pokosnice u petom tjednu ne mijenjaju se u odnosu na četvrti tjedan dok je osteomijelitis nađen u samo jedne (10%), a lažni zglob u preostale dvije (20%) kokoši koje su u trećem i četvrtom tjednu pokazivale znakove osteomijelitisa. Šestog tjedna nastupa aplanacija kalusa u dvije (20%) kokoši, u pet (50%) se nastavilo cijeljenje uobičajenim, a u jedne (10%) usporenim tijekom. Od šestog tjedna preostala kokoš s osteomijelitisom očituje cijeljenje uobičajenog tijeka, a u osmom tjednu i znakove aplanacije kalusa. Sedmog tjedna aplanacija se uočava kod četiri

kokoši (40%), uobičajeni tijekom cijeljenja zabilježen je u tri (30%), a usporeni u jedne (10%) kokoši. Na kraju pokusa aplanacijom kalusa završava cijeljenje loma kosti u pet (50%), uobičajenim cijeljenjem dvije (20%), usporenim cijeljenjem u jedne (10%), te tvorbom lažnog zgloba u dvije (20%) kokoši. Fiksator je ispao jednoj kokoši u sedmom tjednu pokusa na proksimalnom ulomku lakatne kosti, a potpuno je ispao u osmom tjednu.

4.3. Statistička obrada podataka

4. 3. 1. Mineralni sastav kalusa

Statistički značajne razlike u mineralnom sastavu kalusa (Tablica 10.) utvrđene su za količinu kalcija i natrij klorida. Značajno više je kalcija u kalusu kokoši skupine $A1_{op}$ u odnosu na C_{op} . Značajno veću količinu natrij klorida sadržava kalus kokoši skupine $A1_{op}$ u odnosu na skupinu A_{op} . Prema sadržaju fosfora u kalusu pokusne skupine T_{op} i $A1_{op}$ naginju statistički značajnoj razlici u odnosu na A_{op} skupinu .

Tablica 10. Mineralni sastav kalusa (po skupinama).

Kokoš	Ca, %	P, %	NaCl, ppm	Mn, ppm	Cu, ppm	Zn, ppm	Fe, ppm	Mg, ppm	K, ppm
T _{op} 1	18,52	9,33	2375	13,64	7,95	453	114	2841	310
T _{op} 2	19,27	9,43	2281	11,46	6,25	452	101	2917	357
T _{op} 3	18,35	9,16	2114	13,64	6,82	550	79	2727	507
T _{op} 4	18,07	9,00	2568	14,77	9,09	515	91	2955	616
T _{op} 5	18,07	9,06	2386	14,77	7,95	552	84	2955	565
A _{op} 1	19,80	9,31	2224	15,17	10,11	575	131	2273	485
A _{op} 2	14,37	7,24	1818	7,95	5,68	387	106	2500	300
A _{op} 3	17,87	8,57	2250	19,12	8,82	615	106	3088	528
A _{op} 4	18,38	8,16	2176	19,12	8,82	600	93	2941	448
A _{op} 5	19,15	7,77	2273	12,50	7,95	458	108	2955	303
A1 _{op} 1	18,69	9,12	2821	11,90	8,33	479	121	3095	315
A1 _{op} 2	18,75	8,95	2612	17,50	7,50	594	117	3000	300
A1 _{op} 3	20,65	9,61	3219	13,51	9,00	621	133	3152	518
A1 _{op} 4	19,50	9,54	2532	16,00	7,28	598	143	3056	387
A1 _{op} 5	19,87	9,46	2883	12,59	9,79	599	83	3079	501
C _{op} 1	17,73	9,01	2307	14,77	7,95	487	129	2898	581
C _{op} 2	18,41	9,51	2636	18,18	11,36	636	150	2954	736
C _{op} 3	18,18	9,32	2287	12,12	9,09	597	112	3015	520
C _{op} 4	16,00	7,82	3071	14,28	10,71	821	200	2661	1589
C _{op} 5	16,91	8,54	2088	7,35	7,35	510	107	2809	706

4. 3. 2. Statistička značajnost razlika rentgenološki praćenih promjena

Tablicama 11 i 12 prikazana je statistički značajna razlika usporedbe praćenih promjena između dvije skupine po tjednima pokusa. Odnos rentgenološki praćenih promjena u operiranih skupina prikazan je u zagradi iza oznake skupine.

Tablica 11a. Statistička značajnost (p) reakcija pokosnice i ostalih promjena između skupina drugog tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (6:10)	M _{op} (11:3)	A _{op} (11:1)	A1 _{op} (7:3)	C _{op} (8:2)
T _{op} (6:10)	-	p = 0,0235	p = 0,0037	p = 0,1069	p = 0,0344
A _{op} (11:1)	p = 0,0037	p = 0,3562	-	p = 0,1895	p = 0,4272
A1 _{op} (7:3)	p = 0,1069	p = 0,6326	p = 0,1895	-	p = 0,6056
C _{op} (8:2)	p = 0,0344	p = 0,9323	p = 0,4272	p = 0,6056	-

Tablica 11b. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina trećeg tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (5:11)	M _{op} (2:12)	A _{op} (4:8)	A1 _{op} (1:9)	C _{op} (5:5)
T _{op} (5:11)	-	p = 0,2731	p = 0,9070	p = 0,2109	p = 0,0344
A _{op} (4:8)	p = 0,9070	p = 0,2505	-	p = 0,1935	p = 0,4285
A1 _{op} (1:9)	p = 0,2109	p = 0,7543	p = 0,1935	-	p = 0,0510
C _{op} (5:5)	p = 0,3390	p = 0,0577	p = 0,4285	p = 0,0510	-

Tablica 11c. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina četvrtog tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (12:3)	M _{op} (4:10)	A _{op} (5:7)	A1 _{op} (9:1)	C _{op} (6:4)
T _{op} (12:3)	-	p = 0,0054	p = 0,0404	p = 0,5040	p = 0,2752
A _{op} (5:7)	p = 0,0404	p = 0,4841	-	p = 0,0190	p = 0,3918
A1 _{op} (9:1)	p = 0,5040	p = 0,0029	p = 0,0190	-	p = 0,1213
C _{op} (6:4)	p = 0,2752	p = 0,1236	p = 0,3918	p = 0,1213	-

Tablica 11d. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina petog tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (12:2)	M _{op} (4:10)	A _{op} (6:6)	A1 _{op} (9:1)	C _{op} (6:4)
T _{op} (12:2)	-	p = 0,0023	p = 0,0492	p = 0,7543	p = 0,1515
A _{op} (6:6)	p = 0,0492	p = 0,2629	-	p = 0,0449	p = 0,6390
A1 _{op} (9:1)	p = 0,7543	p = 0,0029	p = 0,0449	-	p = 0,1213
C _{op} (6:4)	p = 0,1515	p = 0,1236	p = 0,6390	p = 0,1213	-

