



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Живана С. Словић

СУДСКОМЕДИЦИНСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ПОВРЕДА И
МЕХАНИЗМИ ПОВРЕЂИВАЊА СМРТНО СТРАДАЛИХ
УЧЕСНИКА У САОБРАЋАЈНИМ НЕЗГОДАМА

Докторска дисертација

Ментор: др сци. мед. Милош С. Тодоровић, доцент

Крагујевац, 2019.

ИНДЕТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>I Аутор</i>	
Име и презиме:	Живана С. Словић
Датум и место рођења:	25.10.1982.год. Крагујевац, Србија
Садашње запослење:	Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, катедра за Анатомију и судску медицину
<i>II Докторска дисертација</i>	
Наслов:	Судскомедицинске карактеристике повреда и механизми повређивања смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама
Број страница:	118
Број слика:	40 табела и 30 графикана
Број библиографских података:	95
Установа и место где је рад израђен:	Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
Научна област (УДК):	Медицина
Ментор:	др сци. мед. Милош С. Тодоровић, доцент
<i>III Оцена и одбрана</i>	
Датум пријаве теме:	17.01.2017.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације	IV-03-689/21 од 05.07.2017.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата:	
1. Проф. др Снежана Јанчић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, председник;	
2. Проф. др Бранко Ристић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан;	
3. Проф. др Ђорђе Алемпијевић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Судска медицина.	
Комисија за оцену и одбрану докторске/уметничке дисертације:	
1. Проф. др Слободан Милисављевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, председник;	
2. Проф. др Драган Јечменица, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Судска медицина, члан;	
3. Проф. др Бранко Ристић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан.	
Датум одбране дисертације:	

САЖЕТАК

Увод: Саобраћајне незгоде представљају велики здравствени проблем на глобалном нивоу чије су најтеже последице повреде, инвалидитети и смртни исход учесника.

Циљ: Анализа вулнерабилности и тренда различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, објаснити механизам настанка повреда и узрока смрти.

Материјал и методе: Урађена је ретроспективна, аутопсијска студија пресека на материјалу Службе за судску медицину и токсикологију КЦ Крагујевац. У студију су укључени сви учесници саобраћајних незгода који су умрли од задобијених повреда или њихових компликација у периоду од 2001. до 2016. године.

Резултати: Студија је обухватала 525 учесника чија је смрт последица саобраћајне незгоде, односно 38% од укупно обдукованих. Мушкараца је било више него жена. Просечна старост учесника је била 52 ± 19 година, при чему су жене биле старије од мушкараца. Највулнерабилнији учесници су били пешаци (42%), возачи моторних возила (19%) и сувозачи (15%). Најчешће повређени део тела био је грудни кош (78%), затим глава (65%), а најмање су биле присутне повреде трбуха (38%). Повреда главе се издваја као најчешћи узрок смрти, било сингуларан или у комбинацији са другим узроцима, као што су искрварење и поремећај дисања. Нешто више од половине учесника (55%) је страдало на лицу места саобраћајне незгоде или на путу до одговарајуће здравствене установе, док је 45% учесника надживљавало повреде одређени временски период. Пешаци и бициклисти чешће надживљавају повреде, а возачи чешће страдају на лицу места, што је статистички значајно. Учесници саобраћајних незгода умрли на лицу места имају 12 пута већи ризик за предвајање можданог стабла, око 6 пута већи ризик за деструкцију костију лобање или разорење мозга и око 3 пута већи ризик за повреду вратне кичме. Код учесника умрлих на лицу места више од 8 пута је већи ризик за настанак руптуре аорте, а око 5 пута већи за развој пнеумоторакса и хемоторакса. Око 8 пута је већи ризик за настанак расцепа слезине и око 3 пута већи ризик за присуство расцепа или разорења јетре. Позитивна алкохолемија је доказана код 33% тестираних смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, а средња вредност алкохолемије је била $1,4 \pm 0,9\%$. Алкохолисаних мушкараца је било више него жена, са значајно већом средњом вредношћу алкохолемије. Сваки трећи возач путничког моторног возила или возач мотоцикла био је у алкохолисаној стању.

Закључак: Најзаступљенији смртно страдали учесници саобраћајних незгода су пешаци, мушког пола, просечне старости око 60 година са повредама грудног коша од којих након повређивања умиру на лицу места.

Кључне речи: саобраћајна незгода, судско-медицинска обдукција, пешаци, повреде грудног коша, алкохол.

APSTRACT

Introduction: Road traffic accidents represent a great health problem on the global scale with the hardest consequences being injuries, invalidity and deathly outcomes of the subjects.

Aim: The aim of this study was to analyze the vulnerability and the trends in the fatalities of road traffic accidents subjects, and to explain the mechanisms of injuries' occurrences and causes of death.

Materials and methods: The retrospective autopsy cross-sectional study was performed on the materials from the Clinical Centre of Kragujevac, Department of Forensic Medicine and Toxicology. The study included all of the participants in road traffic accidents who died from the sustained injuries or due to their complications during the period from 2001 to 2016.

Results: The study included 525 subjects who died due to the consequences of traffic accidents, i.e. 38 % of the total number of the autopsy cases. There were more men than women. The average age of the subjects was 52 ± 19 years, with women being older than men. The most vulnerable subjects were pedestrians (42%), motor vehicle drivers (19%) and front-seat passengers (15%). The chest injuries were the most frequent (78%), then the head injuries (65%) and finally abdominal injuries (38%). The head injury was the most frequent cause of death, on its own or in a combination with the other causes, such as the exsanguination or the breathing disorders. More than half of the subjects (55 %) died at the scene of the accident or on their way to the hospital, while 45 % of them outlived the injuries for a certain period of time. The pedestrians and the bicyclists outlived their injuries more frequently, while drivers died more frequently at the scene, which is statistically significant. The road traffic accidents' subjects who died at the scene were at 12 times higher risk of getting split brainstem, around 6 times higher risk for skull bones or brain destruction and around 3 times for cervical spine injury. There was also 8 times greater risk of aortic rupture, and around 5 times for the development of pneumothorax and haemothorax. Furthermore, there was around 8 times higher risk of the spleen rupture and around 3 times for the liver rupture or its complete destruction. The positive blood alcohol level was found in 33% of the tested deceased subjects, and the arithmetic value of the blood alcohol level was $1.4 \pm 0.9\%$. Men were more intoxicated than women, with a significantly higher arithmetic value. Every third motor vehicle driver or motorcyclist was intoxicated.

Conclusion: The majority of fatalities in road traffic accidents are male pedestrians, average age being 60, with chest injuries and deathly outcome at the scene.

Key words: road traffic accident, autopsy, pedestrians, chest injuries, alcohol

ЗАХВАЛНИЦА

***Родитељима,
мајци Верици и оцу Светозару,
за свако „издржи“, „не одустај“, „можеш ти“....***

***мојим момцима Милану и Михајлу,
за сву љубав и разумевање у најтежим тренуцима.....***

без вас, све ово не би имало смисла...

Посебну захвалност дугујем ментору, Доц. др Милошу Годоровићу, који ме је увео у свет судске медицине, био уз мене од првог дана, учио и бодрио свих ових година.

Хвала члановима катедре за Судску медицину, Факултета медицински наука Универзитета у Крагујевцу и колективу Службе за Судску медицину и токсикологију КЦ Крагујевац.

Хвала др Станимиру Спасићу, на несебичној подршци током стручног и научног усавршавања.

Хвала Доц. др Срђану Стефановићу за несебичну помоћ и сугестије око статистичке обраде података.

Хвала Проф. др Слободану Милисављевићу под чијим стручним надзором и саветима је урађена докторска дисертација.

Хвала Проф. др Драгану Јечменици што је својом подршком допринео да ова дисертација буде приведена до краја.

Хвала Проф. др Бранку Ристићу на стручним саветима током израде дисертације.

САДРЖАЈ

1. УВОД

1.1. Саобраћајни трауматизам данас.....	7
1.2. Карактеристике повређивања пешака.....	11
1.3. Карактеристике повређивања возача и путника двоточкаша.....	14
1.4. Карактеристике повређивања возача и путника у возилу.....	15
1.5. Карактеристике повређивања тракториста.....	16
1.6. Алкохол као акцидентогени фактор у саобраћајним незгодама.....	17
1.7. Судскомедицинска експертиза саобраћајних незгода.....	19
1.8. Улога специјалисте судске медицине у саобраћајним незгодама.....	23

2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

2.1. Циљеви студије.....	24
2.2. Хипотезе студије.....	25

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. Врста студије.....	26
3.2. Популација која се истражује.....	26
3.3. Узорковање.....	26
3.4. Варијабле које се мере у студији.....	27
3.5. Снага студије и величина узорка.....	30
3.6. Статистичка обрада података.....	30

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Учесталост саобраћајних задеса.....	31
4.2. Карактеристике смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према полу и животном добу.....	32
4.3. Учесталост повређивања у саобраћајним незгодама према месецу у години.....	34
4.4. Учесталост повређивања у саобраћајним незгодама према дану у недељи.....	35
4.5. Учесталост повређивања према врсти учешћа у саобраћајним незгодама.....	37
4.6. Надживљавање повреда смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	40
4.7. Алкохолисаност смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	43
4.8. Узроци смрти страдалих у саобраћајним незгодама.....	46
4.9. Компликације повреда смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	51
4.10. Карактеристике повреда главе смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама.....	54
4.10.1. Преломи костију лобање смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	54
4.10.2. Локализација прелома костију лобање смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	55
4.10.3. Повреде можданог ткива смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	57
4.10.4. Локализација повреда можданог ткива смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	60
4.10.5. Повреде можданог стабла смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	62

4.10.6. Повреде кичменог стуба смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	63
4.10.7. Надживљавање повреда главе смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	64
4.10.8. Повреде главе у саобраћајним незгодама -укупно.....	67
4.11. Карактеристике повреда грудног коша смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама.....	69
4.11.1. Преломи костију грудног коша смртно страдалих учесника саобраћајних незгода	69
4.11.2. Повреде плућа смртно страдалих учесника саобраћајних незгода....	70
4.11.3. Повреде срца смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	72
4.11.4. Повреде аорте смртно страдалих учесника саобраћајних незгода....	74
4.11.5. Присуство пнеумоторакса код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода	77
4.11.6. Присуство хемоторакса код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода	78
4.11.7. Надживљавање повреда грудног коша смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	80
4.11.8. Повреде грудног коша у саобраћајним незгодама -укупно.....	83
4.12. Карактеристике повреда трбуха смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама.....	84
4.12.1. Повреде јетре смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	84
4.12.2. Повреде слезине смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	87
4.12.3. Повреде бубрега, мокраћне бешике и црева смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	88
4.12.4. Надживљавање повреда трбуха смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.....	92
4.12.5. Повреде трбуха у саобраћајним незгодама -укупно.....	93
5. ДИСКУСИЈА	
5.1. Демографски подаци.....	95
5.2. Алкохол као акцидентогени фактор смртно страдалих у саобраћајним незгодама.....	98
5.3. Узрок смрти учесника саобраћајних незгода.....	99
5.4. Повреде главе смртно страдалих у саобраћајним незгодама.....	100
5.5. Повреде грудног коша смртно страдалих у саобраћајним незгодама.....	103
5.6. Повреде трбуха смртно страдалих у саобраћајним незгодама.....	105
6. ЗАКЉУЧЦИ	108
7. ЛИТЕРАТУРА	111

1. УВОД

1.1. Саобраћајни трауматизам данас

Развој цивилизације и убрзан начин живота прати и развој саобраћаја, који са собом носи како позитивне тако и негативне аспекте. Најважније негативне последице развоја саобраћаја у ширем смислу су загађење животне средине, а у ужем повреде учесника у саобраћајним незгодама. Развој саобраћајне инфраструктуре, развој техничких карактеристика возила и пораст броја учесника у саобраћају довео је до повећаног броја саобраћајних незгода, са све већим бројем повређених или смртно страдалих учесника. Различите врсте саобраћаја подразумевају различите техничке карактеристике. Повреде које настају у различитим саобраћајним незгодама имају специфичне карактеристике и у зависности од врсте саобраћаја разликујемо неколико врста саобраћајног трауматизма: копнени (друмски и железнички), водени и ваздушни. Друмски саобраћај је најразвијенији и најмасовнији и саобраћајне незгоде у овом виду саобраћаја су најчешће.

На глобалном нивоу, саобраћајни трауматизам је тренутно на деветом месту свих узрока смрти, али има тенденцију раста, па се процењује да би до 2030. године постао пети водећи узрок смрти у свету са 2,4 милиона смртно страдалих људи годишње. У саобраћајним незгодама сваке године на путевима страда око 1,25 милиона људи, што чини преко 3000 смртних случајева дневно¹.

Према актуелном Закону о безбедности саобраћаја на путевима Републике Србије, саобраћајна незгода је незгода која се догодила на путу или је започета на путу, у којој је учествовало најмање једно возило у покрету и у којој је најмање једно лице погинуло или повређено или је настала материјална штета².

Посматрано са судскомедицинског аспекта задес (accidens) је ненамерно или случајно насилно оштећење сопственог или туђег здравља, односно уништење сопственог

или туђег живота³. Суштина појма задеса су ненамерност и насилност. Ненамерност одваја задес од убиства где постоји намера за уништењем туђег живота и самоубиства где постоји намера за уништењем сопственог живота. Насилност одваја задес од природног уништења живота. Елементи сваког задеса су: задесилац, задешење и задешеник³. Задесилац је ненамерни извршилац задеса, који је најчешће непосредно или посредно човек. Задешење представља сам чин задеса. Задешеник је жртва задеса која је најчешће човек.

У складу са тим, саобраћајна незгода (*accident circulatory*) је задесна појава која настаје случајно, под утицајем једног или више акцидентогених чинилаца. Акцидентогени чиниоци потпомажу настанак задеса и присутни су у свим елементима задеса: у задесиоцу, задешењу или у задешенику^{3,4}. Најважнији акцидентогени фактори који потичу од задешења су: временске прилике, врста саобраћајнице, дан у недељи, годишње доба и слично. Најважнији акцидентогени фактори задешеника или задесиоца потичу од психичких особина и соматских својстава и могу бити физиолошки или морбозни. Акцидентогене психофизиолошке особине могу бити: интелектуалне (неразумљивост, незрелост мале деце, умна ограниченост, неукост и слично), етичке (безобзирност, дрскост, нестрпљивост и слично) и емоционалне (неприсебност, ужурбаност, расејаност, забринутост и слично), док у психопатолошке спада алкохолисаност особа и дејство психоактивних супстанци. Акцидентогена соматофизиолошка својства су: мушки пол, трећа деценија живота, трудноћа и слично, док се у соматопатолошка својства убрајају разна обољења. Дејством више акцидентогених чинилаца из било ког елемента задеса, настаје задес.

Акцидентогени чиниоци који доводе до саобраћајних задеса су: човек, возило, пут и средина^{4,6}. Амерички научник William Haddon је покушао да систематизује наведене чиниоце, нагласивши да су они од значаја пре саобраћајне незгоде, у току, али и након саобраћајне незгоде^{7,8}. Пре настанка саобраћајних незгода важни су: обука возача, техничка исправност возила, опрема и поузданост возила, квалитет и одржавање пута као и временски услови, доба дана и слично. У току саобраћајне незгоде важни чиниоци су: обука и психофизичке способности учесника, опремљеност возила, техничка исправност возила, конструкција и маса возила, уређеност околине пута, баријере и слично. Након

саобраћајних незгода важни су: обука учесника у пружању прве помоћи, заштита од пожара, организовање преусмерења саобраћаја и постављање привремене сигнализације, брзо збрињавање и транспорт повређених, квалитет увиђаја и слично.

У настанку саобраћајних задеса најважнија и најзначајнија је улога човека, а студије показују да је људски фактор узрок саобраћајних незгода у највећем броју случајева⁶. Човек на различите начине учествује у саобраћају, као пешак, возач (путничких моторних возила, бицикла, мотоцикла, електричних тротинета, аутобуса, камиона, пољопривредних машина...) или као путник у возилу. Најважнији акцидентогени чиниоци који доприносе настанку саобраћајних задеса од стране човека су: алкохолисаност^{6,9}, употреба недозвољених психоактивних супстанци¹⁰, неискуство¹¹, непоштовање саобраћајних прописа^{12,13} (најчешће прекорачење брзине), разна физиолошка и патолошка стања и др. Возило доприноси настанку саобраћајних задеса најчешће у случајевима техничке неисправности који могу бити од стране кочионог система, пнеуматика, управљачког система, светлосне сигнализације и слично, при чему је возило узрок саобраћајних задеса у 8-10% случајева⁶. Пут, такође има утицаја на настанак саобраћајних задеса у ситуацијама када постоји оштећење коловоза, неочишћен коловоз (одрони, блато, снег, лед...), осветљење пута, лоша сигнализација, непостојање или оштећена заштитна ограда, неадекватно регулисана сигнализација на раскрсницама путева и др⁶. Средина може бити акцидентогени фактор у ситуацијама наглих промена атмосферских прилика као што су киша, снег, суснежица, магла и слично¹⁴⁻¹⁷. Пут и средина су од значаја за настанак саобраћајних незгода у 28-35% случајева⁶.

Важно је напоменути да не треба проглашавати сваку саобраћајну незгоду задесом, јер у појединим случајевима могу бити садржани елементи намере чиме се стичу обележја самоубиства или убиства^{18,19}.

Повреде у саобраћајним незгодама имају одређене специфичности у зависности од врсте саобраћаја (друмски, железнички, водени или ваздушни) и од тога у ком својству је био повређени учесник (пешак, возач, путник, бициклиста итд.). Саобраћајна незгода, односно предаја енергије између два тела која су у контакту, се дешава у јако кратком временском периоду од свега неколико делова секунди. На тело учесника у саобраћајним незгодама делују силе коју тела имају у датом тренутку. Тело у оваквим ситуацијама тежи

да задржи првобитни положај и брзину, али због деловања спољашних сила у виду акцелерације или децелерације, долази до повређивања које може бити веће или мање^{5,20-22}.

Повреде у савременим условима друског саобраћаја се одликују политрауматизмом (повређивање више органа или система органа), полиморфизмом (појава различитих механичких повреда-озледа и рана; термичких и асфиктичних повреда), мултиплицитетом (бројност спољашњих и унутрашњих повреда), полифазичношћу и диспропорцијом спољашњег и унутрашњег налаза^{4,23}.

У механизму настанка повреда у друском саобраћају учествује мноштво различитих фактора: брзина кретања возила, величина, тј врста возила, положај тела у моменту повреде, присуство амортизујућег средства, али и особености организма и други фактори. Све ово утиче на велику разноликост повреда у друском саобраћају. У оквиру друског саобраћаја разликују се повреде пешака, повреде учесника у возилу (возача, сувозача или путника), повреде двоточкаша (возачи или сувозачи на бициклу, мотоциклу, електричном тротинету и слично), повреде у пољопривредним машинама (тракторисити) и друге.

Повреде у железничком саобраћају могу настати прегажењем точковима воза, притиском између одбојника вагона, падом из воза у покрету, ударом у тело деловима воза у покрету и слично^{4,23}. Све повреде могу бити типичне и атипичне. Типичне повреде су оне које настају притиском између одбојника вагона и прегажењем тела точковима воза, када настају карактеристичне повреде у виду раскомадина, разорина, отисака точкова, трагова брисања и запрљаности на гардероби и телу покојника. Атипичне повреде у железничком саобраћају могу настати ударом воза у тело, одбацивањем и ударом при паду, али и унутар воза у току незгоде; при чему су некарактеристичне, јер могу настати и у разним другим ситуацијама.

Повреде у ваздушном саобраћају се према механизму настанка могу поделити у три групе^{23,24}. Прву групу повреда чине оне повреде које настају од делова авиона који је приземљен и немају карактеристике авио трауме (ако се тело нађе у близини отвора мотора и слично). Друга група повреда настаје у авиону након узлетања, када може доћи

до пожара, експлозије, дехерметизације авиона или судара авиона са другим авионом. Трећа група повреда настаје услед пада авиона на земљу или експлозије у ваздуху. Повреде које настају при паду авиона су веома разноврсне, а зависе од врсте авиона, брзине, висине, места пада итд.

Повреде у воднотранспортном саобраћају могу бити сличне повредама у другим врстама саобраћаја, међутим ове повреде имају и неке особености²³. Карактеристичне повреде настају дејством подводних крила и пропелера у виду појединачних или бројних рана које су сличне секотинама. У случајевима потапања пловила утопљења путника су честа.

1.2. Карактеристике повређивања пешака

Пешаци су највулнерабилнији учесници у саобраћају, за које не постоје посебна средства заштите као за остале учеснике. Велики проблем представља ризично и неодговорно понашање пешака у смислу прелажења или претрчавања улице на местима која нису предвђена за то (пешачки прелаз)²⁵. Повређивање пешака моторним возилом зависи од врсте моторног возила (путничко или сандучасто моторно возило)²²⁻²⁴, али и од начина налета на пешака, при чему се разликују три основне врсте судара: чеони судар, бочно окрзнуће и прегажење пешака. Од врсте возила зависи облик чеоног дела каросерије, тј. висина предњачећег дела возила, којим се остварује контакт са пешаком. У путничким возилима чеони део којим се остварује контакт, је ниско положен у односу на висину тачке тежишта пешака, па ће и при врло малим налетним брзинама возила доћи до набацивања тела пешака на предњи део возила. Сандучаста возила имају скоро вертикалан предњи део, којим се остварује контакт са великом површином тела пешака, тј. изнад тачке тежишта тела, па нема набацивања пешака на возило, већ његовог одбацивања пут напред²⁶. Судар пешака и моторног возила одвија се у неколико фаза, при чему се разликује више механизма повређивања који настају контактом: потколеница пешака и

предњег дела аутомобила (браник), главе и ветробранског стакла, грудног коша и поклопца мотора (хауба) или грудног коша и ветробранског стакла²⁷.

У случају чеоног судара путничког моторног возила и пешака, који је и најчешћи, разликује се неколико фаза. У првој фази настају повреде у пределу доњих екстремитета, на месту контакта са најистуренијим делом моторног возила и називамо их примарним контактом^{4,21,23}. Тада долази до повреда меких ткива у виду огуљотина, крвних подлива, нагњечина и др. али и до прелома костију потколеница и појаве одлубљивања коже и поткожног ткива од опница мишића (*décollement traumatique*)^{4,22-24}. Пошто је у првој фази остварен контакт између возила и тела пешака испод средине тежишта тела (потколенице), у другој фази долази до набацивања на возило најпре на поклопац мотора, затим на ветробранско стакло, а може доћи и до контакта са кровом возила у зависности од брзине кретања моторног возила²⁸. У другој фази долази до повреда грудног коша, главе и кичменог стуба у виду прелома костију и озледа меких ткива. У овој фази на телу настају најопсежније и најтеже повреде, јер у кратком временском периоду на тело делује велика механичка енергија. Такође, у овој фази долази до индиректних повреда тј до хиперекстензионих повреда, јер долази до прекомерног истезања тела, које је праћено преломима кичменог стуба, расцепима аорте и слично^{4,5}. У трећој фази тело пешака бива одбачено од возила, пада на подлогу и удара најистуренијим деловима тела. Након удара о подлогу тело може наставити да клизи по подлози, када настају огуљотине и нагњечине коже карактеристичног цртастог изгледа или се котрља, преврће при чему нема правилности у настанку повреда. У овој фази тело пешака губи кинетичку енергију добијену у судару са возилом. Може се десити да након свих описаних фаза уследи и прегажење пешака од истог возила или више њих^{21-24,26}. У тим ситуацијама могу настати једине специфичне повреде у саобраћају у виду огуљотина, крвних подлива или нагњечина коже које одговарају шарама пнеуматика, а које могу бити присутне и на одећи особе.

У оквиру чеоног судара пешака разликујемо и делимични чеони судар који настаје када се пешак само делимично налази испред возила²⁹. У односу на путању пешака, разликује се улазни чеони судар када се пешак креће према возилу и излазни чеони судар, када се пешак, крећући се испред возила налази већим делом изван габарита возила²⁶. У

наведеним ситуацијама се тачка тежишта тела налази изван габарита возила, па ће након судара пешака са возилом доћи до ротације тела пешака око уздужне осовине.

У случају чеоног судара сандучастог моторног возила (комби, камион, аутобус, цип и слично) и пешака примарни контакт се оставарује скоро целом висином тела, па настају повреде у пределу главе, грудног коша или карлице²³. Повреде које настају у овој фази се карактеришу обимношћу и присутне су на коштаним структурама неколико делова тела. У првој фази је остварен контакт између возила и тела пешака изнад средине тежишта тела, па тело у другој фази бива одбачено у правцу кретања возила и удара о подлогу. У овој фази настају повреде супротне стране теле од оне на којој су настале примарне повреде. Због особености возила у овим ситуацијама нема набацивања тела на возило, али се прегажење пешака може очекивати²³.

Друга врста судара - бочни контакт возила и пешака остварује се када тело пешака контактира са бочном страном возила²⁹. Овај вид контакта може настати када се пешак креће ка возилу, паралелно са возилом или чак и када стоји. Слично као код делимичног чеоног судара, у овим ситуацијама након судара са возилом долази до ротације тела пешака око уздужне осовине, јер се тачка тежишта тела налази изван габарита возила.

Контакт пешака и моторног возила се остварује најчешће предњим делом возила, док се контакт бочним или задњим деловима возила не дешава често.

Трећа врста судара је прегажење које настаје преласком возила преко тела, при чему је битно да најмање један точак возила пређе преко тела пешака^{24,26}. Прегажење може бити једноставно када се тело налази у лежећем положају на путу, због алкохолисаности, онесвешћености или сличног разлога. Када пешак бива оборен или одбачен на коловоз, па затим прегажен од стране истог возила или неког другог возила настаје компликовано прегажење. Након судара путничког возила и пешака, до прегажења може доћи једино ако возило није кочило, док након судара пешака са сандучастим возилом до прегажења може доћи без обзира да ли је вршено кочење или не²⁶.

Отисци шаре аутомобилске гуме (пнеуматика) настају од позитивног и негативног ефекта притиска гуме на кожу. Позитивне ефекте изазивају коцкасте и вијугаве површине гуме које врше директан притисак на кожу тела, док негативне ефекте остварују

удубљења гума, при чему настају карактеристични крвни подливи. Виши делови површине гума (испуцчења) оштећују крвне судове и потискују крв на усецима, тако да настају карактеристични крвни подливи²³.

1.3. Карактеристике повређивања возача и путника двоточкаша

У двоточкаше се убрајају возачи и путници бицикала, мотоцикала, електричних тротинета и слично. Механизми повређивања корисника двоточкаша су слични механизму повређивања пешака уз одређене специфичности. Посебна својства двоточкаша (бицикала, мотора, електричних тротинета) су пре свега њихова нестабилност и релативно слаба заштићеност тела корисника, при чему уз учешће бројних других фактора настају најразличитији облици саобраћајне незгоде⁵. У зависности од међусобног положаја двоточкаша и другог возила у тренутку примарног контакта разликује се неколико варијанти судара: потпуни чеони налет, делимични чеони налет и бочно „окрзнуће“.

При потпуном чеоном налету двоточкаша и моторног возила долази до контакта возила, тако да примарне повреде најчешће изостају; долази до нарушавања равнотеже и до раздвајања тела возача и двоточкаша, који настављају кретање независно једно од другог. Тело возача двоточкаша бива одбачено на возило и тада настају секундарне повреде локализоване на трупу, рукама и глави. Терцијарне повреде настају након одбацивања и пада на подлогу, када најчешће бивају повређени глава и рамени појас. При великим брзинама двоточкаша долази до клизања тела по подлози (асфалт, макадам, земљана површина и слично), док ће при мањим брзинама након раздвајања тела од возила настати само котрљање тела двоточкаша. Одбачено тело може бити прегажено од стране другог моторног возила^{5,26}.

У случају делимичног чеоног налета постоји, такође, више варијанти. Може се остварити само контакт возила и двоточкаша или возила и тела корисника двоточкаша, у зависности од правца кретања возила и положаја у тренутку саобраћајне незгоде.

Бочно „окрзнуће“ настаје при мимоилажењу двоточкаша и возила, при чему настаје контакт само на телу корисника двоточкаша. Након контакта може доћи до губитка равнотеже и одвајања тела од возила.

Карактеристичне повреде за кориснике двоточкаша су угануће или ишчашење палчева услед специфичног положаја шака на управљачу; повреде на унутрашњим странама ногу од педала или делова двоточкаша, у међичном и полном пределу од седишта^{4,5,30}.

1.4. Карактеристике повређивања возача и путника у возилу

Учесник у моторном возилу може бити у својству учесника који управља моторним возилом (возач), путника на предњем седишту (сувозач) или путника на задњем седишту (путник). Повређивање учесника у путничком возилу може настати на више начина: у директном – чеоном судару са другим возилом или препреком; ударом у задњу страну возила, ударом у бочну страну возила, превртањем и испадањем из возила^{20,21}. Смер кретања путника у возилу у току саобраћајне незгоде увек је према смеру најјаче силе. При чеоном судару смер кретања тела путника ће бити према напред, при удару у задњи део возила смер ће бити према назад, док ће при бочном судару смер кретања тела путника бити ка бочној страни²³.

Кинетика кретања тела за возача, сувозача и путника је иста и састоји се из две фазе. У првој фази након судара са другим возилом, тело наставља да се креће ка напред, тежећи да задржи првобитну брзину и положај. Затим долази до наглог заустављања тела и удара у истурене делове унутрашњости аутомобила. Возач удара у волан моторног

возила, сувозач у инструмент таблу, док се испред путника на задњем седишту налази наслон предњег седишта^{28,31-33}. У зависности од препреке на коју наилазе, настају повреде различитих делова тела, које су у овој фази најтеже и најопсежније^{4,5,20}. У другој фази настаје изненадно, нагло и прекомерно забацивање главе (whiplash injury), када због хиперекстензије настају индиректне повреде вратних органа^{23,29}.

У тренутку судара возач се налази у повољнијем положају у односу на остале учеснике унутар возила, јер има ослонац на три тачке у возилу, за разлику од осталих који имају ослонац о само две тачке²⁶. Возач се ослања ногама о под, леђима о наслон седишта, а рукама о волан, за разлику од осталих учесника који немају могућност осањања руку о волан. Сувозач при покушају ослањања руку о инструмент таблу губи ослонац на леђима, тако да и при мањим брзинама долази до кретања његовог тела у правцу деловања најјаче силе.

У ситуацијама удара у задњу страну возила, динамика кретања је супротна у односу на чеони судар. У случајевима бочних судара ситуација је знатно сложенија, јер нема правилности у кретању тела унутар возила, тако да настају најразличитије повреде⁵. Ако дође до превртања возила, повреде које настају код особа из возила су некарактеристичне нарочито у случајевима ако је дошло до деформације унутрашњег простора кабине возила.

Интензитет повреда путника у возилу зависи од брзине возила у тренутку судара, од облика и величине возила, као и од времена заустављања возила.

1.5. Карактеристике повређивања тракториста

Ове повреде су честе у сеоским крајевима, у току пољопривредних радова и у шумарству. Тракторске повреде настају најчешће при превртању трактора услед чега настаје притисак на грудни кош и трбух. Повремено се срећу и прегажења, која остављају карактеристичне шаре пнеуматика на кожи и/или гардероби²³.

1.6. Алкохол као акцидентогени фактор у саобраћајним незгодама

Најчешће коришћена и злоупотребљавана дрога у свету је етил алкохол (алкохол). Акутна злоупотреба алкохола изазива акутно пијанство које је важан акцидентогени фактор у настанку саобраћајних незгода, док хронична злоупотреба алкохола поред наведеног представља и једну од најчешћих болести зависности. Према домаћим и светским статистикама, алкохол има водећу улогу у настанку саобраћајних незгода³⁻⁵. Фармаколошки посматрано, алкохол спада у групу супстанци које имају депресивни ефекат на централни нервни систем. У малим дозама алкохол делује прво на мождану кору, а потом на супкортикалне центре. При већим концентрацијама алкохола ефекат настаје и на ћелијама можданог стабла и кичмене мождине.

Нарочито је важна алкохолисаност возача моторних возила и пешака. Код алкохолисаних учесника оштећене су све функције битне за вожњу, психичке, чулне и моторне, а степен оштећења сразмеран је концентрацији алкохола у крви^{21,23,26}. Ниво алкохола у крви има великог утицаја на тзв. „психичку секунду“, тј. време које протекне од тренутка запажања опасности до тренутка предузимања радњи избегавања (код трезних особа она износи око 0,75 секунди)^{5,23}. Да би реакција возача била адекватна и благовремено спроведена важна је очуваност функције чула (перцепције) и добре координације психомоторног и мускуломоторног апарата. То подразумева: емоционалну стабилност, способност концентрације пажње, опажање опасности, обраду садржаја у мозгу и схватање ситуације, доношење одлуке о реакцији и координисано, спретно и сигурно извођење управљачких функција на моторном возилу²³. Са порастом алкоholeмије постепено расте вредност психичке секунде, јер опада способност извођења свесних и аутоматизованих покрета који морају бити међусобно синхронизовани и адекватни новонасталој саобраћајној ситуацији, па код особе која има алкоholeмију 1% вредност психичке секунде ће бити око 1,5 секунди. Практично посматрано, при брзини од 100 км/час, трезан возач ће у току психичке секунде, при заустављању прећи пут од 21 метра, док ће алкохолисан возач прећи 41,5 метара^{5,23}.

Утицај алкохола на учеснике у саобраћају зависи од његове концентрације у крви, па тако:

-вредност алкохола у крви од 0,3 до 0,5‰ (трезно стање) изазива почетне манифестације када настају поремећаји у менталној сфери, еуфорија, весело расположење, говорљивост. Наведене промене не утичу у великој мери на возачке способности, али је вероватноћа грешке од 2-7 пута већа у односу на возаче који нису конзумирали алкохол^{5,25}.

-вредност алкохола у крви од 0,5 до 1‰ представља припито стање када настаје стимулација нижих делова централног нервног система, због депресивног дејства алкохола на мождану кору. У овој фази прецењују се личне способности, расте самопоуздање, настаје пад концентрације, поремећаји у перцепцији и психомоторици, као и погрешно реаговање. У почетку се јавља оштећење периферног вида, а затим и пад оштрине вида, просторна оријентација је дупло смањена, а адаптација у мраку је смањена за око 30%. Опада праг слушне осетљивости, а лоцирање извора звука је отежано.

-вредност алкохола у крви од 1 до 1,5‰ представља лако пијанство када настаје поремећај сложених рефлексних радњи (синхроно покретање очних јабучица, покрети прстију...), а сви претходни описани симптоми бивају више изражени. Са порастом концентрације алкохола у крви и вероватноћа за настанак грешке возача расте (15 до 30 пута је већа него код возача који не конзумирају алкохол^{5,23,25}).

-вредност алкохола у крви од 1,5 до 2‰ представља средње пијанство које се карактерише поремећајем свести, просторном и временском дезоријентацијом. У овој фази долази до оштећења интегративних и координационих функција, што се манифестује закслелом и неадекватном реакцијом у току вожње. Оштрина вида је смањена још више, као и ширина видног поља, а често су присутне „дупле слике“. Вероватноћа грешке возача са овом концентрацијом алкохола у крви је од 40 до 100 пута већа него код возача који не конзумирају алкохол^{5,23,25}.

-вредност алкохола у крви од 2 до 3‰ представља тешко пијанство. Ова фаза се карактерише настанком вазомоторне, психомоторне и мускуломоторне узетости. Настаје тешко интелектуално оштећење, као и поремећај временско просторне оријентације, вид је тешко оштећен, ход тетурав, а извођење координисаних сврсисходних радњи је скоро немогуће. Особе у овој фази пијанства су неспособне за безбедно учествовање у саобраћају у било ком својству (возач моторног возила, мотоциклиста, бициклиста, пешак

итд.). По неким ауторима вероватноћа грешке возача са овом концентрацијом алкохола у крви је чак и до 130 пута већа него код возача који не конзумирају алкохол^{23,25}.

-вредност алкохола у крви од 3 до 4‰ представља препито стање када је изражена општа слика тровања. Све функције централног нервног система су оштећене до те мере да настаје дезоријентација, губитак контроле сфинктера, поремећај свести и кома.

-вредност алкохола у крви од 4 до 6‰ представља смртно тровање алкохолом. Смртни исход настаје услед депресије центра за дисање и јако израженог едема мозга.

Поменуте вредности концентрације алкохола у крви се односе на највећи број људи, али све особе не реагују једнако на исти ниво алкохола у крви, тј. постоје индивидуалне разлике, које зависе од бројних фактора (структуре личности, толеранције и интолеранције на алкохол, навикнутости, искуства, исхране, тренутног расположења, претходне повреде и обољења мозга, физиолошких и патолошких стања итд). Деца, старије особе са психоорганичним синдромом, епилептичари, али и уморне и исцрпљене особе могу испољити знатно теже симптоме пијанства од здравих особа. Са друге стране, хронични алкохоличари могу бити без битних клиничких манифестација након конзумирања велике количине алкохолних пића.

Студије потврђују да возачи моторних возила млађи од 20 година и старији од 55 година најчешће изазивају саобраћајне незгоде под дејством малих концентарција алкохола, при чему настају значајне и озбиљне повреде²⁵.

1.7. Судскомедицинска експертиза саобраћајних незгода

Судскомедицинска експертиза или судскомедицинско вештачење представља примену медицинског знања и искуства у судској пракси. Обавља се у свим ситуацијама када треба разјаснити медицинске чињенице. Као једно од доказних средстава у судском поступку, судскомедицинско вештачење представља важну карику у правосудном систему.

Судскомедицинско вештачење саобраћајних незгода састоји се од: судскомедицинске обдукције смртно страдалих учесника, прегледа одеће и обуће, проналажења и испитивања биолошких трагова на месту саобраћајних незгода, у возилу и на учесницима, реконструкције догађаја, одређивања алкохолемије учесника, прегледа повређених, анализе медицинске документације и слично^{24,34}.

Судскомедицинским вештачењем треба одговорити на следећа питања:

- да ли су повреде изазване неким транспортним средством или не,
- одредити који је механизам повређивања учесника у саобраћајним незгодама,
- одредити врсту возила које је учествовало у саобраћајним незгодама (у случајевима напуштања места незгоде),
- класификовати (утврђивање врсте) и квалификовати (одређивање тежине) све повреде код учесника саобраћајних незгода,
- одредити порекло смрти и узрок смрти,
- да ли су у случају смрти повреде настале заживотно или постмортално,
- приказати постојање обољења или стања (патолошких и физиолошких) која су могла утицати на настанак саобраћајних незгода,
- одредити алкохолисаност учесника у саобраћајним незгодама или присуство других психоактивних супстанци и њихов утицај на настанак саобраћајне незгоде,
- дефинисати механизам повређивања двоточкаша (да ли је возио или гурао возило и слично),
- приказати утицај коришћења заштитних средстава на настанак повреде,
- одредити место седења особа у возилу и друго.

Један од најважнијих задатака судскомедицинске експертизе смртно страдалих у саобраћајним незгодама је дефинисање узрока смрти, односно утврђивање да ли је узрок смрти у вези са задобијеним повредама. Узрок смрти је телесно оштећење које је проузроковало смрт, а може бити сингуларан-када постоји само један узрок смрти или плуралан-када постоји више узрока смрти^{3-5,24}.

У ситуацијама када смртни исход наступи након надживљавања повреда одређени временски период, важно је правилно дефинисати узрочно последичну везу између повреда и смртог исхода. Наиме, у периоду надживљавања могу настати компликације услед непредвидивих околности у току лечења или неадекватног лечења (тромбоза, масна

и тромбна емболија, запаљење плућа, сепса итд.). Важно је нагласити да се наведене компликације не морају јавити у току лечења, јер оне не представљају последицу која неминовно произилази из карактера повреде. Код појединих смртно страдалих учесника настала компликација може бити непосредан узрок смрти, што је битно објаснити на суду. Саобраћајне незгоде могу настати и услед обољења возача или погоршања неке хроничне болести као што су: инфаркт миокарда, хипогликемија и слично.

Судскомедицинска обдукција која се предузима у свим случајевима смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, подразумева пре свега у спољашњем налазу детаљно описивање свих повреда и промена, при чему треба да се обрати пажња на изглед, правац пружања и распоред повреда (са висином примарних повреда код пешака, прецизном топографском оријентацијом, правцем пружања огуљотина и осталих повреда)^{3,23,28}. Важан је детаљан опис запрљаности одеће и тела (прашином, уљем и слично), опис трагова возила на телу повређеног (љуспице лака, комадићи стакла и слично), као и опис трагова лица места (блато, прашина, земља, каменчићи, влати траве итд.). Преглед обуће и одеће је у случајевима саобраћајног трауматизма битно, јер се на тај начин може сазнати много о динамици и механизму повређивања²⁸. У унутрашњем налазу треба детаљно описати све повреде по регионима. На глави треба детаљно описати преломе костију лобање (врсту, локализацију, дубину утиснућа, величину коштаних одломака и друго), повреде можданица, повреде можданог ткива (врсту, локализацију, величину, дубину и друго). Важно је испитати везе између основице лобање и вратног дела кичмене мождине, због честих хиперфлексорних и хиперекстензорних повреда. Органи средогруђа, пре свега срце, плућа и крвни судови, могу бити повређени појединачно или удружено, што је често праћено изливом крви у грудну дупљу или срчану кесу, присуством ваздуха или ваздушном емболијом и слично. Повреде ребара треба детаљно описати (број, правац пружања прелома, преломне линије и друго), као и повреде кичменог стуба. Повреде трбушних и затрбушних органа (јетре, слезине, бубрега, црева и осталих органа) у виду крвних подлива, нагњечина, руптура и слично се детаљно описују. Код обдукције усмрћених у саобраћајним незгодама значајно је препарисање меког ткива (коже, поткожног ткива и мишића) дуж задње средишњих линија трупа и доњих екстремитета (тзв. „У рез“)^{4,34}. Након препарације меког ткива детаљно се описују све повреде костију и зглобова (висина повреда, тип прелома, расцепи зглобних веза,

присуство коштаних одломака и слично). Додатне процедуре које се примењују непосредно пре или током обдукције усмрћених у саобраћајним незгодама су: проба на постојање пнеумоторакса (када постоји деформација грудног коша, поткожни емфизем или сумња на прелом ребара), проба на ваздушну емболију (уколико постоје отворене повреде главе и врата), специјално препарисање врата и лица (ако постоје повреде меког ткива или преломи костију лица)³.

Значај судскомедицинске обдукције учесника саобраћајних незгода је у томе што даје одговоре на многа важна питања и поставља узрочно последичну везу између повреда и смртног исхода, а у случајевима надживљавања повреда, једино се обдукцијом јасно дефинише да ли је смртни исход настао као последица повреде или као компликација повреде.

Сви трагови на телу смртно страдалог (крв, урин, повраћени садржај, комадиће стакла, металне делове, љуспице лака са возила, уље, блато и слично) се детаљно описују и фотографишу, а затим издвајају и чувају за даљу анализу³⁴. Ако је изводљиво, тело треба фотографисати у стању у ком је затечено, пре скидања одеће, затим након скидања одеће и на крају након прања тела, а пре извођења судскомедицинске обдукције.