Tablica 11e. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina šestog tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (12:2)	M _{op} (5:9)	A _{op} (7:5)	A1 _{op} (9:1)	C _{op} (8:2)
T _{op} (12:2)	-	p = 0,0068	p = 0,1166	p = 0,7543	p = 0,7111
A _{op} (7:5)	p = 0,1166	p = 0,2488	-	p = 0,0968	p = 0,2773
A1 _{op} (9:1)	p = 0,7543	p = 0,0078	p = 0,0968	-	p = 0,5312
C _{op} (8:2)	p = 0,7111	p = 0,0318	p = 0,2773,	p = 0,5312	-

Tablica 11f. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina sedmog tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (12:2)	M _{op} (8:6)	A _{op} (9:3)	A1 _{op} (9:1)	C _{op} (8:2)
T _{op} (12:2)	-	p = 0,0943*	p = 0,4895	p = 0,7543	p = 0,7111
A _{op} (9:3)	p = 0,4895	p = 0,3400	-	p = 0,3637	p = 0,7805
A1 _{op} (9:1)	p = 0,7543	p = 0,0808*	p = 0,3637	-	p = 0,5312
C _{op} (8:2)	p = 0,7111	p = 0,2416	p = 0,7805	p = 0,5312	-

Tablica 11g. Statistička značajnost (p) razlike između cijeljenja i ostalih promjena između skupina osmog tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (12:2)	M _{op} (8:6)	A _{op} (8:4)	A1 _{op} (9:1)	C _{op} (8:2)
T _{op} (12:2)	-	p =0,0943*	p =0,2505	p =0,7543	p =0,7111
A _{op} (8:4)	p =0,2505	p =0,6188	-		p =0,1935
A1 _{op} (9:1)	p =0,7543	p =0,0808*	p =0,1935	-	p =0,5312
C _{op} (8:2)	p =0,7111	p =0,2416	p =0,4844	p =0,5312	-

* NAPOMENA: U sedmom i osmom tjednu pokusa nije nađena statistički značajna razlika.

Tablica 12a. Statistička značajnost (p) razlike između aplanacije kalusa i ostalih oblika cijeljenja između skupina petog tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (0:12)	M _{op} (1:3)	A _{op} (0:6)	A1 _{op} (2:7)	C _{op} (0:6)
T _{op} (0:12)	-	p =0,0736*	0	p =0,0860*	0
A _{op} (0:6)	0	p =0,1967	-	p =0,2149	0
A1 _{op} (2:7)	p =0,0860*	p =0,9126	p =0,2149	-	p =0,2149
C _{op} (0:6)	0	p =0,1967	0	p =0,2149	-

Tablica 12b. Statistička značajnost (p) razlike između aplanacije kalusa i ostalih oblika cijeljenja između skupina šestog tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (0:12)	M _{op} (2:3)	A _{op} (0:7)	A1 _{op} (3:6)	C _{op} (2:6)
T _{op} (0:12)	-	p =0,0197	0	p =0,0308	p =0,0679
A _{op} (0:7)	0	p =0,0668	-	p =0,0902	p =0,1553
A1 _{op} (3:6)	p =0,0308	p =0,8030	p =0,0902	-	p =0,7066
C _{op} (2:6)	p =0,0679	p =0,5686	p =0,1553	p =0,7066	-

Tablica 12c. Statistička značajnost (p) razlike između aplanacije kalusa i ostalih oblika cijeljenja između skupina sedmog tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (1:11)	M _{op} (4:4)	A _{op} (0:9)	A1 _{op} (7:2)	C _{op} (4:4)
T _{op} (1:11)	-	p =0,0350	p =0,3749	p =0,0012	p =0,0350
A _{op} (0:9)	p =0,3749	p =0,0153	-	p =0,0007	p =0,0153
A1 _{op} (7:2)	p =0,0012	p =0,2316	p =0,0007	-	p =0,2316
C _{op} (4:4)	p =0,0350	p =1,0000	p =0,0153	p =0,2316	-

Tablica 12d. Statistička značajnost (p) razlike između aplanacije kalusa i ostalih oblika cijeljenja između skupina osmog tjedna pokusa.

Skupina	T _{op} (5:7)	M _{op} (4:4)	A _{op} (2:6)	A1 _{op} (7:2)	C _{op} (5:3)
T _{op} (5:7)	-	p =0,7136	p =0,4439	p =0,0980	p =0,3613
A _{op} (2:6)	p =0,4439	p =0,3017	-	p =0,0296	p =0,1306
A1 _{op} (7:2)	p =0,0980	p =0,2316	p =0,0296	-	p =0,4902
C _{op} (5:3)	p =0,3613	p =0,6143	p =0,1306	p =0,4902	-

5. RASPRAVA

Cijeljenje loma kosti značajno je područje istraživanja jednako humane i veterinarske medicine. Na taj proces nastoji se djelovati različitim načinima i sredstvima, kako bi tekao što je moguće brže i potpunije. Uglavnom, nakon mehaničkog namještanja ulomaka, radi poboljšanja tijeka cijeljenja, primjenjuju se postupci, poput fizikalno terapijskih ili parenteralnog davanja različitih pripravaka koji bi mogli potaknuti fiziološke mehanizme stvaranja kalusa i ugradnju minerala u oštećeno područje. Mogućnost djelovanja na tijek cijeljenja kosti oralnim unošenjem u organizam, hranom, različitih pripravaka praktički ne postoji, napose ne u ptica. Upravo stoga, ali i zbog jednostavnijeg pristupa, te male cijene koštanja odlučeno je u istraživanju kao pokusnu životinju koristiti odraslu kokoš, a kao sredstva mogućeg poticanja procesa cijeljenja kosti, u ovom slučaju lakatne, jedan mineralni (montmorilonit), te jedan oligonukleotidski (Ascogen) pripravak.

Opća anestezija kokoši izvedena ketamin hidrokloridom i diazepamom pokazala se učinkovitom za postupak osteosinteze i osteotomije dugih cjevastih kosti, pa smo je i mi upotrijebili prilikom osteotomije i osteosinteze desne lakatne kosti u kokoši nesilica hibrida lakih pasmina, bez štetnih posljedica na opće zdravlje.

Slično kao i BERNARDO i GARCIA (1997.) a našem istraživanju osteotomijom smo načinili poprečni lom desne lakatne kosti u 55 kokoši i raspodijeljenih u četiri skupine. Za osteosintezu smo upotrijebili izvanjski fiksator tipa I, za razliku od većine autora koji su koristili izvanjski fiksator tipa II (ALIEVI i sur., 2001; BERNARDO i GARCIA 1997; MEIJ i sur., 1996.). Klinička i rendgenološka pretraga u našem istraživanju obavljene su u tjednim intervalima tijekom osam tjedana kada je proces cijeljenja loma u većine kokoši bio završen. Cijeljenje smo zabilježili već u trećem tjednu, a aplanaciju kalusa najranije u petom tjednu kod skupine A1_{op}. U našem pokusu jednoj kokoši s dvostrukim lomom iz skupine T_{op} fiksator je ispao neposredno nakon operacije, a oba loma su bez naknadne fiksacije uredno cijelila do kraja pokusa, bez nepravilnog povezivanja ulomaka što se dovodi u vezu sa palčanom kosti koja je bez loma služila kao unutarnji potporanj (OROSZ, 2002.).