У појединим ситуацијама је потребно мешовито вештачење, тј ангажовање, поред специјалисте судске медицине и стручњака из других области, пре свега саобраћаја. У тако компликованим вештачењима често је потребно вршење реконструкције догађаја. Јако је важно упоређивање установљених повреда оштећених са оштећењима на возилу и траговима на лицу места, како би се на прави начин могао реконструисати механизам повређивања и на тај начин помогло органма правосуђа у доношењу правилне и правичне пресуде.

1.8. Улога специјалисте судске медицине у саобраћајним незгодама

Повреде које настају у саобраћајним незгодама (било да су са смртним исходом или не), због својих особености, захтевају детаљну судскомедицинску анализу.

Задатак специјалисте судске медицине је да се изјасни о врсти и тежини појединачних повреда, с обзиром на њихову природу или посебне околности случаја, какво дејство те повреде обично производе, а какво су у конкретном случају произвеле, чиме су повреде нанете и на који начин, што је дефинисано кривичним законом Републике Србије. Ако наступи смртни исход, било на лицу места саобраћајне незгоде или након одређеног периода лечења тј. надживљавања повреда, обавезно је урадити судскомедицинску обдукцију страдалог учесника саобраћајне незгоде. Због свега наведеног, важно је да специјалисте судске медицине буде присутан и на увиђају саобраћајне незгоде, како би имао комплетну слику догађаја.

Задатак специјалисте судске медицине је и да утврди вредност алкохолемије у одређеном тренутку. У постморталној судскомедицинској истрази користи се крв из бутне вене, а затим гасном хроматографијом квантификује вредност алкохолемије. И из других телесних течности као што су урин, течност стакластог тела, цереброспинална течност, жуч и слично се може одредити концентрација алкохола.

У ситуацијама масовних незгода које настају у ваздушном, воденом или железничком саобраћају чешће него у путничком, постоји велики број жртава чија су тела често раскомадана или разорена. Задатак специјалисте судске медицине у оваквим околностима је и да одреди идентификацију жртава, као и припадност одвојених делова тела жртвама.

2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

2.1. Циљеви студије

1. Дефинисати највулнерабилније учеснике у сабраћају према врсти учешћа, полу и старости.
2. Приказати тренд смртно страдалих учесника у саобраћају по годинама (2001.-2016.).
3. Објаснити механизам настанка појединачних повреда и довести их у везу са узроком смрти.
4. Установити везу између конзумирања алкохолних пића и/или психоактивних супстанци и смртог исхода у саобраћајном трауматизму.

2.2. Хипотезе студије

1. Постоји статистички значајна разлика између смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама различитог пола.
2. Постоји статистички значајна разлика између смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама у различитом животном добу.
3. Постоји статистички значајна разлика између смртно страдалих пешака у односу на остале учеснике у саобраћајним незгодама.
4. Постоји статистички значајна разлика у броју смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама у последњих пет година посматраног периода.
5. Употреба алкохолних пића и/или психоактивних супстанци је фактор ризика за настанак саобраћајних незгода.
6. Постоји статистичка значајност између дужине времена надживљавања и настанка компликација код повређених у саобраћајним незгодама.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. Врста студије

Епидемиолошка (опсервациона), аналитичка, аутопсијска, ретроспективна студија пресека.

3.2. Популација која се истражује

Истраживање је реализовано у Клиничком центру Крагујевац, у Служби за судску медицину и токсикологију. У студију су укључени сви учесници саобраћајних незгода који су умрли од задобијених повреда или компликација задобијених повреда, у периоду од 2001. године до 2016. године.

Из студије су искључена деца млађа од 14 година, нижа од 150 цм, јер је механизам њиховог повређивања у саобраћајним незгодама другачији од механизма повређивања одраслих особа.

3.3. Узорковање

Као јединице посматрања узети су сви смртно страдали учесници у саобраћајним незгодама: пешаци, возачи моторних возила, сувозачи (путник на предњем седишту), путници (на задњем седишту), бициклисти, мотоциклисти, сувозачи мотоцикла као и возачи пољопривредних машина (трактора), а који су обдуковани у Служби за судску медицину и токсикологију КЦ Крагујевац у периоду од 2001.-2016. године. Узети су у обзир само случајеви где са са сигурношћу зна о ком је учеснику реч, а на основу анализе полицијских извештаја, наредби за судскомедицинску обдукцију добијених од надлежних судова или тужилаштва или ређе на основу ретроспективно забележених хетероanamнестичких података. Подаци о задобијеним повредама су добијени анализом Обдукционих записника Службе за судску медицину и токсикологију КЦ Крагујевац, а за особе које су одређени временски период надживљвале повреде и из доступне медицинске документације тј. Историја болести и Отпусних листа.

3.4. Варијабле које се мере у студији

Зависна варијабла:

1. Смртни исход због различитих повреда задобијених у саобраћајним незгодама, подељен у две категорије: они који су преминули на лицу места и они који су надживљавали повреде неки временски период.

Независне варијабле:

Ове варијабле су опсервиране увидом у:

- спољашњи и унутрашњи налаз обдукционих записника;
- историје болести и отпусне листе оних који су надживљавали повреде;
- наредбе за судскомедицинску обдукцију од стране тужилаштва или одговарајућих судова;
- полицијске извештаје;
- хетероanamнестичких података.

Укупно је било 27 независних варијабли и то:

1. Висина - опсервирана је као категоријска варијабла (до 170; 171-180; 181-190; више од 191 цм).
2. Ухрањеност - слабо ухрањени, добро ухрањени и прекомерно ухрањени.
3. Врста учешћа у саобраћајном задесу - пешаци, возачи, сувозачи, путници, бициклисти, мотоциклисти, сувозач мотоцикла, возачи трактора.
4. Месец у години када је дошло до незгоде – од јануара до децембра.
5. Дан у недељи када је дошло до незгоде – од понедељка до недеље.

6. Дужина надживљавања повреда – смрт на лицу места саобраћајне незгоде, надживљавање до 6 часова; до 24 часа; до 72 часа; до 7 дана; до 14 дана; до 30 дана и дуже од 30 дана.
7. Коришћење алкохола - припито стање, лако, средње, тешко пијанство, препитост, тровање алкохолом.
8. Коришћење психоактивних супстанци: амфетамин, метамфетамин, екстази, кокаин, марихуана, барбитурати, бензодиазепини, опијати, морфијум и метадон.
9. Присуство компликација повреда - запаљење плућа, сепса, тромбна емболија плућа, масна емболија плућа, крварећи улкус.
10. Узрок смрти – сингуларни или плурални; повреде главе, искрварење, поремећај дисања, компликације и остали.
11. Присуство прелома лобање - једноструки, вишеструки, утиснути, деструкције и остали преломи.
12. Локализација прелома лобање – кров лобање, база, кров и база, „ging“, „hindge“ преломи и остали преломи.
13. Повреде мозданог ткива - нагњечине „coup“, нагњечине „contra coup“, нагњечине „coup и contra coup“, лацерације и разорине и остале повреде мозданог ткива.
14. Повреде мозданог стабла - лацерације, нагњечине, разорине и остале повреде мозданог стабла.
15. Повреде кичменог стуба - вратног, грудног, слабинског, крсног, репног дела.
16. Повреде грудног коша - прелом грудне кости, једнострани или обострани преломи ребара, једноструки или вишеструки.

17. Повреде плућног ткива - нагњечине, расцепи, разорине и остале повреде плућног ткива.
18. Повреде срца - нагњечине, расцепи, разорење, тампонада и остале повреде срца.
19. Повреде аорте - расцепи, повреде овојница.
20. Присуство пнеумоторакса - једнострано или обострано позитиван, негативан.
21. Присуство хемоторакса.
22. Повреде јетре - субкапсуларни хематом, расцеп, разорење и остале повреде јетре.
23. Повреде слезине - субкапсуларни хематом, расцеп, разорење и остале повреде слезине.
24. Повреде бубрега - нагњечење, расцеп, разорење и остале повреде бубрега.
25. Повреде мокраћне бешике – крвни подлив зида, расцеп и остале повреде мокраћне бешике.
26. Повреде црева - повреде петелјке, нагњечине, руптуре и остале повреде црева.
27. Повреде осталих трбушних и затрбушних органа.

Збуњујуће варијабле:

Ове варијабле су опсервиране увидом у налазе обдукционих записника.

1. Пол.
2. Животна доб.

3.5. Снага студије и величина узорка

За израчунавање снаге студије и величине узорка коришћен је кориснички програм G*Power v.3.1.3. Претпостављена величина ефекта је израчуната на основу прелиминарних резултата, а заснована на односу варијабилности у учесталости смртног исхода и других испитиваних параметра (повреда главе, повреда органа грудног коша, повреда органа трбуха, искрварење) изазваног саобраћајним задесом, а потврђеног судскомедицинском обдукцијом од најмање 1,2 (максимално 20% апсолутне разлике у варијабилности праћених параметара/категорија). Користећи hi-kvadrat тест и праг значајности (α)=0,05 за снагу студије (1- β)=0,80 (80%), најмањи број испитаника који је потребан у студији је 463.

3.6. Статистичка обрада података

Прикупљени подаци су унети у компјутерску базу података, а за обраду података је коришћен програм SPSS for Windows, верзија 2.0 (Statistical Package for Social Sciences - Version 2.0 (SPSS Inc. Chicago, IL). Све нумеричке варијабле су тестиране помоћу Kolmogorov-Smirnov и Shapiro-Wilks теста како би се утврдила нормалност расподеле. У зависности од дистрибуције података коришћени су средња вредност \pm стандардна девијација или медијана и интерквartilни ранг (IQR). Значајност разлика по групама је евидентирана hi-kvadrat тестом са Јејтсовом корекцијом, односно Фишеровим тестом стварне вероватноће код мале учесталости појединих категорија. За поређење просечних вредности коришћен је Studentov t-тест или Kruskal-Wallis тест. Подаци су сматрани статистички значајним уколико је $p < 0,05$.

Анализа везе између дихотомне зависне варијабле (тренутни смртни исход или смртни исход након периода надживљавања повреда) и опсервираних независних и збуњујућих варијабли је утврђена бинарном логистичком регресионом анализом, а резултати приказани као однос шансе - Odds ratio (OR) са припадајућим 95% интервалом поверења - confidence interval (95% CI).

Резултати студије су приказани табеларно и графички.

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Учесталост саобраћајних незгода

У Клиничком центру Крагујевац, у Служби за судску медицину и токсикологију, у периоду од 2001. године до 2016. године урађено је укупно 1366 судскомедицинских обдукција. У овом шеснаестогодишњем периоду обдуковано је 525 случајева чија је смрт последица саобраћајне незгоде, што чини 38,4% од укупног броја. Детаљан приказ дат је у табели 1.

Година	Број обдукованих	Страдали у саобраћајним незгодама (%)
2001	72	27 (37,5)
2002	77	30 (39)
2003	84	22 (26,2)
2004	65	27 (41,6)
2005	92	29 (31,5)
2006	75	32 (42,7)
2007	97	35 (36,1)
2008	104	45 (43,3)
2009	130	36 (27,7)
2010	122	46 (37,7)
2011	111	50 (45,1)
2012	105	41 (39,1)
2013	79	33 (41,8)
2014	48	22 (45,8)
2015	44	25 (56,8)
2016	61	25 (41)
укупно	1366	525 (38,4)

Табела 1. Број обдукованих по годинама.

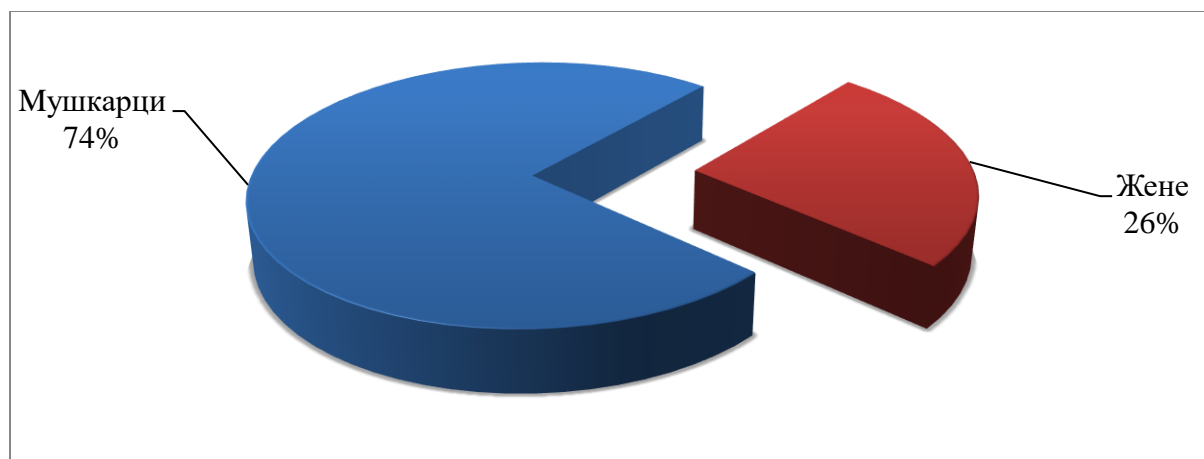
Удео обдукованих након саобраћајне незгоде креће се од 27,7% у 2009.години до 56,8% у 2015.години у односу на број обдукција. Последње четири године тј. у периоду од 2013. године до 2016. године је број обдукованих знатно смањен (табела 2.), са статистичком значајношћу ($\chi^2=26,688$; $df=3$; $p=0,000$).

Временски период	Страдали у саобраћајним незгодама (%)
2001.-2004.	113 (21,5)
2005.-2008.	148 (28,2)
2009.-2012.	170 (32,4)
2013.-2016.	94 (17,9)
Укупно	525 (100)

Табела 2. Број обдукованих груписани по анализираним временским периодима.

4.2. Карактеристике смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према полу и животном добу

У испитиваном узорку од 525 особа чија је смрт последица саобраћајне незгоде, било је 391 (74,5%) мушкараца, док су жене смртно страдале у 134 (25,5%) случаја (графикон 1). Однос мушкарци-жене био је приближно 3:1, а разлика у броју стардалих је статистички значајна ($\chi^2=125,808$; $df=1$; $p=0,000$). Старост учесника у нашем узорку се кретала од 16 до 92 године (просечна старост $52,4\pm 19,4$ година). Просечна старост мушкараца је била $51,3\pm 19,6$ (од 16 до 92 године), док је код жена смртно стардалих у саобраћајним незгодама просечна старост била $55,8\pm 18,5$ година (од 16 до 84 године). Студентовим т тестом је потврђена статистички значајна разлика у старости између учесника различитог пола, при чему су жене смртно страдале у саобраћајним незгодама старије од мушкараца (t тест= $-2,37$; $p=0,019$).



Графикон 1. Расподела броја смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према полу.

Посматрајући расподелу смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према старости и полу, уочава се највећи број смртно страдалих припадника оба пола у старосној групи преко 65 година, што је статистички значајно ($\chi^2=8,735$; $df=3$; $p=0,033$). Детаљан приказ резултата дат је у табели 3.

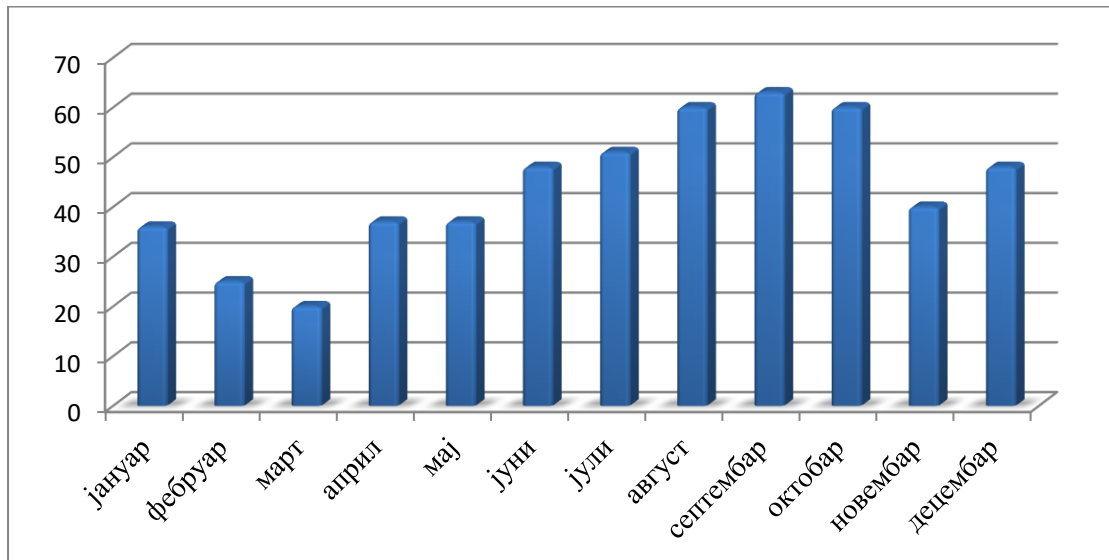
Године живота	Мушкарци		Жене		Укупно	
	број	%	број	%	број	%
15-35	97	24,8	21	15,7	118	22,5
36-50	76	19,4	19	14,2	95	18,1
51-65	104	26,6	44	32,8	148	28,2
>65	114	29,2	50	37,3	164	31,2
Укупно	391	100	134	100	525	100

Табела 3. Расподела броја смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према старости и полу.

4.3. Учесталост повређивања у саобраћајним незгодама према месецу у години

Највећи број саобраћајних незгода које су завршиле смртним исходом одиграо се у септембру (63 или 12%), а најмањи у марту (20 или 3,8%), при чему постоји статистички значајна разлика у броју стардалих ($\chi^2=47,274$; $df=11$; $p=0,000$). Детаљна расподела броја смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према месецима је на графикону 2.

У зависности од годишњег доба, највећи број саобраћајних незгода са смртним последицама десио се у јесен (31%) и лето (30%), док је најмањи број био зими (21%) и у пролеће (18%).



Графикон 2. Расподела броја смртно страдалих учесника саобраћајних незгода у односу на месеце у години.

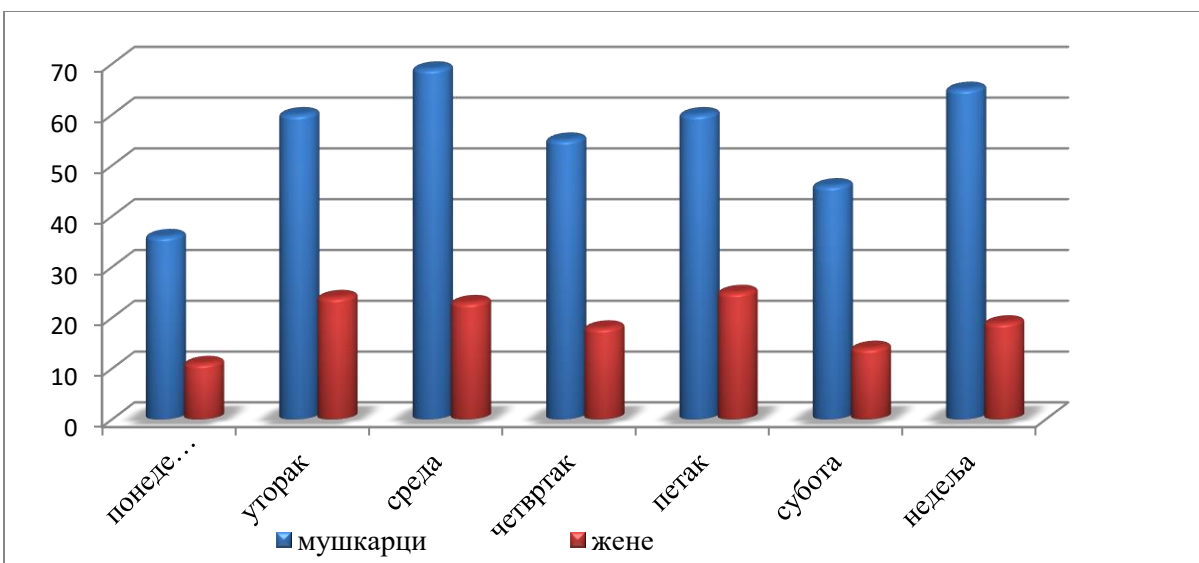
Расподела броја смртно страдалих у односу на месеце у години у зависности од пола приказана је у табели 4. Мушкарци најчешће страдају у саобраћајним незгодама у августу, а најређе у марту. Код жена је слично, најчешће страдају у саобраћајним незгодама у месецу децембру, а такође најређе у марту.

Месец	Мушкарци		Жене		Укупно	
	број	%	број	%	број	%
Јануар	27	6,9	9	6,7	36	6,9
Фебруар	19	4,9	6	4,5	25	4,8
Март	17	4,3	3	2,2	20	3,8
Април	24	6,1	13	9,7	37	7,0
Мај	26	6,6	11	8,2	37	7,0
Јуни	37	9,5	11	8,2	48	9,1
Јули	43	11,0	8	6,0	51	9,7
Август	47	12,0	13	9,7	60	11,4
Септембар	46	11,8	17	12,7	63	12,0
Октобар	45	11,5	15	11,2	60	11,4
Новембар	30	7,7	10	7,5	40	7,6
Децембар	30	7,7	18	13,4	48	9,1
Укупно	391	100	134	100	525	100

Табела 4. Расподела броја смртно страдалих учесника саобраћајних незгода у односу на месеце у години у зависности од пола.

4.4. Учесталост повређивања у саобраћајним незгодама према дану у недељи

У зависности од дана у недељи, највећи број саобраћајних незгода које су смртно завршиле догодио се у среду (92 или 17,5%), када су најчешће страдали мушкарци и петком (85 или 16,2%), када су најзаступљеније биле жене. Најмањи број саобраћајних незгода са смртним исходом оба пола догодио се понедељком (47 или 9%). Разлика у броју смртно стардалих у зависности од дана у недељи је статистички значајна ($\chi^2=20,853$; $df=6$; $p=0,002$). Детаљни резултати приказани су на графикону 3.



Графикон 3. Расподела броја смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према дану у недељи и полу.

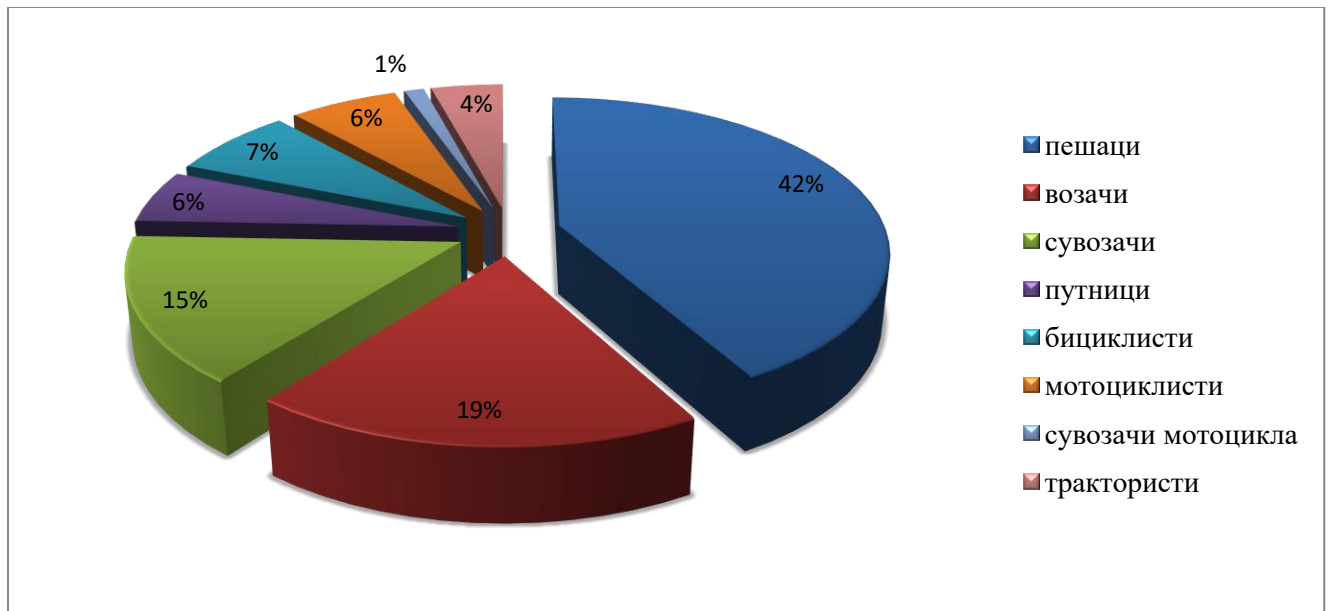
Комбинујући животну доб смртно страдалих учесника саобраћајних незгода са данима у недељи добијена је статистичка значајност (Kruskal Wallis test =20,716; df=6; $p=0,002$), при чему у данима викенда најчешће страдају најмлађи учесници саобраћајних незгода, а понедељком учесници старосне доби преко 65 година. Просечна старост учесника приказана је у табели 5.

Дан у недељи	Мушкарци		Жене		Просечна старост	Укупно	
	број	%	број	%		број	%
Понедељак	36	9,2	11	8,2	58,8±18,6	47	9,0
Уторак	60	15,3	24	17,9	53,8±19,7	84	16,0
Среда	69	17,6	23	17,2	57,2±18,0	92	17,5
Четвртак	55	14,1	18	13,4	50,0±18,2	73	13,9
Петак	60	15,3	25	18,7	52,1±20,2	85	16,2
Субота	46	11,8	14	10,4	49,7±20,2	60	11,4
Недеља	65	16,6	19	14,2	46,7±18,8	84	16,0
Укупно	391	100	134	100	52,4±19,4	525	100

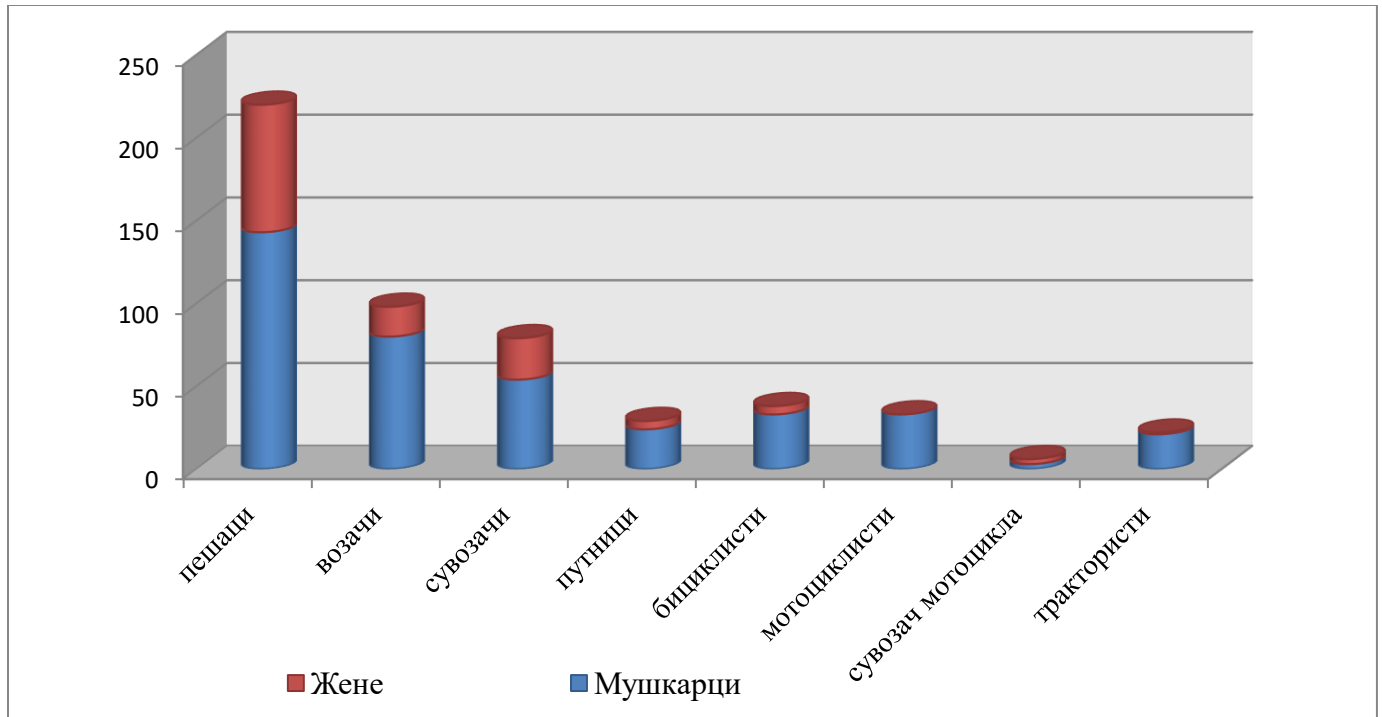
Табела 5. Расподела броја смртно страдалих учесника саобраћајних незгода у односу на дане у недељи у зависности од пола и просечне старости.

4.5. Учесталост повређивања према врсти учешћа у саобраћајним незгодама

Анализом полицијских извештаја, наредби за судскомедицинску обдукцију или на основу забележених хетероanamнестичких података од родбине, сви учесници су према врсти учешћа у саобраћајним незгодама подељени у групе: пешаци, возачи, сувозачи (путник на предњем седишту), путници на задњем седишту, бициклисти, мотоциклисти, сувозачи мотоцикла и трактористи. Највулнерабилнији учесници су били пешаци, којих је било 220 (41,9%), возача 98 (18,7%), сувозача 79 (15%), док је путника на задњем седишту било 29 (5,5%). Кориснике двоточкаша смо посматрали као бициклисте (38 или 7,2% испитиване групе), мотоциклисте (33 или 6,3%) и сувозаче мотоцикла којих је било 6 (1,1%). Посебну групу испитаника чинили су настрадали у пољоприведним машинама (најчешће на тракторима), којих је било 22 или 4,2%. Детаљна расподела смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама приказана је на графикону 4.



Графикон 4. Расподела смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према врсти учешћа.



Графикон 5. Расподела смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према учешћу и полу.

На графикону 5 је приказан однос између полова и у зависности од врсте учешћа у саобраћајним незгодама. У групи мотоциклиста нема жена, као возач трактора страдала је 1 жена, док су у својству пешака жене биле највише заступљене.

Посматрајући расподелу смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према месецу у години добијени су следећи резултати:

-пешаци најчешће страдају у децембру 34 (15,5%), а најређе у марту и мају по 12 (5,5%), што је статистички потврђено ($\chi^2=25,673$; $df=11$; $p=0,007$);

-возачи најчешће страдају у јуну 14 (14,3), а најређе у марту 3 (3,1);

-код корисника двоточкаша је присутна сезонска заступљеност у учесталости, па тако бициклисти најчешће страдају у периоду од јула до октобра (од 6 до 8 тј 15,8%-21,1%), а мотоциклисти од маја до новембра (од 4 до 6 тј 12,1%-18,2%), док је у осталим месецима број смртно страдалих двоточкаша занемарљив.

-код тракториста је такође присутна сезонска заступљеност у периоду од маја до септембра (по 4 тј. 18,2%), што је статистички потврђено ($\chi^2=24,574$; $df=11$; $p=0,011$) и што се поклапа са интензитетом пољопривредних радова.

У табели 6 је приказана учесталост саобраћајних незгода појединих учесника према данима у недељи.

Учесник	Највећи број саобраћајних незгода	Најмањи број саобраћајних незгода
Пешаци	среда 42 (19,1%)	понедељак 21 (9,5%)
Возачи	четвртак 20 (20,4%)	понедељак 8 (8,2%)
Бициклисти	недеља 8 (21,1%)	понедељак 3 (7,9%)
Мотоциклисти	среда 8 (24,2%)	субота 2 (6,1%)
Трактористи	уторак 7 (31,8%)	субота без незгода

Табела 6. Расподела броја смртно страдалих учесника саобраћајних незгода у односу на дане у недељи.

У табели 7. приказана је просечна старост смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. Доказана је статистички значајна разлика међу учесницима саобраћајних незгода различите старосне доби (Kruskal Wallis test=100,342; df 7; $p=0,000$). Најстарији учесници су трактористи, са просечном старошћу $61,2\pm 13,6$ година и пешаци са просечном старошћу $60,4\pm 17,7$ година, док су међу најмлађима сувозачи мотоцикла са просечном старошћу $30,2\pm 10,4$ година, мотоциклисти са просечном старошћу $36,5\pm 16,5$ година и возачи са просечном старошћу $44,6\pm 16,6$ година.

Учесник	Укупно	Просечна старост	Медијана (IQR)
Пешаци	220	60,4±17,7	62 (51-74,5)
Возачи	98	44,6±16,6	43,5 (32-55)
Сувозачи	79	45,4±19,3	47 (26-62)
Путници	29	48,3±20,9	53 (26-64)
Бициклисти	38	56,7±15,5	58,5 (49-67)
Мотоциклисти	33	36,5±16,5	34 (24-40)
Мотоциклиста сувозач	6	30,2±10,4	31,5 (19-40)
Трактористи	22	61,2±13,6	63,5 (54-71)

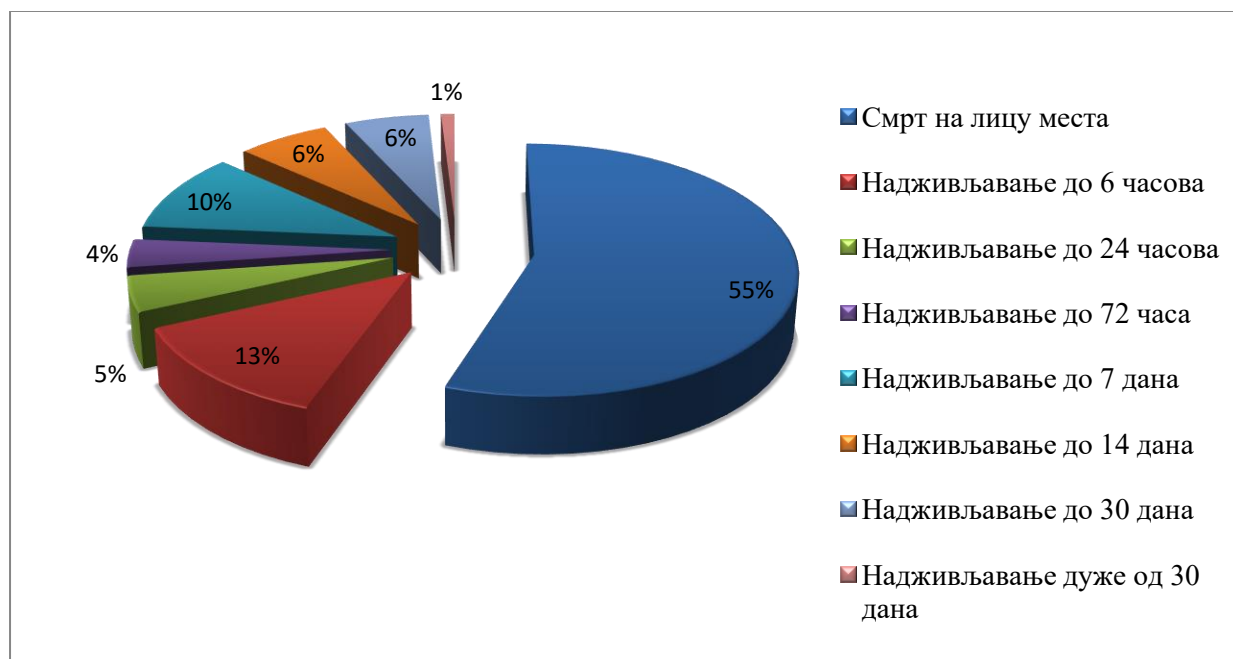
Табела 7. Просечна старост смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, медијана и IQR.

4.6. Надживљавање повреда смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Од укупног броја (525), 291 (55,4%) учесник је смртно страдао на лицу места или на путу до одговарајуће здравствене установе, док је 234 (44,6%) учесника надживљавало повреде одређени временски период. Детаљи надживљавања повреда након саобраћајних незгода су приказани на графикону 6. Код великог броја учесника саобраћајних незгода смртни исход је наступио непосредно након незгоде или у току транспорта до припадајуће здравствене установе, што је забележено као смрт на лицу места.

У групи која је надживљавала повреде одређени временски период било је укупно 234 учесника и то 178 мушкараца и 56 жена, при чему је мушкараца било статистички значајно више ($\chi^2=63,607$; $df=1$; $p=0,000$).

У групи која је умрла на лицу места било је укупно 291 учесника и то 213 мушкараца и 78 жена, при чему је мушкараца било статистички значајно више ($\chi^2=62,629$; $df=1$; $p=0,000$).



Графикон 6. Временска расподела надживљавања повреда након саобраћајних незгода.

Просечна старост учесника саобраћајних незгода који су надживљавали повреде је била $56,9 \pm 18,7$ година, док је просечна старост учесника који су умрли на лицу места или на путу до здравствене установе износила $48,8 \pm 19,3$ година. Студент-овим т тестом је потврђена статистички значајна разлика у старости учесника ове две групе (t тест=4,890; $p=0,000$).

	15-35 год. (%)	36-50 год. (%)	51-65 год. (%)	Старији од 65 год. (%)	Укупно (%)
Умрли на лицу места	79 (15)	67 (12,8)	73 (13,9)	72 (13,7)	291 (55,4)
Надживљавали	39 (7,5)	28 (5,3)	75 (14,3)	92 (17,5)	234 (44,6)
Укупно	118 (22,5)	95 (18,1)	148 (28,2)	164 (31,2)	525 (100)

Табела 8. Расподела надживљавања смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према старости.

Статистички је потврђена значајна разлика у броју учесника саобраћајних незгода који су надживљавали повреде посматрано по старосним групама ($\chi^2=26,156$; $df=3$;

$p=0,000$). Учесници који су умрли на лицу места су у највећем броју у старосној групи од 15-35 година, док су учесници који су надживљавали повреде у највећем броју старији од 65 година. Детаљан приказ дат је у табели 8.

Учесник	На лицу места (%)	Надживљавали (%)	Укупно (%)
Пешаци	101 (45,9)	119 (54,1)	220 (100)
Возачи	73 (74,5)	25 (25,2)	98 (100)
Сувозачи	49 (62,0)	30 (38,0)	79 (100)
Путници	17 (58,6)	12 (41,4)	29 (100)
Бициклисти	12 (31,6)	26 (68,4)	38 (100)
Мотоциклисти	21 (63,6)	12 (36,4)	33 (100)
Мотоциклиста сувозач	3 (50,0)	3 (50,0)	6 (100)
Трактористи	15 (68,2)	7 (31,8)	22 (100)
Укупно	291 (55,4)	234 (44,6)	525 (100)

Табела 9. Расподела надживљавања у зависности од врсте учешћа у саобраћајним незгодама.

Статистички је доказана значајна разлика у надживљавању повреда у зависности од врсте учешћа у саобраћајним незгодама ($\chi^2=35,16$; $df=7$; $p=0,000$). Пешаци ($\chi^2=13,24$; $df=1$; $p<0,01$) и бициклисти ($\chi^2=8,42$; $df=1$; $p<0,01$) чешће надживљавају повреде, а возачи страдају на лицу места ($\chi^2=16,78$; $df=1$; $p<0,01$). У осталим групама није показана статистички значајна разлика. Детаљан приказ дат је у табели 9.

4.7. Алкохолисаност смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Као стандардна процедура у току судскомедицинске обдукције узима се узорак крви за квантитативно одређивање алкохолемије. Изузетак су случајеви када је особа надживљавала повреде неки временски период, тј. када је прошло више од 24 часа од повређивања до смртог исхода, јер се сматра да је до тада алкохол највећим делом елиминисан из организма.

Одређивање алкохолемије рађено је код 377 (71,8%) учесника саобраћајних незгода. Код 148 (28,2%) учесника саобраћајних незгода алкохолемија није рађена, јер су учесници надживљавали повреде дуже од 24 часа. Позитивна алкохолемија је доказана код 124 (32,9%) тестираних смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, а средња вредност алкохолемије је била $1,4 \pm 0,9\%$.

Позитивна алкохолемија је евидентирана код 116 (93,5%) учесника мушког пола са средњом вредношћу алкохолемије $1,5 \pm 0,9\%$, док је код жена била позитивна у 8 (6,5%) случајева, са средњом вредношћу алкохолемије $0,8 \pm 0,4\%$ (табела 10). Пијаних мушкараца је било статистички значајно више него жена ($\chi^2=94,065$; $df=1$; $p=0,000$). Студент-овим т тестом је потврђена статистички значајна разлика у средњим вредностима алкохолемије, која је виша код учесника мушког пола (t тест= $4,513$; $p=0,001$).

Алкохолемија	Мушкарци (%)	Жене (%)	Укупно (%)
До 0,5 ‰	18 (14,5)	3 (2,5)	21 (16,9)
Више од 0,51 ‰	98 (79)	5 (4)	103 (83,1)
Укупно	116 (93,5)	8 (6,5)	124 (100)

Табела 10. Расподела вредности алкохолемија смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према полу.

Алкохолемија до 0,5‰ је евидентирана код приближно истог броја учесника СН у свим старосним групацијама. Расподела учесника са недозвољеном концентрацијом

алкохола у крви, тј. више од 0,5‰ је различита у зависности од старосне групе. Највећи број особа са недозвољеном алкоholeмијом је у старосној групи од 15-35 година живота, што је детаљно приказано у табели 11.

Године живота	Алкоholeмија до 0,5‰ (%)	Алкоholeмија преко 0,51‰ (%)	Укупно (%)
15-35	5 (11,1)	40 (88,9)	45 (100)
36-50	5 (16,1)	26 (83,9)	31 (100)
51-65	6 (17,6)	28 (82,4)	34 (100)
Старији од 65	5 (35,7)	9 (64,3)	14 (100)
Укупно	21 (16,9)	103 (83,1)	124 (100)

Табела 11. Расподела вредности алкоholeмија смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према старости.