BERNARDO i GARCIA (1997.) su makroskopski i rendgenološki procijenili učinak osteosinteze lakatne kosti izvanjskim fiksatorom tipa II u 15 golubova, te zaključili da je izvanjska fiksacija tip II uvjet za cijeljenje bez nuspojava. Izostanak cijeljenja kao nepoželjni ishod cijeljenja, u našem istraživanju javlja se u obliku osteomijelitisa ili pseudoartroze unatoč primijeni fiksacije izvanjskim fiksatorom tipa I.

Učinak peroralne primjene različitih pripravaka na cijeljenje loma kosti u ptica oskudno se spominje u literaturi. Tako LIDOR i sur. (1987.) opisuju učinak kolekalciferola dodanog u krmni obrok na cijeljenje loma u pilića hranjenih krmnom smjesom deficitarnom na vitamin D₃. Nakon cijeljenja loma dokazali su porast metabolita kolekalciferola u kalusu povezanog s tvorbom hrskavičnog tkiva i bubrežnom proizvodnjom steroida. HELLEWEL i sur. (1975.) su opisali učinak dietilstilbestrola tijekom šest tjedana na cijeljenje loma butne kosti u odraslih pijetlova i dokazali porast razine kalcija i lipida u plazmi, te minerala i organskog matriksa u kalusu. LESSLER i RAY (1979.) su nakon zatvorenog loma desne palčane kosti jednoj skupini pilića dobi sedam dana peroralno davali olovo acetat u koncentraciji 1%, a drugoj uobičajenu smjesu i nakon tjedan dana ustanovili sporije cijeljenje u pilića hranjenih dodatkom olovo acetata. ZHOUGHUA i sur. (2002.) su dodavanjem bakra u krmno obrok potpomogli cijeljenje loma kosti u ptica i utvrdili povećanu ugradnju kalcija i magnezija u kalus. Dodatkom nikla WILSON i sur. (2001.) pospješuju otpornost kosti prema lomu, ali i cijeljenje loma, a istovjetne nalaze postigli su WILSON i RUSLER (1998.) dodatkom bora u krmnu smjesu kokošima nesilicama.

Tijekom našeg istraživanja kokošima su po skupinama u temeljnu krmnu smjesu primijenjeni mineralni pripravci, kalcijev montmorilonit u koncentraciji 2%, te oligonukleotidski probiotik Ascogen® u koncentraciji 2000 ppm. Opisan je utjecaj Ascogena u peradi, svinja i goveda na njihov imunološki sustav i opće zdravlje (KÖPPEL, 2003.), te povećanjem resorpcijske površine crijevnih resica na bolju apsorpciju hrane (WHITEHEAD, 2003.). Utjecaj kalcijeva montmorilonita na cijeljenje loma kosti u ljudi opisuje KONG (2003.). Oralnom primjenom kalcijeva montmorilonita već u četvrtom tjednu u nas je postignut visok postotak cijeljenja loma lakatne kosti, a broj kokoši s izostankom cijeljenja je zanemariv. ERSHOFF (1964.) navodi da kalcijev montmorilonit omogućuje bolje nakupljanje i iskoristivost kalcija u organizmu, te njegovo odlaganje u kostima i koštani kalus. Upravo to je potvrđeno analizom kalusa T_{op} skupine koja je pokazala veći udio kalcija u odnosu na C_{op} skupinu, hranjenu temeljnom krmnom smjesom. Vezanje kalcija u kalus najbolje je, uz T_{op}, pokazala i A1_{op} skupina (statistički značajno u odnosu na C_{op} skupinu), što se može objasniti povoljnim djelovanjem Ascogena na imunološki sustav i opće zdravlje kokoši. U prilog navedenom govori nalaz najviše tjelesne mase kokoši A1_{op} skupine tijekom pokusa sa značajnim porastom u osmom tjednu. Kokoši T_{op} i A1_{op} skupine također pokazuju i veći sadržaj fosfora u kalusu u odnosu na A_{op}, a nađena razlika je vrlo blizu statističke značajnosti. Zanimljivost usporedbi ovih skupina jest da, unatoč podjednako dobro postignutom cijeljenju loma, kokoši T_{op} skupine tijekom pokusa gube na tjelesnoj masi i na kraju pokusa očituju

masu manju od početnih vrijednosti, dok kokoši A1_{op} skupine na početku i na kraju pokusa imaju značajno veću masu bez težnje smanjivanju.

Početna prosječna tjelesna masa kokoši pokusnih skupina je najviša u kokoši A1_{op} skupine, a najniža u kokoši C_{op} skupine. Tjelesna masa u A1_{op} skupini se do kraja pokusa zadržala kao najviša. Prvog tjedna pokusa sve skupine bilježe smanjenje tjelesne mase. Rendgenološki vidljive promjene u prvom tjednu očituju se u obliku sekundarnog loma ulomka u jedne kokoši po operiranoj skupini. Prilikom boravka u metalnim kavezima spojnice fiksatora na lateralnim stranama krila bile su izložene udarcima i trenju o stijenke kaveza, te su vjerojatno, prenoseći silu udarca, izazvale lom na mjestu najmanje čvrstoće kosti. Ozljede krila i udarci krilima o stranice kaveza koji se prenose na kost, te mogu dovesti do pomicanja metalne alanteze ili naknadnog loma kosti, sprječavaju se postavljanjem povoja na operirano krilo.

Rendgenološka pojava koštanog bujanja pokosnice uočava se u svim pokusnim skupinama u drugom tjednu. Daljnje smanjenje mase u ovom tjednu zapaža se u kokoši skupina A_{op} i T_{op}. Značajno je bujanje pokosnice pokazuju kokoši skupine A_{op} (91,67%), C_{op} (80%), A1_{op} (70%) u odnosu na T_{op} skupinu gdje je samo 37,5% kokoši reagiralo reakcijama pokosnice. Usporedba bujanja pokosnice drugog tjedna, ukazuje na statistički značajniju reakciju pokosnice u skupine C_{op} u odnosu na T_{op} skupinu iako C_{op} prije operacije i prvog tjedna nakon operacije ima statistički značajno manju tjelesnu masu od T_{op}. Kokoši A_{op} skupine u odnosu na T_{op} skupinu pokazuje statistički značajno veću učestalost koštanog bujanja. Približno jednak udio bujanja pokosnice zabilježen u skupina A_{op} i C_{op} je rezultat činjenice da su obje skupine hranjene temeljnom krmnom smjesom tijekom prva dva tjedna pokusa, a nije utvrđena statistički značajna razlika njihovih tjelesnih masa. Unatoč visokom postotku koštanih bujanja drugog tjedna pokusa, ove dvije skupine u trećem i četvrtom tjednu, a C_{op} skupina i u petom tjednu pokusa, i dalje očituju reakcije pokosnice kao znak slabog taloženja kalcijevih soli u kalus što je pokazatelj slabog učinka temeljne krmne smjese na cijeljenje loma. Skupina A_{op} zbog uzimanja temeljne smjese bez dodatka Ascogen[®]-a pokazuje sličan odnos praćenih promjena u prva dva tjedna pokusa, a također sličan odnos cijeljenja i ostalih promjena kao i C_{op} trećeg tjedna. Statistički značajan porast bujanja pokosnice u kokoši skupina A_{op} i C_{op} u odnosu na T_{op} skupinu moguća je posljedica sastava temeljne krmne hranjive smjese, jer je tom smjesom skupini T_{op} oduzeto 2% mase krme koliko je dodano mineralnog pripravka. Trećeg tjedna od početka pokusa skupine su testirane s obzirom na cijeljenje loma u odnosu na sve ostale rendgenološki vidljive promjene. Statistički značajna razlika utvrđena je između skupina C_{op} i A1_{op}. Četvrtog tjedna nisu

nađene statistički značajne razlike tjelesnih masa među skupinama, iako je najveća prosječna masa zabilježena u kokoši A1_{op} skupine, a T_{op} skupina ima manju tjelesnu masu u odnosu na A_{op}. Usporedbom cijeljenja i svih ostalih promjena utvrđene su statistički značajne razlike između A1_{op} i A_{op} skupina. Također, T_{op} skupina je očitovala statistički značajno veći broj cijeljenja lomova u odnosu na A_{op} skupinu. Skupina A1_{op} je trećeg tjedna imala 10% kokoši u procesu cijeljenja, u odnosu na A_{op} skupinu u koje je cijeljenje zabilježeno na razini 33,3% kokoši, u četvrtom tjednu A1_{op} skupine 90% lomova cijeli u odnosu na A_{op} skupinu (41,67%). Vrlo sličan je rezultat usporedbe T_{op} skupine s A_{op} skupinom u trećem tjednu pokusa (31,25%:33,33%), te T_{op} skupine (31,25%) koja se u četvrtom tjednu značajno promijenila u korist T_{op} skupine prema A_{op} skupini (80%:41,67%), te T_{op} skupine. Razlog tome, uz hranidbu, je i visoka pojavnost izostanka sanacije tj. osteomijelitisa u pet kokoši (41,67%) A_{op} skupine. Četvrtog tjedna prvi put se u pokusu pojavljuje rentgenološko očitovanje lažnog zgloba.

Prosječna tjelesna masa kokoši petog tjedna najveća je i dalje u skupini A1_{op}, a najniže i približno jednake su u kokoši C_{op} i T_{op} skupina. Statistički značajnu razliku pokazuju tjelesne mase kokoši A_{op} i C_{op} skupina. Petog tjedna među skupinama je nađen vrlo sličan odnos cijeljenja i ostalih promjena kao i četvrtog tjedna. Skupina A1_{op} prema A_{op} skupini bilježi statistički značajno veći broj cijeljenja. Kalcijev montmorilonit statistički značajno u većem omjeru dovodi do cijeljenja loma u odnosu na Ascogen[®] u A_{op} skupini. Reakcija pokosnice bilježi se još samo u C_{op} skupini. Ovakva razina statističke značajnosti uvjetovana je istim brojem lomova koji uobičajeno cijele u A_{op} i T_{op} skupinama kao i četvrtog tjedna. U A_{op} skupini povećava se udio cijeljenja i osteomijelitisa na račun bujanja pokosnice što nije bilo statistički značajno. Usporedbom promjena praćenih četvrtog i petog tjedna s pojavom bujanja pokosnice drugog tjedna, uočava se učinak hranidbe kalcijevim montmorilonitom koji statistički značajno u manjoj mjeri potiče reakciju pokosnice u odnosu na A_{op} dovodeći do značajno većeg broja cijeljenja lomova četvrtog i petog tjedna, unatoč manjoj prosječnoj tjelesnoj masi kokoši u odnosu na spomenute skupine. Slična situacija je uočena i kod hranidbe s Ascogen[®]-om u A1_{op} skupine koja u drugom tjednu bilježi nešto manji postotak bujanja pokosnice u odnosu na A_{op}, a četvrtog i petog tjedna dovodi do značajno većeg broja cijeljenja lomova u odnosu na te skupine.

Šestog tjedna, kokoši svih skupina bilježe smanjenje prosječne tjelesne mase, osim C_{op} koja bilježi porast, čime su po prvi put kokoši T_{op} najmanje tjelesne mase, a statistički značajne razlike nisu uočene u tjelesnim masama kokoši pokusnih skupina. Najveća prosječna tjelesna masa i dalje je u kokoši A1_{op} skupine. Skupina C_{op} pokazuje porast cijeljenja loma

napredovanjem bujanja pokosnice i obratom iz kroničnog osteomijelitisa na račun porasta prosječne tjelesne mase zabilježenog od drugog do šestog tjedna. Skupine T_{op} i $A1_{op}$ su zadržale odnos promjena na razini petog tjedna.

Sedmog tjedna prosječne tjelesne mase se povećavaju, osim u $A1_{op}$ skupine koja i dalje održava najvišu prosječnu tjelesnu masu. Porast mase u A_{op} skupine uočljiv je na prijelaz iz osteomijelitisa u cijeljenje.

Osmog tjedna zabilježen je daljnji porast prosječna tjelesna masa u $A1_{op}$, A_{op} i C_{op} skupina, dok se prosječne mase T_{op} i M_{op} skupina smanjuju ispod početnih vrijednosti, ali bez statističkog značaja razlike. Unatoč porastu tjelesne mase u A_{op} skupini u ovom tjednu udio cijeljenja opada. Statistički značajne razlike među skupinama u osmom tjednu s obzirom na udio saniranih lomova nisu zabilježene u odnosu na ostale promjene.

Tijekom sedmog i osmog tjedna razlika nije više statistički značajna u cijeljenju loma između $A1_{op}$ i T_{op} skupina.

Opisnom analizom rendgenograma načinjena je podjela cijeljenja na uobičajen tijek, usporeno cijeljenje i uznapredovali tijek cijeljenja tj. aplanaciju kalusa. Cijeljenje loma pojavilo se u svih pokusnih skupina trećeg tjedna pokusa. Zabilježeno je to u pet kokoši (31,25) skupine T_{op} ima u četiri A_{op} skupine (33,33%), jedne u skupina $A1_{op}$ (10%) i pet (50%) kokoši skupine C_{op} s cijeljenjem, za koje se u tom razdoblju pokusa nije mogao točno odrediti oblik cijeljenja. Iako je od početka pokusa pa do trećeg tjedna imala najveću prosječnu tjelesnu masu, $A1_{op}$ skupina najslabije očituje cijeljenje u trećem tjednu.

Četvrtog tjedna sve kokoši u cijeljenju iz C_{op} skupine, njih 60% pokazuju uobičajen tijek, a u A_{op} skupini pet kokoši (41,67%) očituje sanaciju, a od toga dvije (16,67%) usporeni tijek cijeljenja. U $A1_{op}$ skupini devet kokoši (90%) očituje cijeljenje, što je devet puta više u odnosu na treći tjedan, a od toga samo jedna (10%) usporeni tijek cijeljenja. I dalje najveću prosječnu tjelesnu masu bilježi $A1_{op}$ skupina kokoši što je u vezi s porastom cijeljenja. U T_{op} skupini je oko dva i pol puta više kokoši u cijeljenju negoli u trećem tjednu tj. 12:5 (80% prema 31,25%) iako kao skupina bilježi smanjenje tjelesne mase u odnosu na prethodni tjedan. Usporena sanacija u jedne od ukupno dviju kokoši u skupini A_{op} nastupila je zbog dijastaze ulomaka na mjestu lomne pukotine. U odnosu $A1_{op}$ i A_{op} skupina udio uobičajenog cijeljenja bio je u korist $A1_{op}$ skupine (80%:25%), a usporenog cijeljenja (10%:16,67%) u korist A_{op} skupine.