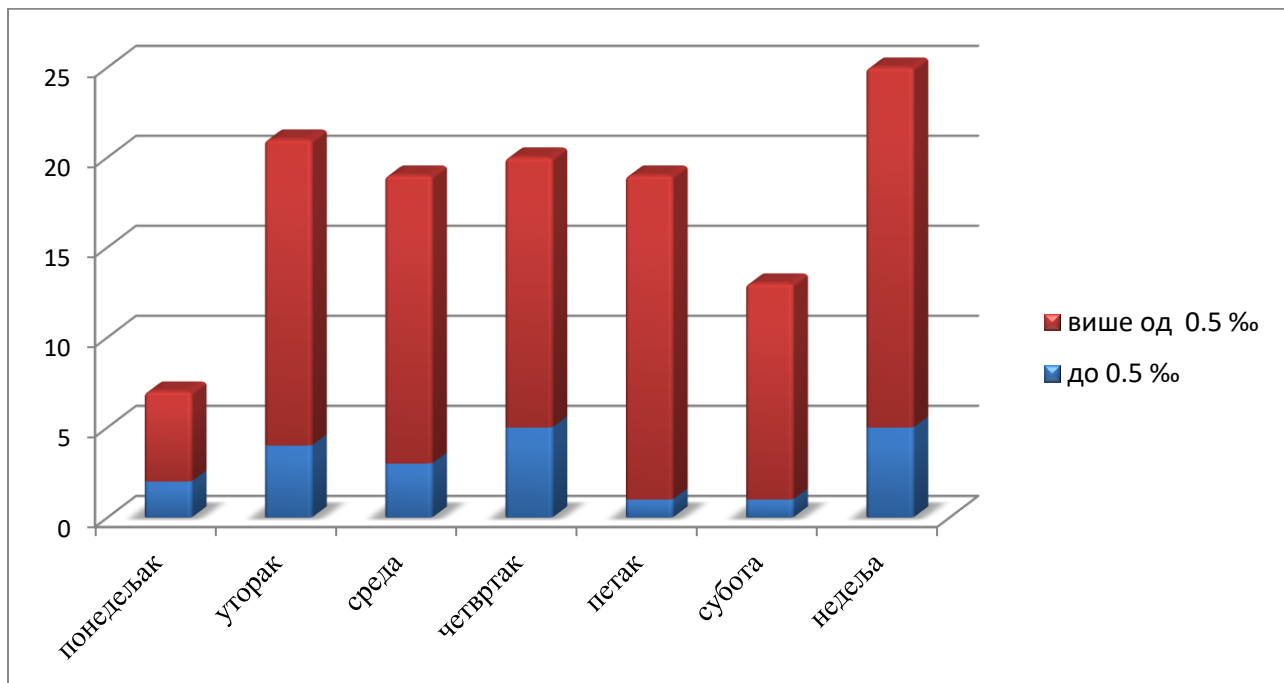
Статистички значајна разлика уочена је у броју алкоholeисаних учесника према врсти учешћа у саобраћајним незгодама ($\chi^2=95,484$; $df=7$; $p=0,000$). Највише алкоholeисаних је у групи возача моторних возила (39,8%) и возача мотоцикла (39,4%), што је детаљно приказано у табели 12.

Учесник	Укупно	Алкоholeисани (%)	Просечна вредност $\pm SE$	Максимаална вредност у %
Пешаци	220	37 (16,8)	1,4 \pm 1,0	3,5
Возачи	98	39 (39,8)	1,4 \pm 0,7	2,9
Сувозачи	79	15 (19)	1,6 \pm 0,9	3,5
Путници	29	7 (24,1)	2,1\pm1,1	3,4
Бициклисти	38	4 (10,5)	1,5 \pm 1,6	3,8
Мотоциклисти	33	13 (39,4)	1,3 \pm 0,6	2,4
Мотоциклиста сувозач	6	2 (33,3)	2,1\pm0,3	2,3
Трактористи	22	7 (29,2)	1,0 \pm 0,6	1,9
Укупно	525	124 (23,6)	1,4 \pm 0,9	3,8

Табела 12. Расподела вредности алкоholeмија према врсти учешћа у саобраћајним незгодама.

Статистички значајна разлика у средњим вредностима алкохолемија између учесника није уочена.

Уочена је статистички значајна разлика у броју алкохолисаних учесника према данима у недељи када је дошло до саобраћајних незгода ($\chi^2=18,658$; $df=6$; $p=0,005$). Највише алкохолисаних лица која су страдала у саобраћајним незгодама забележено је недељом, док је најмање било понедељком, што је детаљно приказано на графикону 7. У данима викенда (суботом и недељом) било је 38 (30,6%) саобраћајних незгода, док је у току радне недеље (од понедељка до петка) било 86 (69,4%) саобраћајних незгода.



Графикон 7. Расподела алкохолисаних смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према дану у недељи.

Највише алкохолисаних учесника било је у стању лаког пијанства (1-1,5‰) и у припитом стању (0,5-1‰), док је најмање учесника било у стању препитости (3-4‰), што је приказано у табели 13. Статистички значајна разлика је показана у броју алкохолисаних учесника према степену алкохолемије ($\chi^2=11,290$; $df=5$; $p=0,046$).

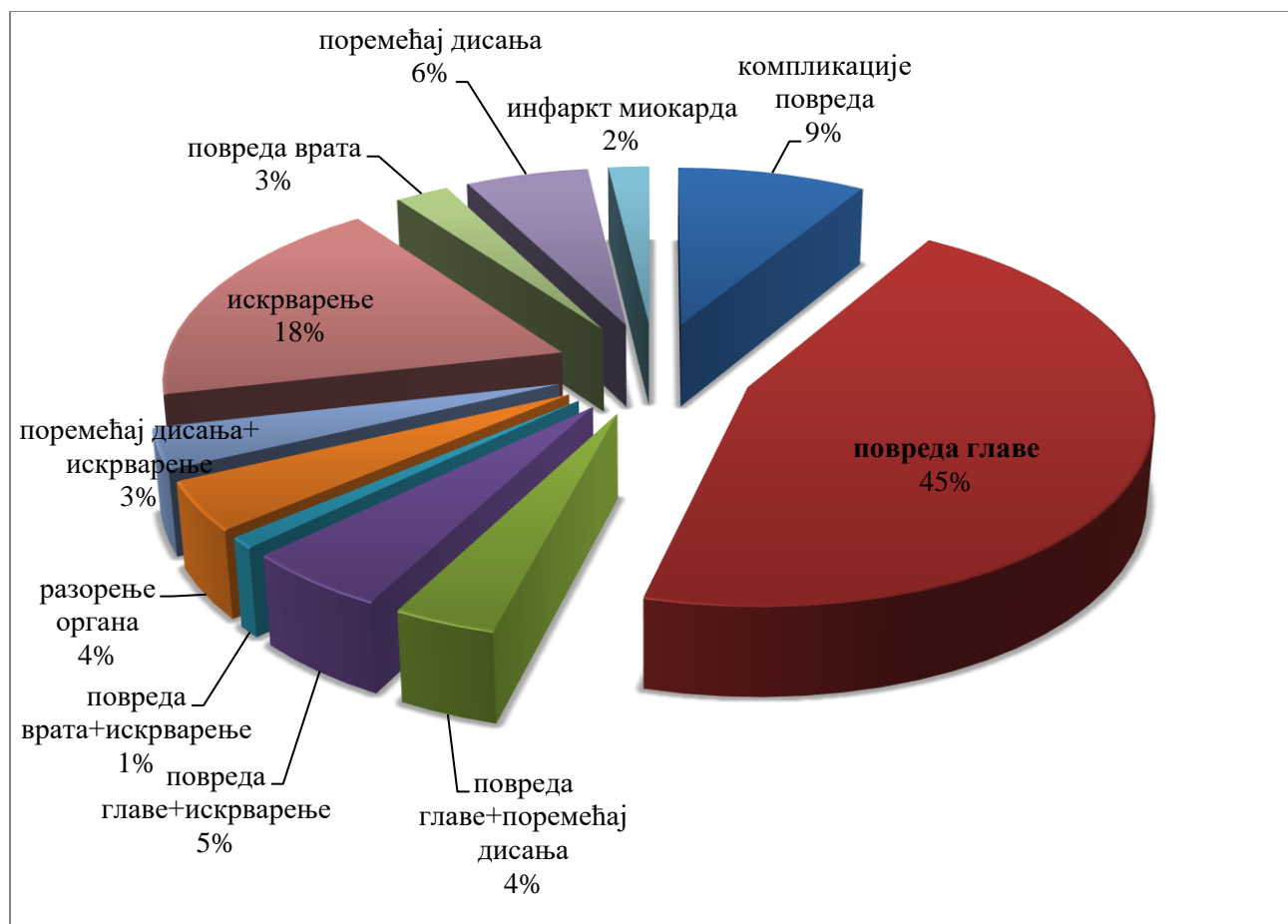
	До 0,50‰	0,51‰-1,0‰	1,01‰-1,5‰	1,51‰-2,0‰	2,01‰-3‰	3,01‰-4‰
Возачи	7	9	6	8	9	0
Мотоциклисти	1	3	5	2	2	0
Бициклисти	1	1	1	0	0	1
Пешаци	10	6	6	3	9	3
Остали	2	6	9	6	4	4
Укупно	21	25	27	19	24	8

Табела 13. Расподела смртно страдалих алкохолисаних учесника саобраћајних незгода према степену алкохолисаности.

У посматраном периоду у расположивом материјалу није постојао значајан број случајева код којих је регистрована злоупотреба психоактивних супстанци.

4.8. Узроци смрти страдалих у саобраћајним незгодама

Посматрајући цео узорак од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, показана је статистички значајна разлика у броју учесника према узроку смрти ($\chi^2=968,088$; $df=10$; $p=0,000$). Повреда главе се издваја као најчешћи узрок смрти, било сингуларан или у комбинацији са другим узроцима, као што су искрварење и поремећај дисања. Детаљна расподела узрока смрти приказана је на графикону 8.



Графикон 8. Узроци смрти учесника у саобраћајним незгодама.

Најчешћи сингуларни узроци смрти су повреда главе (238 или 45,3%), искрварење (97 или 18,5%), поремећај дусања (30 или 5,7%), разорење органа (22 или 4,2%) и повреда врата (13 или 2,5%). Компликације повреда као узрок смрти присутне су код 46 (8,8%) страдалих у саобраћајним незгодама. Код 10 (1,9%) учесника хистолошки је дијагностикован инфаркт миокарда као узрок смрти.

Посматрано у зависности од пола, расподела узрока смрти је слична као у укупном броју, а детаљи су приказани у табели 14. Просечна старост учесника саобраћајних незгода у зависности од узрока смрти је такође приказана у табели 14. Показана је статистички значајна разлика у старости учесника (Kruskal Wallis test =20,261; df=10; p=0,027). Узрок смрти најстаријих учесника је био инфаркт миокарда (просечна старост 60,6±15,6 година), затим следе учесници средње доби код којих је узрок смрти била

компликација повреде (просечна старост $58,8 \pm 17,6$ година), док је код најмлађих учесника узрок смрти била повреда врата у комбинацији са искрварењем (просечна старост $39,2 \pm 18,4$ година).

Узрок смрти	Мушкарци (%)	Жене (%)	Укупно (%)	Просечна старост
Компликације повреда	35 (9)	11 (8,2)	46 (8,8)	$58,8 \pm 17,7$
Повреда главе	174 (44,5)	64 (47,8)	238 (45,3)	$51,3 \pm 19,6$
Повреда главе+поремећај дисања	16 (4,1)	3 (2,2)	19 (3,6)	$48,2 \pm 19$
Повреда главе +искрварење	20 (5,1)	7 (5,2)	27 (5,1)	$43,8 \pm 19$
Повреда врата +искрварење	3 (0,8)	2 (1,5)	5 (1)	$39,2 \pm 18,4$
Разорење органа	12 (3,1)	10 (7,5)	22 (4,2)	$47,5 \pm 22,5$
Поремећај дисања+искрварење	13 (3,3)	5 (3,7)	18 (3,4)	$56,8 \pm 15,8$
Искрварење	73 (18,7)	24 (17,9)	97 (18,5)	$54,1 \pm 19,7$
Повреда врата	9 (2,3)	4 (3)	13 (2,5)	$55,1 \pm 20,2$
Поремећај дисања	26 (6,6)	4 (3)	30 (5,7)	$55,9 \pm 16,9$
Инфаркт миокарда	10 (2,6)	0	10 (1,9)	$60,6 \pm 15,7$
Укупно	391 (100)	134(100)	525 (100)	$52,4 \pm 19,4$

Табела 14. Расподела узрока смрти учесника саобраћајних незгода према полу и старости.

У табели 15 приказана је расподела различитих узрока смрти у зависности од врсте учешћа у саобраћајној незгоди. Повреда главе је водећи узрок смрти скоро свих учесника саобраћајних незгода и присутна је код више од половине настрадалих учесника. Изузетак су сувозачи моторних возила, где су као узрок смрти скоро подједнако заступљени повреда главе и искрварење (по око 30%) и трактористи код којих је искрварење најчешће присутно као узрок смрти (40% случајева).

Узрок смрти	Пешаци (%)	Возачи (%)	Сувоз. (%)	Путници (%)	Бицик. (%)	Мотоц. (%)	С.Мот (%)	Трактр. (%)	Укупно (%)
Компликације	25 (11,4)	4 (4,1)	8 (10,1)	2 (6,9)	3 (7,9)	1 (3)	0	3 (13,6)	46
Повреда главе	116 (52,7)	30 (30,6)	27 (34,2)	15 (51,7)	24 (63,2)	19 (57,6)	4 (66,7)	3 (13,6)	238
Повреда главе + поремећај дисања	5 (2,3)	5 (5,1)	4 (5,1)	0	2 (5,3)	3 (9,1)	0	0	19
Повреда главе + искрварење	10 (4,5)	8 (8,2)	3 (3,8)	0	3 (7,9)	3 (9,1)	0	0	27
Повреда врата + искрварење	1 (0,5)	1 (1)	2 (2,5)	0	1 (2,6)	0	0	0	5
Разорење органа	10 (4,5)	7 (7,1)	2 (2,5)	1 (3,4)	0	2 (6,1)	0	0	22
Поремећај дисања+искрварење	6 (2,7)	6 (6,1)	1 (1,3)	2 (6,9)	0	0	0	3 (13,6)	18
Искрварење	30 (13,6)	20 (20,4)	26 (32,9)	5 (17,2)	1 (2,6)	5 (15,2)	1 (16,7)	9 (40,9)	97
Повреда врата	6 (2,7)	2 (2)	2 (2,5)	0	2 (5,3)	0	1 (16,7)	0	13
Поремећај дисања	11 (5)	8 (8,2)	3 (3,8)	4 (13,8)	1 (2,6)	0	0	3 (13,6)	30
Инфаркт миокарда	0	7 (7,1)	1 (1,3)	0	1 (2,6)	0	0	1 (4,5)	10
Укупно	220 (100)	98 (100)	79 (100)	29 (100)	38 (100)	33 (100)	6 (100)	22 (100)	525

Табела 15. Расподела узрока смрти у зависности од врсте учешћа у саобраћајним незгодама.

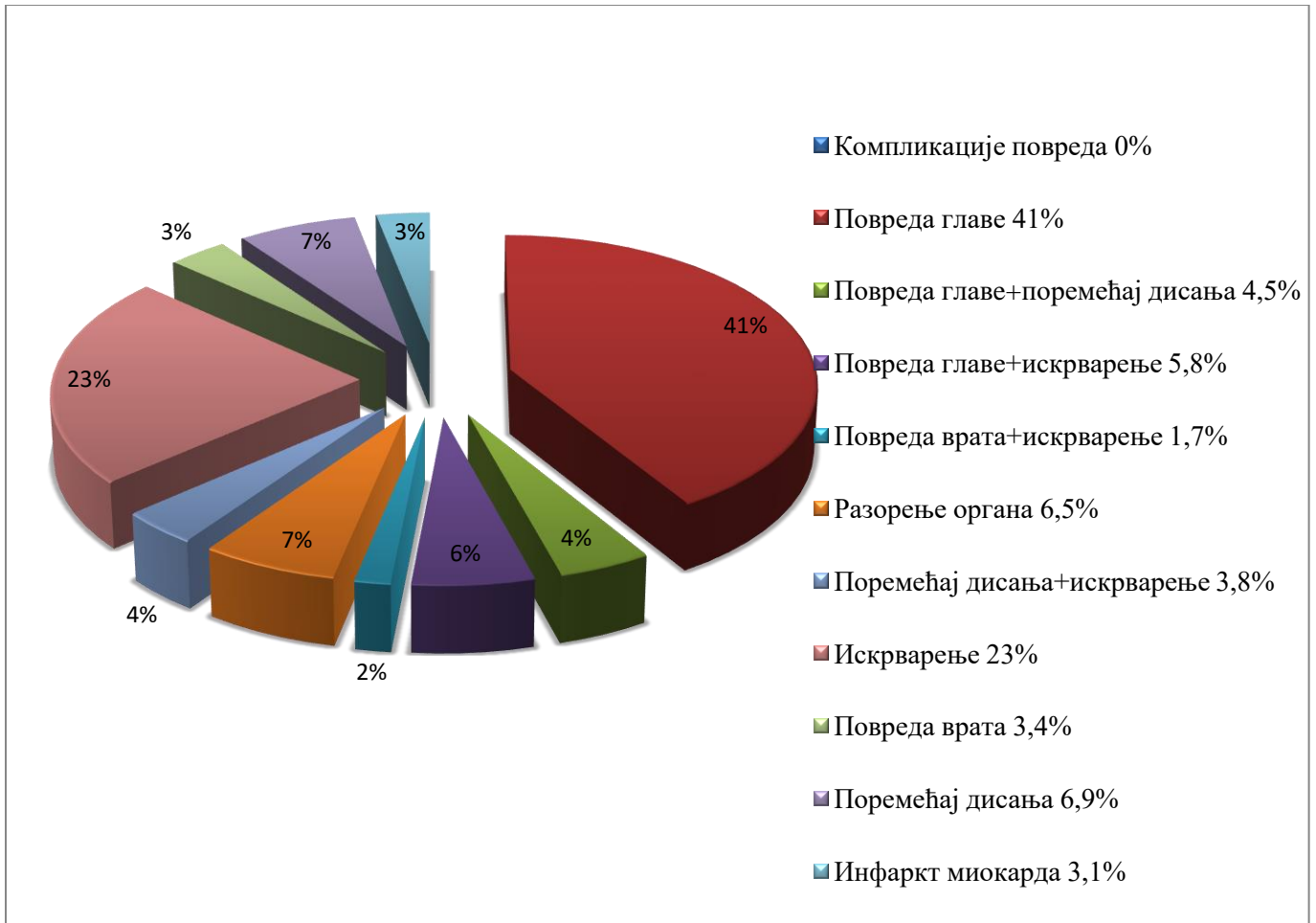
Најчешћи узрок смрти пешака, евидентиран у више од половине смртно страдалих пешака, тј. код 116 од 220 (52,7%) била је повреда главе ($\chi^2=23,743$; $df=10$; $p=0,008$). Код возача је такође повреда главе најчешћи узрок смрти (30 или 30,6%), што је статистички значајно ($\chi^2=35,661$; $df=10$; $p=0,000$). Код тракториста је најчешћи узрок смрти било искрварење (9 случајева или 40,9%) ($\chi^2=26,068$; $df=10$; $p=0,004$).

Од 525 смртно страдалих учесника саобраћајне незгоде, нешто више од половине – 291 учесника је страдао на лицу места или на путу до одговарајуће здравствене установе, док је 234 учесника надживљавало повреде одређени временски период. У обе групе испитаника водећи узрок смрти је била повреда главе. Детаљна расподела узрока смрти у групи која је надживљавала повреде и у групи која је умрла на лицу места приказана је на

графицима 9 и 10. Код одређеног броја учесника који су надживљавали повреде појавиле су се компликације, које су скоро 20% непосредно утицале на настанак смртог исхода и налазе се на другом месту, одмах иза повреда главе. Код учесника који су умрли на лицу места саобраћајне незгоде, најчешћи узроци смрти су повреда главе (50,4%) и искрварење (23%).



Графикон 9. Узроци смрти учесника саобраћајних незгода који су надживљавали повреде



Графикон 10. Узроци смрти учесника саобраћајних незгода који су умрли на лицу места.

4.9. Компликације повреда смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

У нашем узорку од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, 443 (84,4%) учесника није имало никаквих компликација, док је код 82 (15,6%) учесника дошло до развоја компликација (табела 16). Најчешћа компликација била је запаљење

плућа, код 58 или 11% смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. Компликације повреда су чешће биле присутне код мушкараца него код жена.

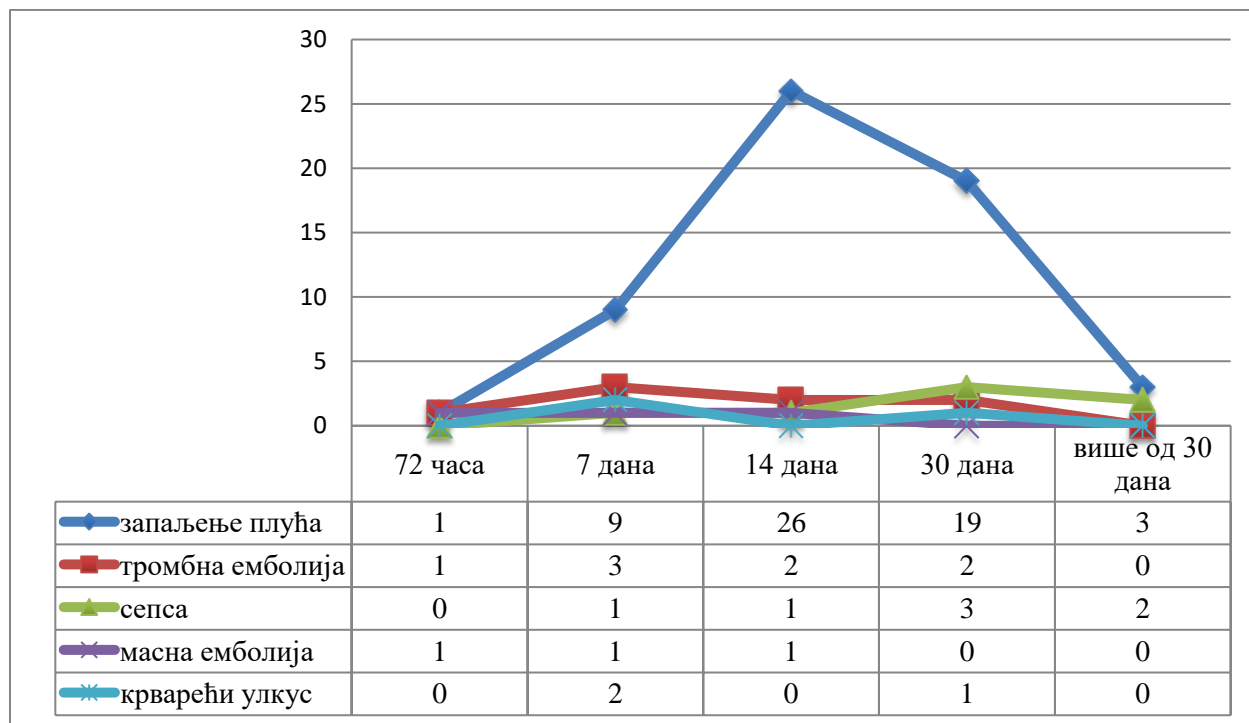
Учесници код којих су се развиле компликације били су старије животне доби од оних учесника код којих се нису развиле компликације, а што је статистички потврђено Студент-овим т тестом (t тест=-3,236; $p=0,002$). Просечна старост учесника код којих су се развиле одређене компликације била је $58,8 \pm 17,7$ година, док је просечна старост учесника код којих није било компликација $51,4 \pm 19,6$ година.