Šestog tjedna prosječna tjelesna masa kokoši svih skupina blago se smanjuje, osim C_{op} skupine koja pokazuje težnju daljnjeg porasta, u kojoj se, uz to, javlja i aplanacija kalusa (20%). Skupina $A1_{op}$ bilježi porast aplanacije za 10%, na 30%, a uobičajeno i usporeno

cijeljenje iznose 60 %. Kokoši M_{op} skupine očituju aplanaciju kalusa u dva slučaja (14,29%), a uobičajeno cijeljenje u tri (21,43%). U T_{op} skupine nije bilo rendgenološki vidljive aplanacije kalusa, a u svih 12 kokoši (85,71%) lom cijeli uobičajeno.

Sedmog tjedna prosječna tjelesna masa u svih skupina raste, osim u $A1_{op}$ skupine koja unatoč smanjenju pokazuje najveću vrijednost. Razmatrajući oblik cijeljenja u C_{op} skupini pojava aplanacije se udvostručila na 40% svih kokoši prema šestom tjednu. Aplanacija kalusa nije uočena u A_{op} skupini. U svih kokoši (40%) skupine $A1_{op}$ s uobičajenim tijekom cijeljenja iz šestog tjedna, započela je aplanaciju pa ih je u sedmom tjednu bilo ukupno sedam (70%). Statistički značajno više aplanacije kalusa bilo je u C_{op} skupini prema A_{op} skupini, te C_{op} u odnosu na T_{op} skupinu. Iako kokoši A_{op} skupine imaju veću prosječnu tjelesnu masu u odnosu na C_{op} , pa i T_{op} , ne očituju aplanaciju kalusa što je jedan od razloga statistički značajne razlike. U T_{op} skupini je statistički značajno manje aplaniranih kalusa u odnosu na $A1_{op}$ skupinu.

Osmog tjedna prosječna tjelesna masa raste u svih skupina, osim u T_{op} u kojih je manja u odnosu na početnu, prije operacije i najmanja je u T_{op} skupini. Aplanacije je u C_{op} skupini je 50% više, a u A_{op} skupini se po prvi put bilježi u 16,67% lomova. Ukupno cijeljenje, kao i aplanacija u $A1_{op}$ skupini je ostalo na razini sedmog tjedna. Statistički značajno više lomova je završilo aplanacijom kalusa u $A1_{op}$ u odnosu na A_{op} skupinu kokoši pri čemu je $A1_{op}$ imala veću prosječnu masu od A_{op} , ali bez statistički značajne razlike.

Razmatrajući nađene promjene u osmom tjednu pokusa, kokoši $A1_{op}$ skupine imale su najveću prosječnu tjelesnu masu, kao i tijekom cijelog pokusa s težnjom daljnjeg porasta, što se pripisuje učinku oligonukleotidskog probiotika na njihovo opće zdravlje, ali i na bolju resorpciju povećanjem resorpcijske površine crijevnih resica (WHITEHEAD, 2003.). Trećeg tjedna je u $A1_{op}$ skupini bilo samo 10% cijeljenja lomova, ali za pet tjedana, na kraju pokusa 90%, od čega 70 % s aplanacijom kalusa što je najviše od svih pokusnih skupina, a statistički značajno više od 16,67% aplanacije kalusa u kokoši A_{op} skupine. Pored toga je statistički značajno više ugrađeno kalcija u kalus $A1_{op}$ u odnosu na C_{op} skupinu i natrij klorida u odnosu na A_{op} skupinu. Veća razlika je i u ugradnji fosfora u kalus $A1_{op}$ u odnosu na A_{op} skupinu, vrlo blizu statističkoj značajnosti. Iako kokoši T_{op} skupine imaju značajno veću početnu prosječnu tjelesnu masu prije operacije i prvog tjedna u odnosu na A_{op} i C_{op} skupine, te prvog tjedna u odnosu na C_{op} skupinu, na kraju pokusa imaju najmanju prosječnu tjelesnu masu u odnosu na ostale skupine, ali i na vrijednosti prije operacije, te prvog tjedna pokusa. Unatoč smanjenju tjelesne mase, na završetku pokusa 85,71% je cijeljenja lomova, od čega 35,71% završava aplanacijom kalusa. Kokoši T_{op} su pokazale najveći porast aplanacije kalusa iz

sedmog u osmi tjedan. Najmanji udio izostanka cijeljenja zbog osteomijelitisa ili tvorbe lažnog zgloba nađen je u A1_{op} i T_{op} skupinama. Unatoč najmanjoj prosječnoj tjelesnoj masi, u kokoši T_{op} skupine nađena je najveća ugradnja fosfora i kalcija u kalus, izuzevši A1_{op} skupinu.

Izostanak cijeljenja zbog osteomijelitisa se kao komplikacija javlja u svim skupinama trećeg tjedna pokusa, izuzev A1_{op} skupine gdje se prvi put javlja četvrtog tjedna pokusa. Rentgenološki uočljivom osteomijelitisu prethodi stadij bujanja pokosnice u svim skupinama drugog tjedna pokusa. Najniži udio osteomijelitisa ima T_{op} skupina (6,25%), dok C_{op} skupina očituje osteomijelitis u 30% kokoši. Najveći udio osteomijelitisa očituju skupine A_{op} s 41,67%.

Četvrtog tjedna u A1_{op} skupini 10% kokoši reagira tvorbom osteomijelitisa, u T_{op} skupini udio raste na 20%. U A_{op} i C_{op} skupina nema promjena u odnosu na treći tjedan. Svo zabilježeno povećanje učestalosti pojave osteomijelitisa je zapravo nastavak bujanja pokosnice u prethodnom tjednu.

Petog tjedna u T_{op} skupine manje je osteomijelitisa za 7,14% koji ostaje isti i u šestom tjednu jer jedna kokoš pokazuje obrat u usporeno cijeljenje. U A1_{op} skupini udio osteomijelitisa je i dalje 10% tj. u jedne kokoši koja je s osteomijelitisom završila pokus u osmom tjednu. U A_{op} skupine se udio osteomijelitisa povećao na 50% te unutar njega se u 8,33% javlja Brodijev apsces. Radi se o subakutnom obliku osteomijelitisa koji se sastoji od neaktivne stafilokokne infekcije kosti, najčešće na metafizi dugih kostiju. Karakteriziran je nekrotičnom šupljinom okruženom gustim granulacijskim tkivom (ANONIMUS, 2009.) Skupina C_{op} bilježi raslojavanje lošeg cijeljenja pa 20% pokazuje tvorbu lažnog zgloba na račun osteomijelitisa, dok osteomijelitis pada na razinu 10%. U narednom tjednu osteomijelitis prelazi u cijeljenje kalusom, pa ga u C_{op} skupini do kraja pokusa više nema, a pseudoartroza se do kraja pokusa razvija u iste dvije kokoši (20 %).

Izostanak cijeljenja u T_{op} skupini do kraja pokusa ostaje kod iste dvije kokoši (14,29%), s time da u sedmom i osmom tjednu u jedne od njih postupno tvori lažni zglob, kao obrat iz osteomijelitisa, a druga do kraja pokusa očituje znakove osteomijelitisa.

Šestog tjedna u A_{op} skupini se obratom prema usporenom cijeljenju na 41,67% smanjuje udio kokoši s izostankom cijeljenja. Među tim kokošima u 16,67% iz osteomijelitisa nastaje lažni zglob. Osteomijelitis očituje 25% gdje se u 8,33% oblikuje Brodijev apsces. Ova skupina u sedmom i osmom tjednu više nije bilježila slučajeve osteomijelitisa zbog obrata u cijeljenje u dvije kokoši i obrata u lažni zglob u jedne kokoši koji u sedmom tjednu raste na

25%. U osmom tjednu udio pseudoartroze je porastao na 33,33% zbog obrata jedne kokoši iz usporenog cijeljenja u lažni zglob.

Među skupinama nije utvrđena pravilna pojavnost lažnog zgloba na mjestu loma, već samo činjenica da je u skupinama u kojih je zabilježen, nastao uglavnom obratom iz osteomijelitisa u šest kokoši i znak je izostanka cijeljenja, bez obzira što je osteomijelitis reduciran ili iščezao.

S obzirom na relativno nepovoljne uvjete smještaja kokoši u pokusu (žičani kavezi) došlo je do, u više slučajeva, do mehaničkog oštećenja već uspostavljene osteosinteze. Bez obzira na ovu činjenicu različitosti koje smo uočili između kokoši pojedinih skupina neosporno ukazuju na činjenicu da se dodavanjem u krmu tj. peroralnom primjenom određenih pripravaka može djelovati na proces cijeljenja cjevastih kostiju u kokoši, iako, prema doduše malobrojnim istraživanjima, dodatak holocenskih minerala nema utjecaja na kakvoću mesa tovnih pilića (MEDIĆ i sur., 2010.). S obzirom na navedeno u narednom istraživanju trebat će veću pozornost usmjeriti na postupke fiksiranja mjesta loma bilo unutarnjom osteosintezom ili izvanjskom fiksacijom. Zbog navedenog postignuti rezultati značajna su smjernica budućih istraživanja u koja bi trebalo uključiti i druge mineralne pripravke koji ne očituju jedino adsorbtivna svojstva zeolita, već svojim kemijskim sadržajem mogu djelovati na određene metaboličke funkcije organizma. Takvim se naime pokazao pripravak aluvijalnog depozitnog nanosa erodiranih minerala za kojeg je dokazano da primještan u krmnu smjesu tovnih pilića poboljšava njihov proizvodni uspjeh (JANJEČIĆ i sur., 2017.), mijenja mekoću mesa i što je najznačajnije vjeruje se da inducira interferon (ŠOOŠ i sur., 2015., FILIPIĆ i sur., 2015., MAZIJA i sur., 2019.)

Tijekom pokusa uginule su tri kokoši. U T_{op} skupini uginule su dvije, jedna zbog opstrukcije jajovoda, a druga zbog rupture jetre nastale kao posljedica nekroze.

6. ZAKLJUČCI

Istraživanje utjecaja mineralnog pripravka montmorilonita te oligonukleotidskog probiotika na tijek cijeljenja loma lakatne kosti u kokoši omogućuje ove zaključke:

1. Dodatak u krmnu smjesu kokoši nesilica hibrida lakih pasmina mineralnog pripravka montmorilonita te oligonukleotidskog probiotika utječe na tijek cijeljenja loma kosti.

2. Kokoš se pokazala kao izvrstan primjer pokusne životinje iako je anatomske i fiziološke razlike od uobičajenih pokusnih sisavaca. Razlog tome je prvenstveno njena jednostavna dostupnost, niska cijena koštanja, te relativno kratki rok u kojem se može određeni postupak istraživanja odvijati. Istodobno u kokoši moguće je primijeniti sve mjere dobrobiti što je teško ostvarivo na sisavcima.

3. Mineralni pripravak montmorilonit jednako kao i oligonukleotidski probiotik povoljno su potaknuli proces cijeljenja što je očitovano razlikama u odnosu na kontrolnu skupinu kojima navedeni pripravci nisu davani.

4. Korišteni pripravci primješani krmnoj smjesi svojom masom (2000ppm oligonukleotida te 2% montmorilonita) nisu mogli značajno utjecati na odnos tvari u krmnim smjesama kojima su dodavani pa se postignuti učinci mogu pripisati isključivo njihovom biološkom djelovanju.

5. Najpovoljniji učinak na cijeljenje kostiju očitovao je oligonukleotidski pripravak Ascogen, i to primjenjen neposredno nakon zahvata osteosinteze, no učinak mu se očitovao tek nakon 13. dana primjene.

6. Kokoši koje su dobivale mineralni pripravak kalcijevog montmorilonita pokazivale su malu učestalost bujanja pokosnice drugog tjedna (37,5%), što je statistički značajno manje od usporedno istraživanih skupina A_{op} i C_{op} . Kod ove skupine velik udio lomova nakon četvrtog i petog tjedna se zadržao na istoj razini do kraja pokusa, uz visok udio aplanacija (35,71 %) i tvorbu kalusa visoke kakvoće. Kokoši ove skupine imale su na kraju pokusa najveću učestalost uspješnog cijeljenja (85,72%)

7. Odgođena primjena oligonukleotidskog pripravka za 13 dana nakon operacije nepovoljno se odrazila na tijek cijeljenja loma, pa je u te skupine kokoši bila najučestalija pojava osteomijelitisa (41,67%) i tvorbe lažnog zgloba (33,33%). Ovaj nalaz upućuje na potrebu neposrednog davanja oligonukleotida nakon izazvanog stresa što ga čini lom kosti, kako bi mogao očitovati svoju biološki pozitivnu ulogu.

8. Primjenjeni mineralni pripravak montmorilonit u krmnu smjesu kokoši nesilica nije značajno utjecao na tijek cijeljenja kostiju, što se očitovalo kakvoćom nastalog kalusa bez

obzira na činjenicu da je tih cijeljenja bilo relativno značajno u odnosu na ostale skupine. Nalaz se može pripisati dodanoj količini montmorilonita koja očito nije bila dovoljna da u punoj mjeri povoljno djeluje na tijek cijeljenja kosti.

9. Konačno valja ustvrditi da su oba istraživana pripravka povoljno utjecala na tijek cijeljenja loma lakatne kosti u kokoši nesilica, ukoliko se primjene u krmi neposredno nakon izvedenog kirurškog zahvat.

10. Istraživanja što ih opisujemo svojim rezultatom upućuju na mogućnost primjene biološki aktivnih tvari hranom (krmom) jednako u pokusnih sisavaca, ali i ljudi.