Код 46 (8,8%) смртно страдалих учесника саобраћајних незгода развој компликација је био непосредни узрок смрти. У 11% од укупног броја учесника (525) уочена је појава компликације у виду запаљења плућа, што је код 43% тих случајева, уједно био и непосредни узрок смрти. Компликације повреда у виду сепсе, масне и тромбне емболије су уједно биле и непосредни узрок смрти, што је детаљно приказано на табели 16.

Компликације	Број (%)	Мушкарци (%)	Жене (%)	Просечна старост	Узрок смрти (%)
Без компликација	443 (84,4)	331 (84,7)	112 (83,6)	$51,4 \pm 19,6$	0
Запаљење плућа	58 (11)	43 (11)	15 (11,2)	$58,0 \pm 18,2$	25 (43)
Тромбна емболија	8 (1,5)	6 (1,5)	2 (1,5)	$58,3 \pm 16,1$	7 (87,5)
Сепса	7 (1,3)	6 (1,5)	1 (0,7)	$56,1 \pm 16,5$	7 (100)
Масна емболија	3 (0,6)	2 (0,5)	1 (0,7)	$52,3 \pm 20,3$	3 (100)
Крварећи улкус	3 (0,6)	2 (0,5)	1 (0,7)	$61,3 \pm 4,6$	1 (33,3)
Запаљење трбушнице	1 (0,2)	0	1 (0,7)	80	1 (100)
Тромбна емболија + запаљење трбушнице	1 (0,2)	1 (0,3)	0	71	1(100)
Запаљење плућа + крварећи улкус	1 (0,2)	0	1 (0,7)	57	1 (100)
Укупно	525 (100)	391 (100)	134 (100)	$58,8 \pm 17,7$	46 (8,8)

Табела 16. Карактеристике компликација повреда смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Највећи број компликација се развио у периоду друге и треће недеље надживљавања повреда, што је детаљно приказано на графикону 11.

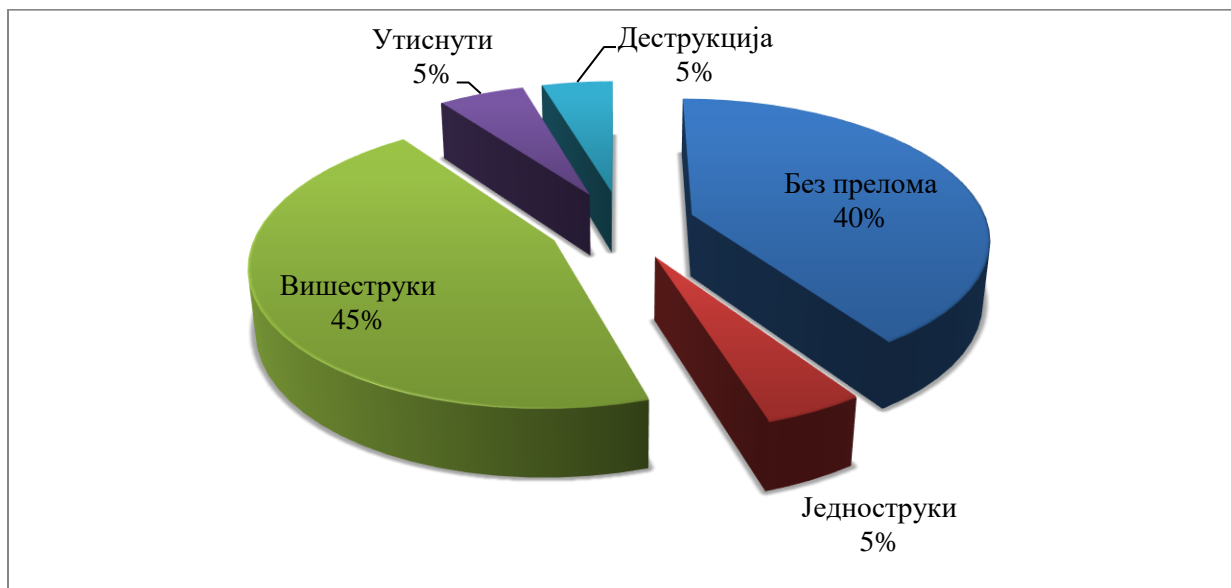


Графикон 11. Расподела компликација повреда смртно страдалих учесника саобраћајних незгода према дужини надживљавања повреда.

4.10. Карактеристике повреда главе смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама

4.10.1. Преломи костију лобање смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Ради боље анализе прелома костију лобање смо поделили на: једноструке, вишеструке, утиснуте и прелома код којих је дошло до деструкције лобање као целине. Детаљна расподела прелома костију лобање смртно страдалих учесника саобраћајних незгода је приказана на графикону 12.



Графикон 12. Дистрибуција различитих врста прелома лобање смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Користећи статистичке методе, показано је да постоји значајна разлика у заступљености прелома костију лобање код различитих учесника саобраћајних незгода ($\chi^2=25,39$; $df=7$; $p=0,001$), што је са резултатима χ^2 теста приказано у табели 17. Код пешака ($\chi^2=12,96$; $df=4$; $p<0,01$) и мотоциклиста ($\chi^2=13,85$; $df=4$; $p<0,01$) су чешће

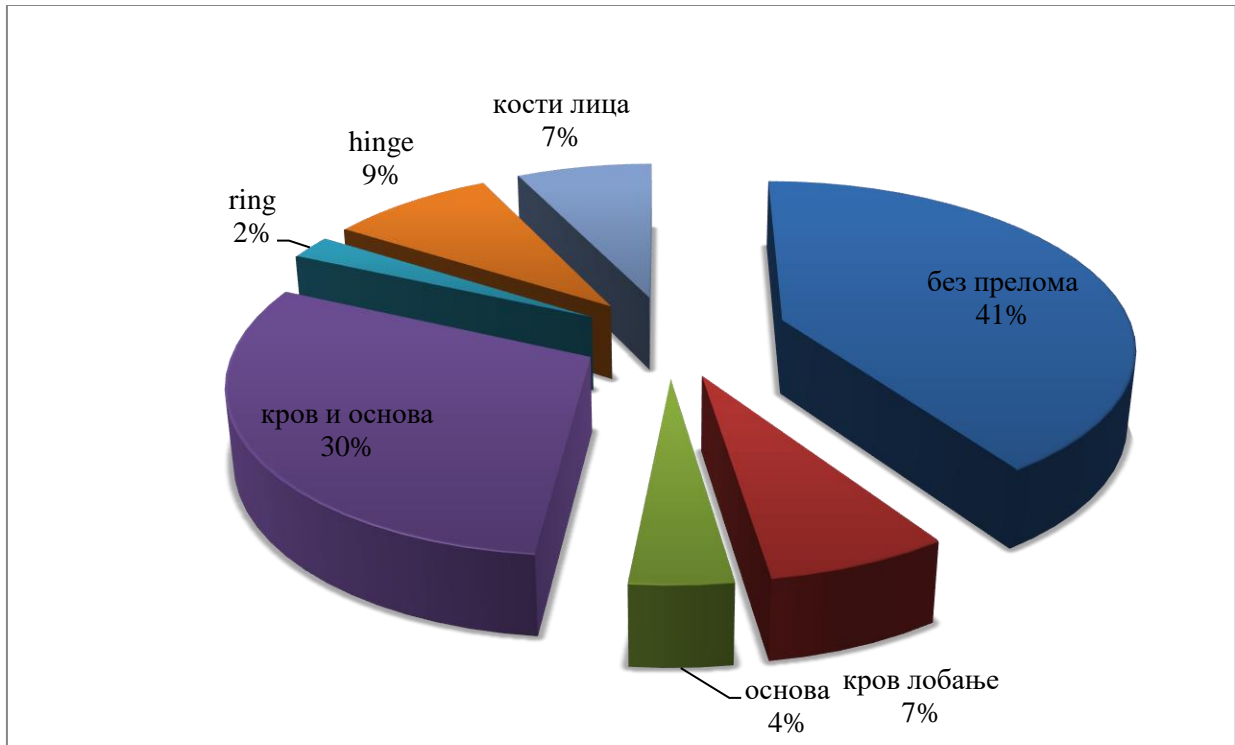
присутни преломи костију лобање, док код тракториста ($\chi^2=13,39$; $df=4$; $p<0,01$) најређе настају.

Учесник	Преломи костију лобање		χ^2 тест	df	p вредност	укупно
	ДА (%)	НЕ (%)				
Пешаци	141 (64,1)	79 (35,9)	12,96	4	0,011	220
Возачи	54 (55,1)	44 (44,9)	3,67	4	0,453	98
Сувозачи	38 (48,1)	41 (51,9)	5,37	4	0,252	79
Путници	18 (62,1)	11 (37,9)	2,67	4	0,616	29
Бициклисти	29 (76,3)	9 (23,7)	5,95	4	0,203	38
Мотоциклисти	23 (69,7)	10 (30,3)	13,85	4	0,008	33
Мотоциклиста сувозач	4 (66,7)	2 (33,3)	3,84	4	0,428	6
Трактористи	5 (22,7)	17 (77,3)	13,39	4	0,010	22
Укупно	312 (59,4)	213 (40,6)	25,39	7	0,001	525

Табела 17. Расподела прелома костију лобање према врсти учешћа у саобраћајним незгодама.

4.10.2. Локализација прелома костију лобање смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Ради јасније анализе преломе костију лобање смо разврстали према локализацији на: преломе који захватају кров лобање, базу лобање, кров и базу, кости лица и специфичне преломе базе лобање. Као посебан вид прелома базе лобање, издвојени су „ring“ преломи-претенасти преломи око великог потиљачног отвора, који захватају задњу лобањску јаму и „hinge“ преломи-преломи у виду шарке који предвајају основу лобањске дупље на два дела. Детаљна расподела локализације прелома костију лобање смртно страдалих учесника саобраћајних незгода је приказана на графикону 13.



Графикон 13. Дистрибуција локализације прелома лобање смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

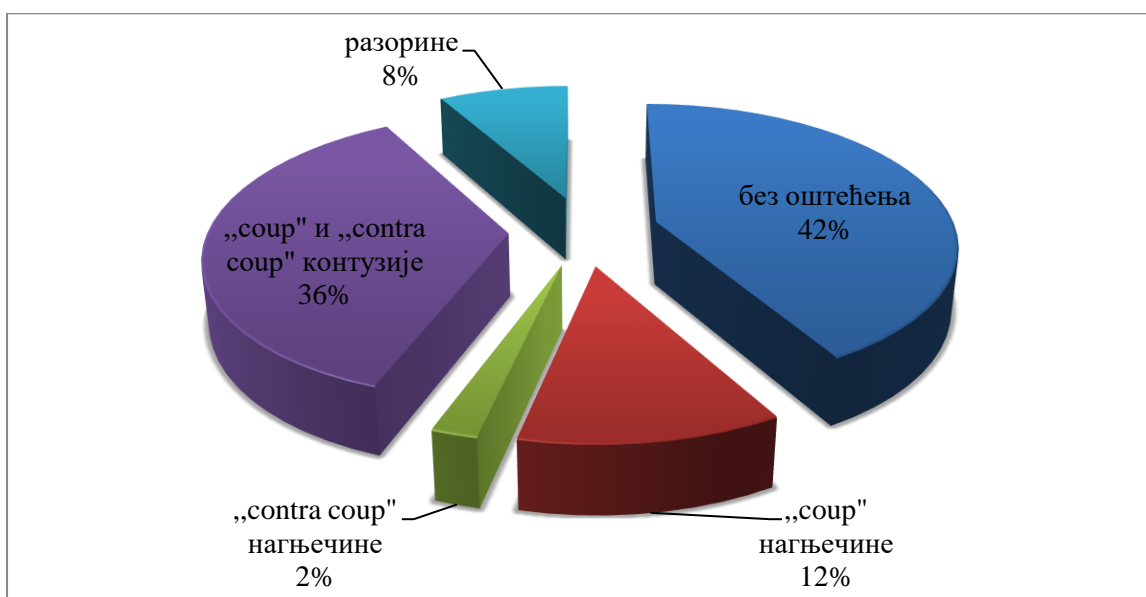
Посматрајући врсту и локализацију прелома, уочава се да су једноструки преломи у око 70% (17 од укупно 24 једноструких прелома) локализовани на крову лобање, док око 76% утиснутих прелома (22 од укупно 29 утиснутих прелома) и скоро половина вишеструких прелома (110 од укупно 235 вишеструких прелома) захвата кров и основу лобање. У свим случајевима деструкције костију главе оштећене су кости и кров и основе лобање. Дистрибуција прелома лобање према врсти и локализацији приказана је у табели 18.

	Кров лобање	Основа лобање	Кров и основа	„ring“ преломи	„hinge“ преломи	Кости лица	Укупно
Једноструки (%)	17 (70,9)	5 (20,8)	2 (8,3)	0	0	0	24 (100)
Вишеструки (%)	15 (6,4)	14 (6,0)	110 (46,8)	12 (5,1)	46 (19,6)	38 (16,2)	235 (100)
Утиснути (%)	5 (17,2)	2 (6,9)	22 (75,9)	0	0	0	29 (100)
Деструкција (%)	0	0	24 (100)	0	0	0	24 (100)

Табела 18. Дистрибуција прелома лобање према врсти и локализацији смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

4.10.3. Повреде мозданог ткива смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Ради боље анализе, повреде мозданог ткива, нагњечине, као најчешће повреде смо поделили на „coup“ нагњечине, „contra coup“ нагњечине и повреде где су присутне „coup“ и „contra coup“ нагњечине. Анализиране су и разорине мозданог ткива, које су заступљене у мањем броју, а детаљан приказ дат је на графикону 14.



Графикон 14. Дистрибуција повреда мозданог ткива смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Удруженост прелома костију лобање и повреда можданог ткива приказана је у табели 19. Показана је статистичка значајност у дистрибуцији повреда можданог ткива ($\chi^2=578,31$; $df=16$; $p=0,000$), при чему су вишеструки и утиснути преломи костију лобање најчешће удружени са „соур“ и „contra соур“ нагњечинама.

	„соур“ нагњечине	„contra соур“нагњечине	„соур“ и „contra соур“нагњечине	разорине	Без повреда	Укупно
Једноструки	9 (37,5)	0	6 (25)	0	9 (37,5)	24 (100)
Вишеструки	31 (13,2)	10 (4,3)	152 (64,7)	16 (6,8)	26 (11,1)	235 (100)
Утиснути	5 (17,2)	0	20 (69)	4 (13,8)	0	29 (100)
Деструкција	0	0	1 (4,2)	23 (95,8)	0	24 (100)
Без прелома	17 (8)	1 (0,5)	11 (5,1)	0	184 (86,4)	213 (100)
Укупно	62 (11,8)	11 (2,1)	190 (36,2)	43 (8,2)	219 (41,7)	525 (100)

Табела 19. Удруженост прелома костију лобање и повреда можданог ткива смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

У 152 случаја вишеструких прелома костију лобање (64,7% од укупно 235 вишеструких прелома) и у 20 случаја утиснутих прелома костију лобање (69% од укупно 20 утиснутих прелома) констатоване су удружене „соур“ и „contra соур“ нагњечине. Од 24 случаја деструкције костију лобање, у 23 (95,8%) су настала разорине можданог ткива. У 9 случаја једноструких прелома костију лобање (37,5% од укупно 24 једноструких прелома) биле су присутне „соур“ нагњечине.

Код 312 од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода констатован је прелом костију лобање, који је у 277 (88,8% од 312 учесника са прелом костију лобање) случајева био удружен са повредама можданог ткива, док у 35 (11,2% од 312 учесника са прелом костију лобање) случајева није дошло до повреда можданог ткива иако је било прелома. Најчешће се радило о вишеструким преломима костију лобање 8,3% од 312 учесника са преломом костију лобање, а статистичка значајност удружености повреда

можданог ткива и прелома костију лобање ($\chi^2=291,08$; $df=1$; $p=0,000$), је приказана у табели 20.

		Повреда можданог ткива		Укупно (%)	χ^2 тест	df	p вредност
		ДА (%)	НЕ (%)				
Преломи костију лобање	ДА	277 (88,8)	35 (11,2)	312 (100)	291,08	1	0,000
	НЕ	29 (13,6)	184 (86,4)	213 (100)			

Табела 20. Удруженост прелома костију лобање и повреда можданог ткива смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Користећи статистичке методе, показано је да постоји значајна разлика у присуству повреда можданог ткива код различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода ($\chi^2=40,24$; $df=7$; $p=0,000$), што је са резултатима χ^2 теста приказано у табели 21.

Код пешака ($\chi^2=15,22$; $df=4$; $p<0,01$) и бициклиста ($\chi^2=14,23$; $df=4$; $p<0,01$) су најзаступљеније повреде можданог ткива, док су код тракториста ($\chi^2=19,28$; $df=4$; $p<0,01$) оне најмање заступљене.

Учесник	Повреда можданог ткива		χ^2 тест	df	p вредност	укупно
	ДА (%)	НЕ (%)				
Пешаци	142 (64,5)	78 (35,5)	15,22	4	0,004	220
Возачи	48 (49,0)	50 (51,0)	5,76	4	0,218	98
Сувозачи	38 (48,1)	41 (51,9)	6,89	4	0,142	79
Путници	18 (62,1)	11 (37,9)	3,98	4	0,408	29
Бициклисти	32 (84,2)	6 (15,8)	14,23	4	0,007	38
Мотоциклисти	22 (66,7)	11 (33,3)	7,83	4	0,098	33
Мотоциклиста сувозач	3 (50,0)	3 (50,0)	8,14	4	0,087	6
Трактористи	3 (13,6)	19 (86,4)	19,28	4	0,001	22
Укупно	306 (58,3)	219 (41,7)	40,24	7	0,000	525

Табела 21. Расподела повреда можданог ткива према врсти учешћа смртно страдалих у саобраћајним незгодама.

4.10.4. Локализација повреда можданог ткива смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Код једноструких прелома костију лобање у највећем броју случајева није било повреда можданог ткива, а тамо где их је било, најчешће су биле локализоване у чеоном режњу. Код вишеструких прелома најчешће су уочене нагњечине у чеоном, слепоочном и теменом режњу истовремено, док су најмање заступљене у теменом режњу. Код утиснутих прелома, такође, најчешће се уочавају нагњечине у чеоном, слепоочном и теменом режњу истовремено, док су најмање заступљене у теменом режњу и теменом и чеоном режњу истовремено. У ситуацијама деструкције костију лобање разорења можданог ткива су заступљена у 91,7% (у 22 од укупно 24 случајева деструкције костију лобање). Детаљна расподела је приказана у табели 22.

Локализација повреда можданог ткива	Једноструким (%)	Вишеструким (%)	Утиснути (%)	Деструкција (%)	Са неким преломом (%)	Без прелома (%)	Укупно (%)
Чеоно режањ	6 (25,0)	8 (3,4)	1 (3,4)	-	15 (4,8)	7 (3,3)	22 (4,2)
Темено режањ	-	4 (1,7)	-	-	4 (1,3)	5 (2,3)	9 (1,7)
Слепоочно режањ	3 (12,5)	22 (9,4)	3 (10,3)	-	28 (9,0)	6 (2,8)	34 (6,5)
Чеоно+темено режањ	1 (4,2)	14 (6,0)	-	-	15 (4,8)	5 (2,3)	20 (3,8)
Чеоно+слепоочно режањ	2 (8,3)	45 (19,1)	7 (24,1)	-	54 (17,3)	1 (0,5)	55 (10,5)
Слепоочно+Потиљачно режањ	1 (4,2)	7 (3,0)	1 (3,4)	1 (4,2)	10 (3,2)	1 (0,5)	11 (2,1)
Чеоно+темено+Потиљачно режањ	-	32 (13,6)	3 (10,3)	1 (4,2)	36 (11,5)	2 (0,9)	38 (7,2)
Чеоно+слепоочно+темено режањ	2 (8,3)	70 (29,8)	10 (34,5)	-	82 (26,3)	2 (0,9)	84 (16,0)
Резорина можданог ткива	-	7 (3,0)	4 (13,8)	22 (91,7)	33 (10,6)	-	33 (6,3)
Без повреда	9 (37,5)	26 (11,1)	-	-	35 (11,2)	184 (86,4)	219 (41,7)
Укупно	24 (100)	235 (100)	29 (100)	24 (100)	312 (100)	213 (100)	525 (100)

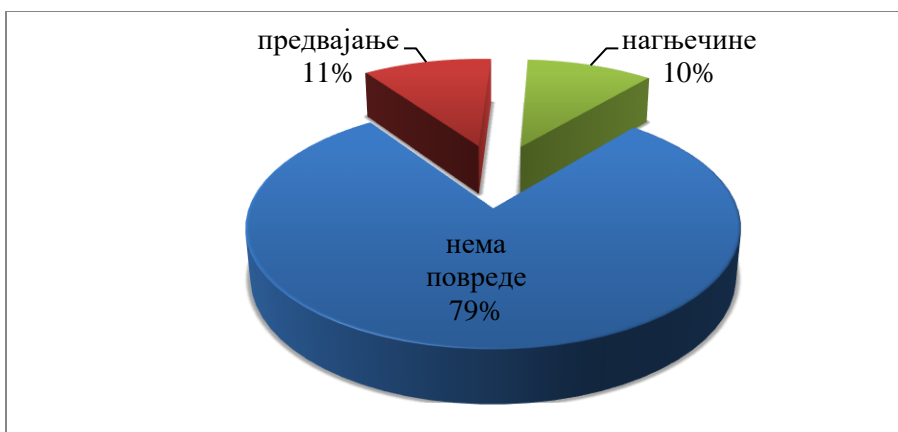
Табела 22. Расподела повреда можданог ткива према локализацији повреда и врсти прелома костију лобање смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Посматрано у целини (49% или 312 од 525 смртно страдалих учесника са повредом можданог ткива) најчешћа локализација нагњечина је у чеоном, слепоочном и теменом режњу истовремено, а затим у чеоном и слепоочном режњу. Најмања заступљеност нагњечина можданог ткива је локализована у теменом режњу. Код 35 (11,2% од 312 учесника код којих су били преломи костију лобање) учесника није настало оштећење можданог ткива, иако је дошло до настанка прелома костију лобање.