7. POPIS LITERATURE

- ALIEVI, M. M., J. E. SCHOSSLER, R. A. HIPPLER, A. de SALVES, L. C. de PELLEGRINI, I. M.LANGOHR (2001): Closed reduction and type-II external skeletal fixation for treatment of tibiotarsus fractures in domestic pigeons (*Columba livia*). *Ciencia Rural* 31, 1019 – 1025.
- ANONIMUS (2009): Brodie's abscess. *Mosby's Medical Dictionary*, 9th edition. © 2009, Elsevier.
- BERNARDO, E. S., J. N. P. GARCIA (1997): Avian ulnar fracture fixation using pins or spinal needle with polymethylmethacrylate (PMMA). *Philippine J. Vet. Med.* 34, 19 – 24.
- DONGMEI, Y. , Y. XU, H. ZHANG, T. FU, L. JIANG, Y. BAI (2013.): Effects of low-dose microwave on healing of fractures with titanium alloy internal fixation: An experimental study in a rabbit model. *PLOSone*, 8 (9) e75756
- ERSCHOFF, B. H. (1964): Physiologic effects of dietary clay supplements. NASA Manned Spacecraft Center.
- HELLEWELL A. B., J. R. BELJAN, M. GOLDMAN (1975): Effect of diethylstilbestrol on the rate of osseous repair, bone integrity and plasma calcium in the adult avian. *Calcif. Tissue Res.* 18, 233– 239.
- IVANOVSKI, R. (1990). Bentonit u ishrani životinja. *Stočarstvo* 44, (9-19), 333-337.
- JANJEČIĆ, Z., D. BEDEKOVIĆ, M. BALENOVIĆ, M. ANDRAŠEC, B FILIPIĆ, M KREŠIĆ, H. MAZIJA (2017.): Učinci aluvijalnog depozitnog nanosa erodiranih minerala primjenjenog u tovu pilića. *Peradarski dani, Zbornik radova 2017.* 95-104. Šibenik, Hrvatska.
- KAPANEN, A. (2002): Biocompatibility of orthopaedic implants on bone forming cells. Academic disertation. University of Oulu, Oulu, Finland, 2002.
- KONG, R. (2003): Edible Klay.
- KÖPPEL, P. (2003): Ascogen, Also marketed as Optimûn by DSS Global, Inc., Biogenic performance enhancer for poultry. Chemoforma, LTD Switzerland.
- KOZARIĆ, Z. (1997): Koštano tkivo. U: *Veterinarska histologija* (Kozarić, Z., urednik), 1. izdanje, Naklada Karolina, Zagreb, 87 – 98.

- LESSLER, M. A., D. RAY (1979): Influence of dietary lead and healing avian bone fractures. Federation Proceedings 38, II, 1047.
- LIDOR, C., S. DEKEL, S. EDELSTEIN (1987): The metabolism of vitamin D₃ during fracture healing in chicken. Endocrinology 120, 389 – 393.
- MAZIJA, H., Z. JANJEČIĆ., H. MEDIĆ, D. BEDEKOVIĆ, M. BALENOVIĆ, M. ANDRAŠEC, B. FILIPIČ (2019.): Učinak dodatka aluvijalnog depozitnog holocenskog minerala (ADNEM) u krmi tovnih pilića farmskog uzgoja na tvorbu kolagena u njihovu mišićju. Zbornik radova Peradarski dani 2019., Poreč, Hrvatska, 8.- 11.05. 2019. Pp 73-82.
- MEDIĆ, H., S. VIDAČEK, N. MARUŠIĆ, A. JURIĆ, T. PETRAK, H. MAZIJA (2010): Multicomponent holocene mineral compound given in feed does not influence quality of chicken meat. 12th European poult. conf., Tours Francuska 23.-27.08. 2010.
- MEIJ, B. P., H. A. W. HAZEWINDEL, I. WESTRHIF (1996): Treatment of fractures and angular limb deformities of the tibiotarsus in birds by type II external skeletal fixation. J. Avian Med. Surg. 10, 153 – 162.
- MORRIS, B. J. (1951) : The chemical analysis of foods and food products. 2nd ed., D. van Nostrad company, Inc. Toronto, New York, London. pp 1 – 902.
- OROSZ, S. E. (2002): Clinical considerations of the thoracic limb. Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract. 5, 31 – 48.
- REGLAND, W. L., H.M. LENEAU, H. MAZIJA (1995.): Performance of horses fed Bioracing R. Krmiva 37, 313-315.
- SUCHY, P. , N. MAS, F. VITULA, E. STRAKOVA, V. ŠERMAN, L. STEINHAUSER, V. VEČEREK (2009.): Razlike u hranidbenom sastavu mesa šest vrsta pernate divljači. Krmiva, 63-74.
- ŠOOŠ, E., B. FILIPIČ, S. MIKO, H. MAZIJA (2015.): Farmaceutski pripravak za pojačanje antiproliferativne i proapoptotske humanih interferona holocenskim mineralima. Hrvatski glasnik intelektualnog vlasništva 5, konsenzualni patent PK20130650
- TRISI, P., M. BERNARDINI, A. FALCO, M.P. VULPIANI, L. MASCIOTRA (2014.): Effect of 50 to 60 °C heating on osseointegration of dental implants in dense bone: an in vivo histological study. Implant. Dent., 23 (5), 516-21
- WEHRLE, E., A. LIEDERT, A. HEILMANN, T. WEHNER, R. BINDL, L. FISCHER, M. HAFFNER-LUNTZER, F. JAKOB, T. SCHINKE, M. AMLING, A. IGNATIUS (2015.): The impact of low-magnitude high-frequency vibration on fracture healing

is profoundly influenced by the oestrogen status in mice. *Dis. Model Mech.*, 8(1): 93-104.

WHITEHEAD, J. A. (2003): Effect of Ascogen on intestinal morphology and performance in broiler chickens. The University of Nottingham, University Park, Nottingham, UK.

WILSON, J. H., P. L. RUSZLER (1998): Long term effect of boron on layer bone strength and production parameters. *Br. Poult. Sci.* 39, 11 – 15.

YILDIRIM, ONDER & TURKER, ALI & ŞENEL, BILGIN. (2009): Effects of natural zeolite (clinoptilolite) levels in fish diet on water quality, growth performance and nutrient utilization of Tilapia (*Tilapia zillii*) FRY. *Fresenius Environmental Bulletin*. 18. 1567-1571.

ZHONGHUA, Y. F. Y. X. Z. Z., S. BAO, L. ZHAO, Y. LIU, T. CONG, Z. CHENG, Z. LI (2002): The effect of metal copper on fracture healing in chicken. *Chin. J Prev. Med.* 36, 538 – 42.

ZOBUNDŽIJA, M., V. GJURČEVIĆ-KANTURA, D. MIHELIĆ (1996): Kratki pregled anatomije domaće peradi, (Skripta), Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zagreb. 2 – 15.