Код 213 од 525 учесника (41% свих смртно страдалих у саобраћајним незгодама), нису констатовани преломи костију лобање, али је међу њима било учесника код којих су настале нагњечине можданог ткива (13%). У тим случајевима нагњечине су најчешће биле локализоване у чеоним и слепоочним режњевима.

4.10.5. Повреде можданог стабла смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Од повреда можданог стабла, ради јасније анализе издвојили смо повреде у виду предвајања можданог стабла и нагњечине. Наведене повреде су биле заступљене код око 10% свих анализираних случајева (предвајање можданог стабла у 54 од 525 случајева, а нагњечина можданог стабла у 55 од 525 случајева смртно страдалих у саобраћајним задесма). Дистрибуција повреда можданог стабла приказана је на графикону 15.



Графикон 15. Дистрибуција повреда мозданог стабла смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Нагњечине мозданог стабла су најчешће код бициклиста (21,1% или 8 од 38 бициклиста) и пешака (11,4% или 25 од 220 пешака), док је предвајање мозданог стабла најчешће уочено код сувозача моторних возила (13,9% или 11 од 79 сувозача) и пешака (12,3% или 27 од 220 пешака). Расподела повреда мозданог стабла различитих учесника саобраћајних незгода приказана је у табели 23.

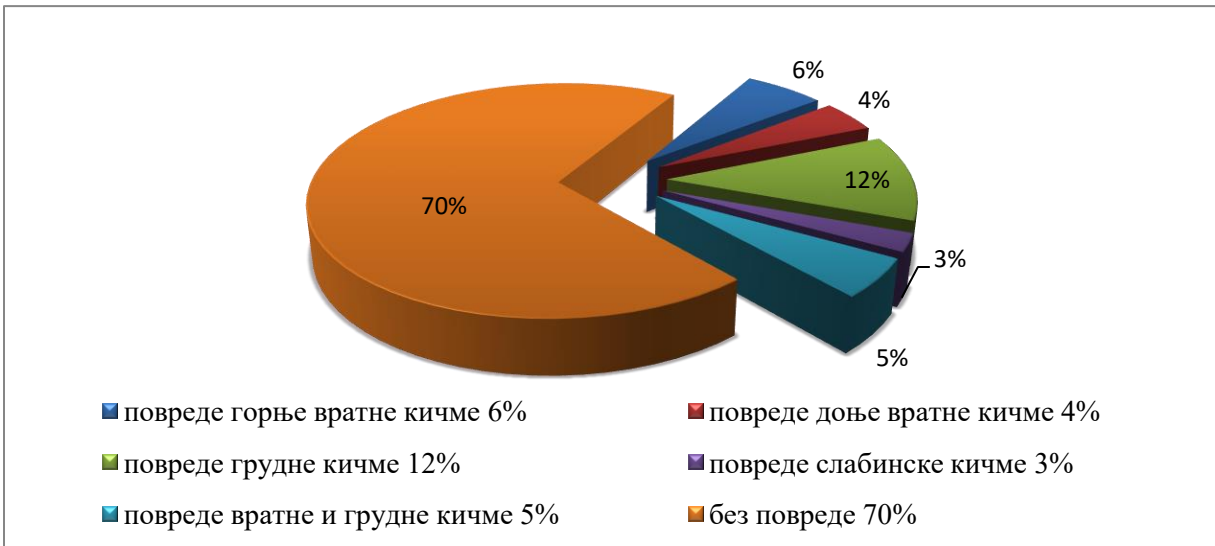
Учесник	Поведа мозданог стабла		Без повреде	Укупно
	Нагњечине	Предвајање		
Пешаци	25 (11,4)	27 (12,3)	168 (76,4)	220 (100)
Возачи	7 (7,1)	6 (6,1)	85 (86,7)	98 (100)
Сувозачи	8 (10,1)	11 (13,9)	60 (75,9)	79 (100)
Путници	2 (6,9)	3 (10,3)	24 (82,8)	29 (100)
Бициклисти	8 (21,1)	3 (7,9)	27 (71,1)	38 (100)
Мотоциклисти	3 (9,1)	3 (9,1)	27 (81,8)	33(100)
Мотоциклиста сувозач	-	2 (33,3)	4 (66,7)	6 (100)
Трактористи	1 (4,5)	-	21 (95,5)	22 (100)
Укупно	54 (10,3)	55 (10,5)	416 (79,2)	525(100)

Табела 23. Расподела повреда мозданог стабла различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Анализирајући удруженост различитих повреда главе и врата и повреда можданог стабла није уочена статистичка значајност, изузев у случају повреда вратног дела кичме ($\chi^2=69,51$; $df=1$; $p=0,000$).

4.10.6. Повреде кичменог стуба смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Повреде кичменог стуба анализирали смо кроз: повреде горње вратне кичме, коју чине прва три пршљена, повреде доње вратне кичме коју чине остали вратни пршљенови, повреде грудне кичме, повреде слабинске кичме и удружене повреде вратне и грудне кичме. Детаљна расподела оштећења кичменог стуба приказана је на графикону 16.



Графикон 16. Дистрибуција оштећења кичменог стуба смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Повреда вратног дела кичменог стуба (изоливано или у комбинацији са повредом грудног дела кичменог стуба) била је заступљена код 83 од 525 (15,8%) смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Анализирано према врсти учешћа у саобраћајним незгодама, уочава се највећа заступљеност повреда кичменог стуба код сувозача моторних возила 18 од укупно 79 (22,8%), а затим код корисника двоточкаша тј. код бициклиста и мотоциклиста што је приказано у табели 24.

Учесник	Повреда кичме		Укупно (%)
	ДА (%)	НЕ (%)	
Пешаци	35 (15,9)	185 (84,1)	220 (100)
Возачи	10 (10,2)	88 (89,8)	98 (100)
Сувозачи	18 (22,8)	61 (77,2)	79 (100)
Путници	2 (6,9)	27 (93,1)	29 (100)
Бициклисти	7 (18,4)	31 (81,6)	38 (100)
Мотоциклисти	7 (21,2)	26 (78,8)	33 (100)
Мотоциклиста сувозач	3 (50,0)	3 (50,0)	6 (100)
Трактористи	1 (4,5)	21 (95,5)	22 (100)
Укупно	83 (15,8)	442 (84,2)	525 (100)

Табела 24. Повреде кичменог стуба код различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

4.10.7. Надживљавање повреда главе смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Повреде главе биле су заступљене код 339 од 525 (64,6%) смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. Од 234 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода који су надживљавали повреде одређени временски период, 172 (73,5%) је имало повреду

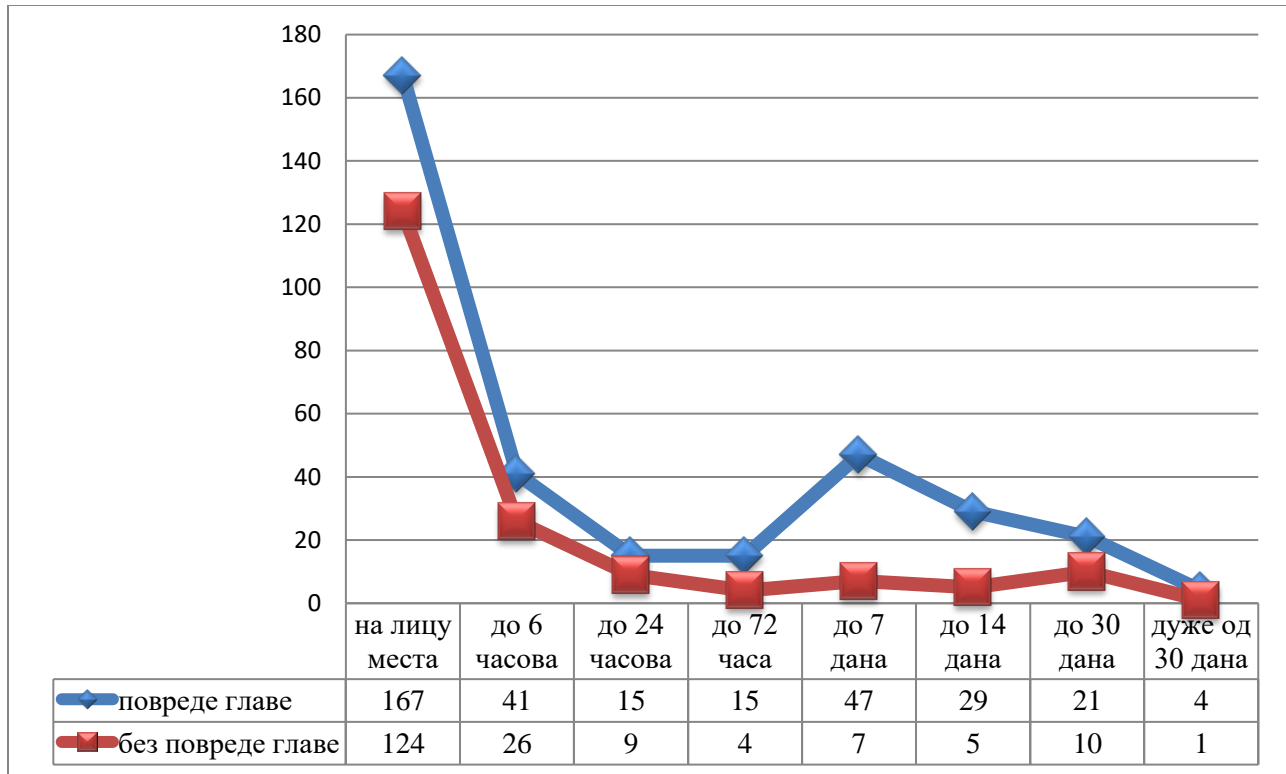
главе, док је од 291 учесника који су умрли на лицу места, 167 (57,4%) имало повреду главе (табела 25).

		Наживљавали повреде одређени период (%)	Умрли на лицу места (%)	Укупно (%)
Повреде главе	НЕ	62 (26,5)	124 (42,6)	186 (35,4)
	ДА	172 (73,5)	167 (57,4)	339 (64,6)
Укупно		234 (100)	291 (100)	525 (100)

Табела 25. Надживљавање повреда главе смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Анализирајући учеснике који су надживљавали повреде одређени временски период, статистичка значајност је уочена у већој заступљености учесника са повредом главе, у односу на учеснике који нису имали повреду главе ($\chi^2=14,203$; $df=1$; $p=0,000$).

На графикону 17 приказана је детаљна расподела надживљавања учесника након повреда главе, где је у свим временским тачкама већи број учесника саобраћајних незгода са повредом главе него других учесника, код којих није било повреда у пределу главе, што је статистички значајно ($\chi^2=27,61$; $df=7$; $p=0,000$). Након велике смртности на лицу места и у првих 24 часа, у периоду надживљавања се уочава повећан број умрлих након седам дана (14%).



Графикон 17. Приказ надживљавања смртно страдалих учесника саобраћајних незгода са и без повреда главе у односу на време.

Анализа заступљености различитих повреда главе смртно страдалих учесника саобраћајне незгоде на лицу места и оних који су надживљавали повреде одређени временски период дата је у табели 26.

Код учесника саобраћајних незгода умрлих на лицу места постојао је 12 пута већи ризик од настанка предвајања можданог стабла (OR 12,219; 95% CI 4,346-34,350) и око 6 пута већи ризик за настанак деструкције костију лобање (OR 5,985; 95% CI 1,764-20,334) или разорења мозга (OR 6,365; 95% CI 2,204-18,375). Код учесника умрлих на лицу места око 3 пута је већи ризик за настанак повреде вратне кичме (OR 2,957; 95% CI 1,729-5,056), него код осталих учесника. Код учесника саобраћајних незгода умрлих на лицу места постоји више од 2 пута већи ризик за настанак удружене повреде главе и трбуха (OR 2,117; 95% CI 1,353-3,310) или удружене повреде главе, грудног коша и трбуха (OR 2,277; 95% CI 1,429-3,629) него код осталих учесника.

Повреда главе	Наживљавали повреде	Умрли на лицу места	χ^2	р вредност	Crude OR (95% CI)
Једноструки преломи лобање	17 (70,8)	7 (29,2)	5,951	0,015	0,315 (0,128-0,772)
Вишеструки преломи лобање	119 (50,6)	116 (49,4)	5,901	0,015	0,641 (0,453-0,907)
Деструкција костију лобање	3 (12,5)	21 (87,5)	9,155	0,002	5,989 (1,764-20,334)
Преломи крова лобање	31 (83,8)	6 (16,2)	23,096	0,000	0,138 (0,056-0,337)
„Soup“ нагњечине мозга	40 (64,5)	22 (35,5)	10,423	0,001	0,397 (0,228-0,689)
„Soup“ и „conta soup“ нагњечине	105 (55,3)	85 (44,7)	13,108	0,000	0,507 (0,353-0,727)
Разорина можданог ткива	4 (12,1)	29 (87,9)	13,640	0,000	6,365 (2,204-18,375)
Нагњечине у чеоном режњу	126 (57,5)	93 (42,5)	24,664	0,000	0,403 (0,282-0,575)
Нагњечине у теменом режњу	92 (60,9)	59 (39,1)	22,032	0,000	0,393 (0,266-0,579)
Нагњечине у слепоочном режњу	99 (53,8)	85(46,2)	9,208	0,002	0,563 (0,392-0,808)
Нагњечине у потиљачном режњу	30 (61,2)	19 (38,8)	5,346	0,021	0,475 (0,260-0,868)
Нагњечина можданог стабла	36 (66,7)	18 (33,3)	10,918	0,001	0,363 (0,200-0,657)
Предвајање можданог стабла	4 (7,3)	51 (92,7)	32,930	0,000	12,219 (4,346-34,350)
Повреда вратне кичме	20 (24,1)	63 (75,9)	15,759	0,000	2,957 (1,729-5,056)
Повреда главе и трбуха	34 (30,6)	77 (69,4)	10,367	0,001	2,117 (1,353-3,310)
Повреда главе, грудног коша и трбуха	30 (29,1)	73 (70,9)	11,608	0,000	2,277 (1,429-3,629)

Табела 26. Повреде главе и време смрти смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

4.10.8. Повреде главе у саобраћајним незгодама-укупно

Присуство повреда главе (прелом костију лобање или повреда можданог ткива) код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода биле су заступљене код 339 од 525 (64,6%) учесника, што је статистички значајно ($\chi^2=161,297$; $df=1$; $p=0,000$). Код 241 од 525 учесника (45,9%) уочена је удружена повреда неког дела грудног коша и главе, док је код

111 учесника (21%) постојала удруженост повреда главе и трбуха. Најмање је била заступљена политраума у којој су били повређени глава, грудни кош и трбух (103 учесника или 19,6%). Мушкараца са повредом главе је било око 75% од укупног броја учесника. Смртно страдали учесници саобраћајних незгода код којих је дошло до повреде главе (просечна старост $51,1 \pm 19,9$ година) су млађи од учесника код којих није повређена глава (просечна старост $54,9 \pm 18,2$ година), што је статистички потврђено (t тест=2,250; $p=0,025$).

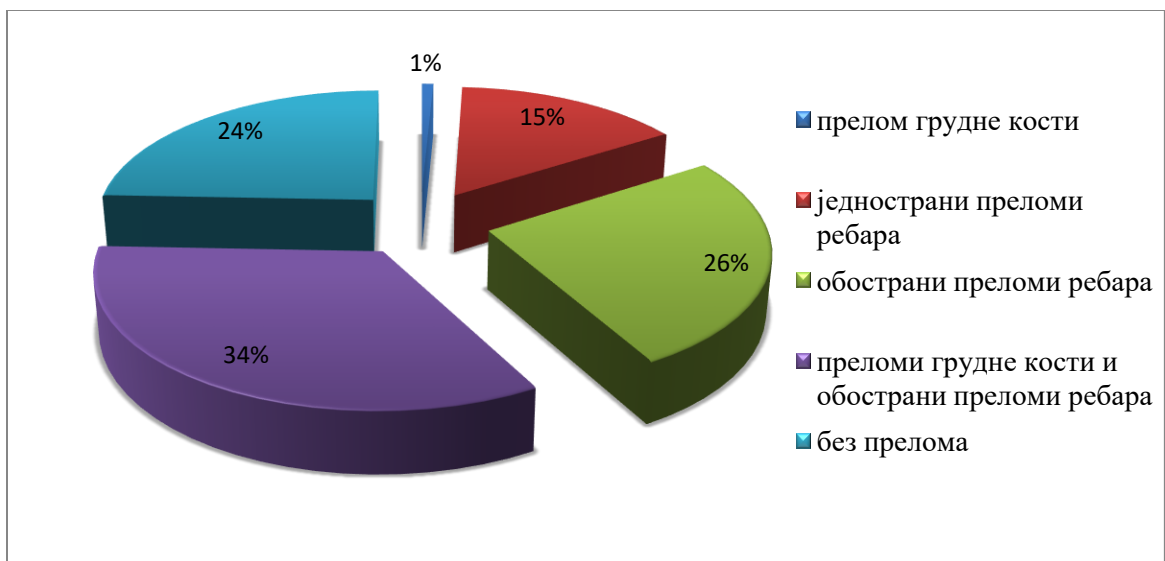
Смртно страдали пешаци са задобијеним повредама главе су били заступљени у 45,5% (154 од укупно 339 учесника са повредом главе), што је статистички значајно ($\chi^2=32,37$; $df=7$; $p=0,000$). Подједнака је расподела смртно страдалих учесника саобраћајних незгода који након повреде главе умиру на лицу места (49,3%) и надживљавају повреде (50,7%).

Повреде главе као једини узрок смрти биле су присутне код 45,3% смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. У случајевима политрауме, конкурентни узроци смрти су најчешће биле удружене повреде главе и искрварења услед повреда грудног коша (5,1% учесника). Повреде главе су водећи узрок смрти скоро свих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода и присутне су код више од половине настрадалих учесника (изузетак су сувозачи моторних возила и возачи трактора).

4.11. Карактеристике повреда грудног коша смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама

4.11.1. Преломи костију грудног коша смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

У посматраном узорку од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, код 397 (75,6%) учесника је уочен прелом неке од костију грудног коша (ребра или грудна кост). Најчешће је био присутан прелом грудне кости удружен са обостраним преломима ребара. Детаљна расподела прелома костију грудног коша је приказана на графикану 18.



Графикон 18. Дистрибуција прелома костију грудног коша смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

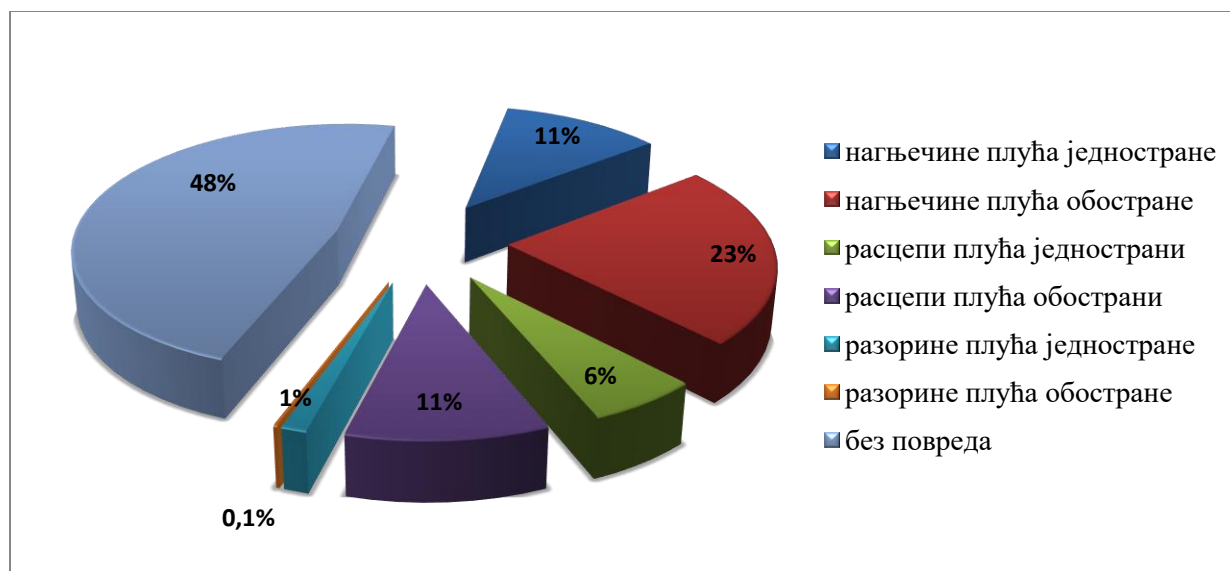
Преломи костију грудног коша су били заступљени у великом проценту код свих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, што је детаљно приказано у табели 27. Дистрибуција прелома костију грудног коша између смртно страдалих учесника саобраћајних незгода није статистички значајна.