8. SAŽETAK

UČINAK KALCIJ MONTMORILONITA TE ASCOGEN[®]-a PRIMIJENJENIH U KRMI NA TIJEK CIJELJENJA LAKATNE KOSTI U KOKOŠI

Jurica Horvat

Klinika za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju

Istražen je učinak mineralnog pripravka kalcij montmorilonita i oligonukleotidskog probiotika Ascogena[®] na tijek cijeljenja umjetno izazvanog loma lakatne kosti. Istraživanja su provedena na 55 odraslih izlučenih kokoši nesilica lakih hibrida. Kalcij montmorilonit umiješan je osnovnoj krmnoj smjesi u koncentraciji 2%, a oligonukleotidski probiotik u količini 2000 ppm. Ulomci kostiju spojeni su izvanjskim fiksatorom tipa I. Tijek cijeljenja lakatne kosti kokoši tijekom osam tjedana, ocjenjivan je različitim parametrima, istodobno uz opće zdravlje kokoši i promjenu tjelesne mase. Tijek cijeljenja kosti sniman je i rentgenološko snimanje provođeno je jednom tjedno, a histološka i kemijska analiza koštanog kalusa određena nakon žrtvovanja kokoši. Rentgenološki uočljive promjene na ulomcima uočene su u drugom tjednu u svih pokusnih skupina, a jasni znakovi cijeljenja u trećem tjednu nakon kirurškog zahvata.

Najboljim, s obzirom na tijek cijeljenja prijeloma kosti, pokazao se je oligonukleotidski probiotik Ascogen[®], dodavan u krmi već od prvog dana nakon operacije, jer je proces optimalnog cijeljenja uočen već od četvrtog tjedna. Uspješnost cijeljenja do kraja pokusa iznosila je 90%, istodobno uz najveći prirast tjelesne mase i najmanji udio izostanka cijeljenja.

Povoljni je učinak i kalcij montmorilonita u kokoši, što se očituje također u četvrtom tjednu, a na kraju pokusa, nakon osam tjedana od kirurškog zahvata iznosi 85,71%. Mali izostanak cijeljenja javlja se uz istodobno manju prosječnu tjelesnu masu, također i u usporedbi s preostalim skupinama.

Kokoši kojima je dodavan Ascogen[®] počevši od 13. dana nakon kirurškog zahvata, nisu očitovale cijeljenje u svih niti nakon osam tjedana, već je u njih utvrđena visoka pojavnost osteomijelitisa i tvorbe lažnog zgloba.

Kao krajnji najpovoljniji ishod cijeljenja, ostvarenog u najvećem postotku dolazi kod kokoši hranjenih dodatkom Ascogen[®]-a, zatim kontrolne skupine, te u kokoši hranjenih dodatkom kalcij montmorilonita. Unatoč utvrđenom smanjenju tjelesne mase, u tih kokoši dolazi do aplanacija kalusa. Kalusu kokoši pokusnih skupina kojima je dodan bilo kalcij montmorilonit ili od prvog dana u odnosu na kontrolnu skupinu i skupinu kokoši hranjenih

Ascogen[®]-om sadržavao je puno više kalcija i fosfora u odnosu na skupinu kokoši koje su jele Ascogen[®] od 13. dana.

Provedena istraživanja upućuju na mogućnost utjecanja na proces cijeljenja loma dugih cjevastih kosti kod kokoši primjenom određenih pripravaka peroralnim putem, tj. njihovom primjesom u hrani. Kokoši su se pokazale idealnim pokusnim subjektom jer su jednostavno dostupne, male cijene koštanja, brzog tijeka cijeljenja kosti, a i jednostavno se s njima rukuje, poglavito pri rentgenološkim pretragama.

Ključne riječi: kokoši, kalcij montmorilonit, Ascogen, osteosinteza

9. SUMMARY

THE EFFECT OF CALCIUM MONTMORILONITE AND ASCOGEN[®] APPLIED IN FEED ON ULNAR FRACTURE HEALING IN IN-FED HENS

Jurica Horvat

Clinic of surgery, orthopaedics and ophthalmology

The effect of mineral preparation calcium montmorillonite and oligonucleotidic probiotic Ascogen[®] on healing of artificially made ulnar fracture was explored. The survey was made on 55 laying hens. Calcium montmorillonite was added to the basal diet in concentration of 2%, and oligonucleotidic probiotic in concentration of 2000ppm. Bone fragments were connected with external fixator type I. Healing of ulnar fracture during eight weeks was monitored and evaluated in different parameters, as well as hens general health and body weight. Bone healing process was radiographically examined once per week, and histological and chemical analysis was made after the hens were sacrificed. Radiographically noticeable changes on fractures were seen after the second week of the survey in all test groups, and clear signs of healing in third week after the surgical treatment.

Hens fed with Ascogen supplemented from the first day of the experiment showed the best results, which means that hens fed with Ascogen had 90% of the fractures healed at the end of the experiment. Optimal healing started in the fourth week, and also these hens showed the maximum body weight gain, as well as the lowest malunion ratio in comparison to other experimental groups.

Hens fed with calcium montmorillonite had a high ratio of fracture healing from the fourth week and at the end of the experiment 85,71% of the fractures were healed. Also they had low malunion ratio, but the average body weight decreased by the end of the experiment.

Fracture healing hasn't occurred in hens fed with Ascogen following the 13th day after surgery. This experimental group showed high rate of osteomyelitis and pseudoarthrosis.

As the final most optimal outcome in bone healing, achieved in the greatest percentage, had hens fed with Ascogen, and after that control groups and hens fed with calcium montmorillonite. Despite the body weight loss, these hens had applanated calus. Calus in tested groups who had been given calcium montmorillonite from the first day in comparison to control group and group fed with Ascogen contained more calcium and phosphorus than the group which was fed with Ascogen from the 13th day.

This study showed that certain supplements can affect avian long bone fracture healing if they are in-feed included. Laying hens were served as an experimental model

because of availability, low price, fast bone healing process and simple handling, especially during radiography.

Key words: hen, calcium montmorillonite, Ascogen, osteosynthesis

10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 19. travnja 1993. godine u Zaboku. Pohađao sam „Osnovnu školu Đurmanec“ u Đurmancu. Srednjoškolsko obrazovanje nastavio sam u općoj gimnaziji „Srednje škole Krapina“, gdje maturiram 2012. godine. Iste godine upisao sam studij na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, gdje sam 2018. godine postao apsolvant. Od 2015. godine aktivni sam član Studentskog zbora Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, a od g. 2016. i njegov predsjednik. Od 2017. član sam Predsjedništva Studentskog zbora Sveučilišta u Zagrebu, kao predstavnik studenata biomedicinskog područja. Od g. 2018. član sam Senata Sveučilišta u Zagrebu i Vijeća biomedicinskog područja Sveučilišta u Zagrebu. Također sam, od 2015. godine, član fakultetskog vijeća Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Pored aktivnosti u Studentskom zboru sudjelovao sam u radu raznih udruga i odbora, pa sam tako jedan od osnivača Udruge studenata veterinarske medicine, čiji sam član predsjedništva. Također sam član SportVEFa i nastupao sam na sveučilišnim natjecanjima predstavljajući fakultet u futsalu, odbojci i košarci. Od 2016. predsjednik sam Domskeg odbora SD „Ante Starčević“, gdje predstavljam stanare doma. Od 2017. član sam Nacionalnog povjerenstva za kontrolu prehrane studenata. Od projekata u kojima sam sudjelovao naglasio bih: „Humanijada 2016“, „Šarijada“, „Dan studenata na Veterinarskom fakultetu“, „68th IVSA Congress“, „Kviz općeg znanja studenata biomedicinskog područja“ i još mnogi drugi.