Учесник	Прелом неке кости		Укупно (%)
	ДА (%)	НЕ (%)	
Пешаци	172 (78,2)	48 (21,8)	220 (100)
Возачи	78 (79,6)	20 (20,4)	98 (100)
Сувозачи	62 (78,5)	17 (21,5)	79 (100)
Путници	20 (69,0)	9 (31,0)	29 (100)
Бициклисти	25 (65,8)	13 (34,2)	38 (100)
Мотоциклисти	19 (57,6)	14 (42,4)	33 (100)
Мотоциклиста сувозач	3 (50,0)	3 (50,0)	6 (100)
Трактористи	18 (81,8)	4 (18,2)	22 (100)
Укупно	397 (75,6)	128 (24,4)	525 (100)

Табела 27. Расподела прелома костију грудног коша различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

4.11.2. Повреде ткива плућа смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Повреде плућног ткива смо ради јасније анализе разврстали на: нагњечине, расцепе и разорине, а посматрали смо их у зависности да ли су једнострано или обострано присутне. Детаљан приказ дистрибуције повреда плућног ткива у целом узорку од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода је на графикону 20.



Графикон 20. Дистрибуција повреда плућног ткива смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Удруженост различитих повреда ткива плућа и прелома ребара приказана је у табели 28. Од свих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода код којих је дошло до прелома неког ребра (397), код 75,34% тј. три четвртине учесника констатоване су повреде ткива плућа. Показана је статистичка значајност удружености повреда ткива плућа и прелома ребара ($\chi^2=109,56$; $df=6$; $p=0,000$). У случајевима одсуства прелома ребара, повреде ткива плућа су биле присутне у само 16 случајева, што чини 5,82% од свих повреда ткива плућа.

Повреде	Прелом ребара		Укупно
	ДА	НЕ	
Нагњечине плућа једностране	52	7	59
Нагњечине плућа обостране	117	5	122
Расцени плућа једнострани	30	1	31
Расцени плућа обострани	52	3	55
Разорине плућа једностране	7	-	7
Разорине плућа обостране	1	-	1
Без повреде плућног ткива	138	112	250
Укупно	397	128	525

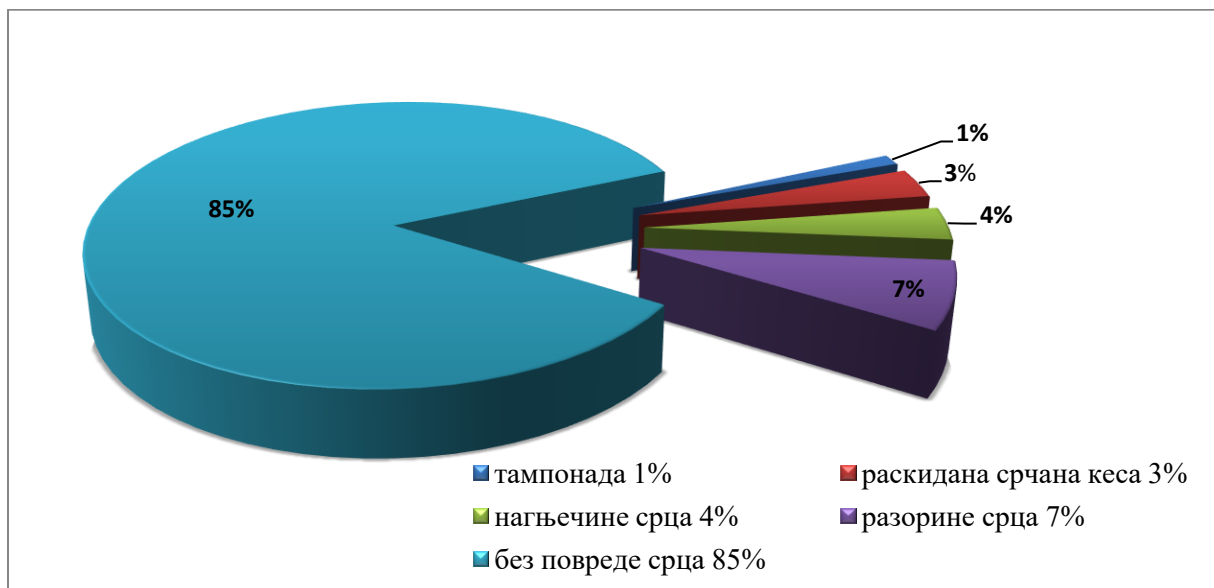
Табела 28. Удруженост различитих повреда ткива плућа и прелома ребара код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Није показана статистички значајна разлика у присуству повреда ткива плућа у односу на врсту учешћа у саобраћајним незгодама.

Користећи статистичке методе, показано је да постоји значајна разлика у присуству обостраних расцепа ткива плућа код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода ($\chi^2=14,87$; $df=7$; $p=0,038$), па тако код сувозача моторних возила су обострани расцепи ткива плућа најчешће присутни у 30,9% (17 од 79 сувозача), што је статистички значајније у односу на остале учеснике ($\chi^2=12,09$; $df=1$; $p=0,001$).

4.11.3. Повреде срца смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Ради лакше анализе, повреде срца смо посматрали као нагњечине срца, разорине срца, тампонаду и раскидану срчану кесу. Посматрајући цео узорак од 525 учесника, повреде срца су биле заступљене код 81 (15%) смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. Детаљан приказ дистрибуције повреда срца је на графикону 20.



Графикон 20. Дистрибуција повреда срца код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

У табели 29 је приказана расподела повреда срца код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, при чему постоји статистичка значајност у присуству повреда међу различитим учесницима ($\chi^2=23,90$; $df=7$; $p=0,001$). Најчешће повреде срца су заступљене код возача моторних возила 25 (30,9% од укупно 81 случајева повреда срца) што је статистички значајно у односу на укупан број повреда срца ($\chi^2=8,46$; $df=1$; $p=0,004$). Код пешака и сувозача моторних возила повреде срца су биле заступљене у по 23,5% (19 од 81 случајева повреде срца), што је статистички значајно. Детаљна расподела и резултати χ^2 теста су такође приказани у табели 29.

Учесник	Поведа срца		χ^2 тест	df	p вредност	Укупно
	ДА (%)	НЕ (%)				
Пешаци	19 (23,5)	201 (45,3)	12,51	1	0,000	220
Возачи	25 (30,9)	73 (16,4)	8,46	1	0,004	98
Сувозачи	19 (23,5)	60 (13,5)	4,55	1	0,033	79
Путници	5 (6,2)	24 (5,4)	0,00	1	0,989	29
Бициклисти	2 (2,4)	36 (8,2)	2,46	1	0,117	38
Мотоциклисти	5 (6,2)	28 (6,3)	0,00	1	1,000	33
Мотоциклиста сувозач	1 (1,1)	5 (1,1)	0,00	1	1,000	6
Трактористи	5 (6,2)	17 (3,8)	0,45	1	0,505	22
Укупно	81 (100)	444 (100)	23,90	7	0,001	525

Табела 29. Расподела повреда срца смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

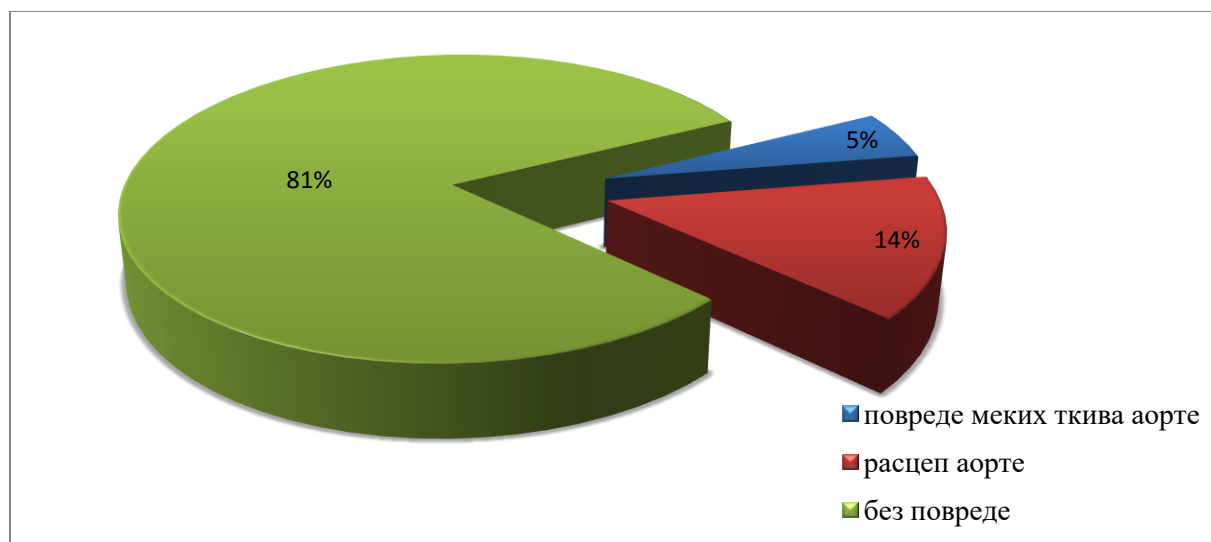
Повреде срца су често удружене са другим повредама грудног коша, што је приказано детаљно са вредностима χ^2 теста у табели 30. Удружене повреде срца и преломи ребара, удружене повреде срца и ткива плућа, удружене повреде срца и аорте, удружене повреде срца и грудног дела кичме и удружене повреде срца и присуство пнеумоторакса су статистички значајне.

		Повреде срца		Укупно	χ^2 тест	df	p вредност
		ДА	НЕ				
Преломи Ребара	ДА	78	319	397	20,91	1	0,000
	НЕ	3	125	128			
Повреде тквива плућа	ДА	70	205	275	42,89	1	0,000
	НЕ	11	239	250			
Повреде аорте	ДА	55	47	102	140,12	1	0,000
	НЕ	26	397	423			
Повреде грудне кичме	ДА	22	68	90	5,96	1	0,015
	НЕ	59	376	435			
Пнеумоторакс	ДА	30	61	91	24,35	1	0,000
	НЕ	51	383	434			

Табела 30. Удруженост повреда срца и различитих повреда грудног коша смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

4.11.4. Повреде аорте смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Повреде аорте смо ради јасније анализе посматрали као: расцепе аорте и повреде меких ткива аорте. Посматрајући цео узорак од 525 учесника, повреде аорте су биле заступљене код 102 (19,4%) смртно страдала учесника саобраћајних незгода. Детаљан приказ дистрибуције повреда аорте је на графикону 21.



Графикон 21. Дистрибуција повреда аорте према врсти код смртно страдалих учесника саобраћајне незгоде.

У табели 31 је приказана расподела повреда аорте код различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, при чему је показана статистичка значајност у присуству повреда међу учесницима ($\chi^2=40,93$; $df=7$; $p=0,000$).

Учесник	Поведа аорте		χ^2 тест	df	p вредност	Укупно (%)
	ДА (%)	НЕ (%)				
Пешаци	21 (20,6)	199 (47)	22,56	1	0,000	220
Возачи	28 (27,5)	70 (16,5)	5,74	1	0,017	98
Сувозачи	30 (29,4)	49 (11,6)	19,06	1	0,000	79
Путници	6 (5,9)	23 (5,4)	0,00	1	1,000	29
Бициклисти	3 (2,9)	35 (8,3)	2,73	1	0,098	38
Мотоциклисти	9 (8,8)	24 (5,7)	0,90	1	0,342	33
Мотоциклиста сувозач	1 (1,0)	5 (1,2)	0,00	1	1,000	6
Трактористи	4 (3,9)	18 (4,3)	0,00	1	1,000	22
Укупно	102 (100)	423 (100)	40,93	7	0,000	525

Табела 31. Расподела повреда аорте код различитих смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама.

Повреде аорте су у највећем броју заступљене код сувозача моторних возила 30 (29,4% од укупно 102 случаја повреде аорте) што је статистички значајно у односу на укупан број повреда ($\chi^2=19,06$; $df=1$; $p=0,000$). Статистичка значајност у броју повреда је присутна код возача моторних возила код којих је у 28 случаја (27,5% од укупно 102 случаја) настала повреда аорте ($\chi^2=5,74$; $df=1$; $p=0,017$) и код пешака код којих је у 21 случај (20,6% од укупно 102 случаја) настала повреда аорте ($\chi^2=22,56$; $df=1$; $p=0,000$).

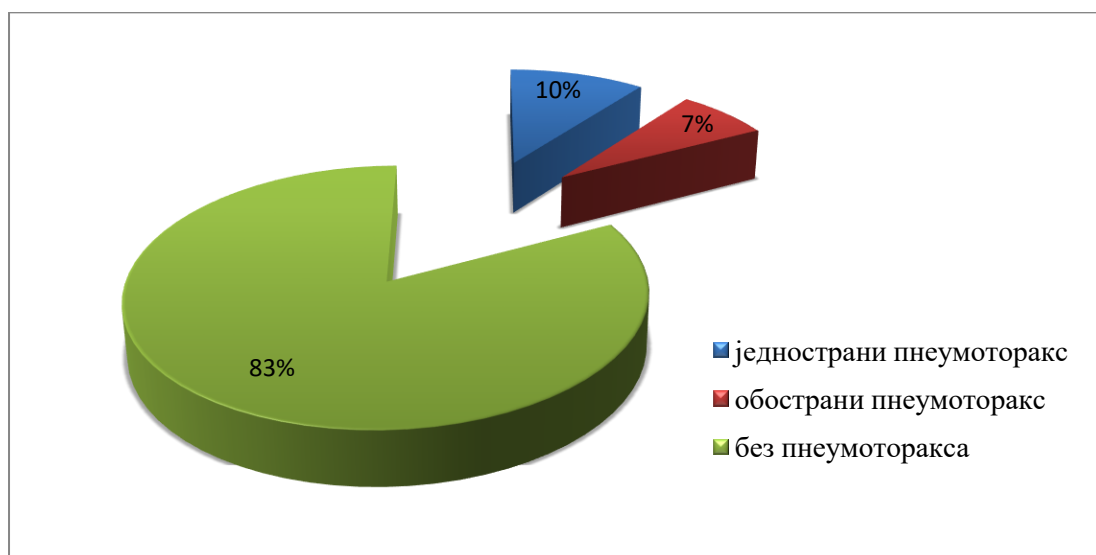
Статистичка значајност удружености повреда аорте и других повреда грудног коша приказана је у табели 32.

		Повреде аорте		Укупно	χ^2 тест	df	p вредност
		ДА	НЕ				
Преломи ребара	ДА	99	298	397	30,14	1	0,000
	НЕ	3	125	128			
Повреде ткива плућа	ДА	81	194	275	35,75	1	0,000
	НЕ	21	229	250			
Повреде грудне кичме	ДА	26	64	90	5,50	1	0,019
	НЕ	76	359	435			
Пнеумоторакс	ДА	38	53	91	33,36	1	0,000
	НЕ	64	370	434			

Табела 32. Удруженост повреда аорте и других повреда грудног коша код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

4.11.5. Присуство пнеумоторакса код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Присуство пнеумоторакса констатовано је код 17,3% смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, и то као једностранни пнеумоторакс 54 (10% од укупно 525 смртно страдалих учесника) или обострани пнеумоторакс 37 (7,3% од укупно 525 смртно страдалих учесника), што је детаљно приказано на графикону 22.

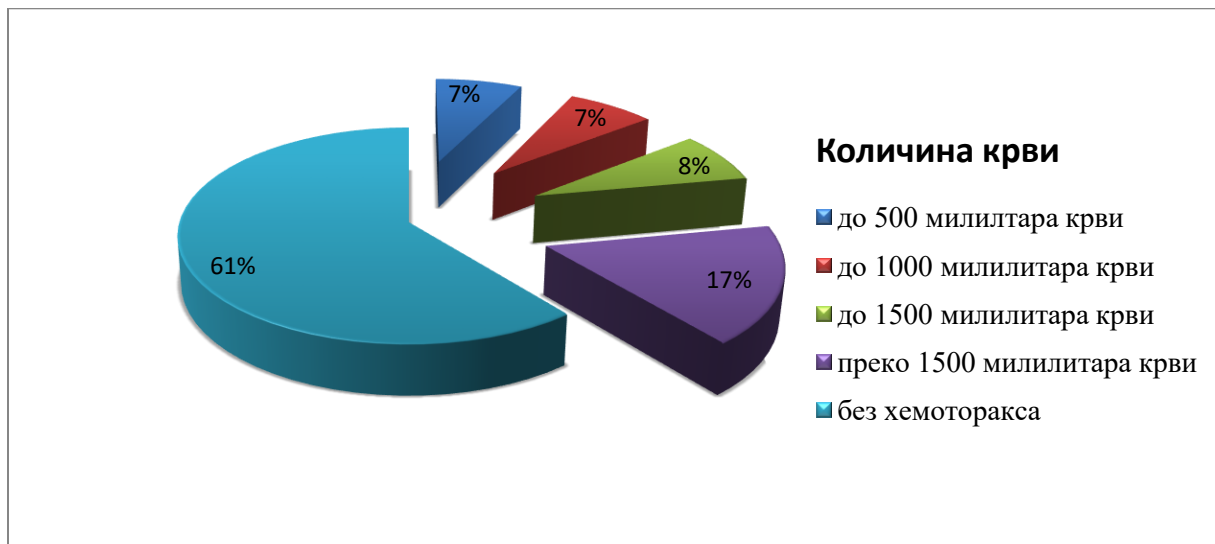


Графикон 22. Дистрибуција присуства пнеумоторакса код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Посматрајући присуство пнеумоторакса код различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, уочено је да не постоји статистичка значајност између учесника.

4.11.6. Присуство хемоторакса код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

У целокупном узорку од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, присуство крви у грудној дупљи је констатовано код око 40% смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. На графикону 23 приказана је дистрибуција присуства хемоторакса према количини крви у грудној дупљи.



Графикон 23. Дистрибуција хемоторакса у односу на количину крви у грудној дупљи код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

У табели 33 је приказано присуство хемоторакса код различитих учесника саобраћајних незгода, при чему постоји статистичка значајност у броју присуства хемоторакса међу различитим учесницима ($\chi^2=34,73$; $df=7$; $p=0,000$). Хемоторакс је најчешће заступљен код пешака у 31,6% (65 од укупно 206 случајева), ($\chi^2=14,23$; $df=1$; $p=0,000$) и код возача моторних возила у 25,2% (52 од укупно 206 случајева), ($\chi^2=8,96$; $df=1$; $p=0,003$), а статистичка значајност је присутна и код сувозача моторних возила са 21,4% (44 од укупно 206 случајева), ($\chi^2=9,77$; $df=1$; $p=0,002$).

Учесник	Хемоторакс		χ^2 тест	df	р вредност	Укупно (%)
	ДА (%)	НЕ (%)				
Пешаци	65 (31,6)	155 (48,6)	14,23	1	0,000	220
Возачи	52 (25,2)	46 (14,4)	8,96	1	0,003	98
Сувозачи	44 (21,4)	35 (11)	9,77	1	0,002	79
Путници	8 (3,9)	21 (6,6)	1,269	1	0,260	29
Бициклисти	9 (4,4)	29 (9,1)	3,48	1	0,062	38
Мотоциклисти	17 (8,3)	16 (5)	1,71	1	0,191	33
Мотоциклиста сувозач	1 (0,5)	5 (1,6)	0,52	1	0,473	6
Трактористи	10 (4,9)	12 (3,8)	0,15	1	0,699	22
Укупно	206 (100)	319 (100)	34,73	7	0,000	525

Табела 33. Расподела хемоторакса код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Статистичка значајност удружености хемоторакса и различитих повреда грудног коша је детаљно приказана у табели 34.

		Хемоторакс		Укупно	χ^2 тест	df	р вредност
		ДА	НЕ				
Преломи ребара	ДА	203	194	397	94,61	1	0,000
	НЕ	3	125	128			
Повреде ткива плућа	ДА	179	96	275	159,62	1	0,000
	НЕ	27	223	250			
Повреде срца	ДА	71	10	81	91,78	1	0,000
	НЕ	135	309	444			
Повреде аорте	ДА	95	7	102	151,46	1	0,000
	НЕ	111	312	423			
Повреде грудне кичме	ДА	55	35	90	20,70	1	0,000
	НЕ	151	284	435			
Пнеумоторакс	ДА	85	6	91	132,74	1	0,000
	НЕ	121	313	434			

Табела 34. Удруженост хемоторакса и различитих повреда грудног коша код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

4.11.7. Надживљавање повреда грудног коша смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Повреда неког дела грудног коша код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода била је заступљена код 408 (77,7%) од укупно 525 учесника. Од 234 (44,6% од укупно 525 учесника) смртно страдалих учесника саобраћајних незгода који су надживљавали повреде одређени временски период, код 163 (69,7%) је уочено присуство повреде неког дела грудног коша, док је од 291 (55,4% од укупно 525 учесника) смртно страдалих учесника који су умрли на лицу места, чак 245 (84,2%) имало повреду неког дела грудног коша. Детаљи надживљавања повреда грудног коша смртно страдалих учесника саобраћајних незгода су приказани у табели 35.

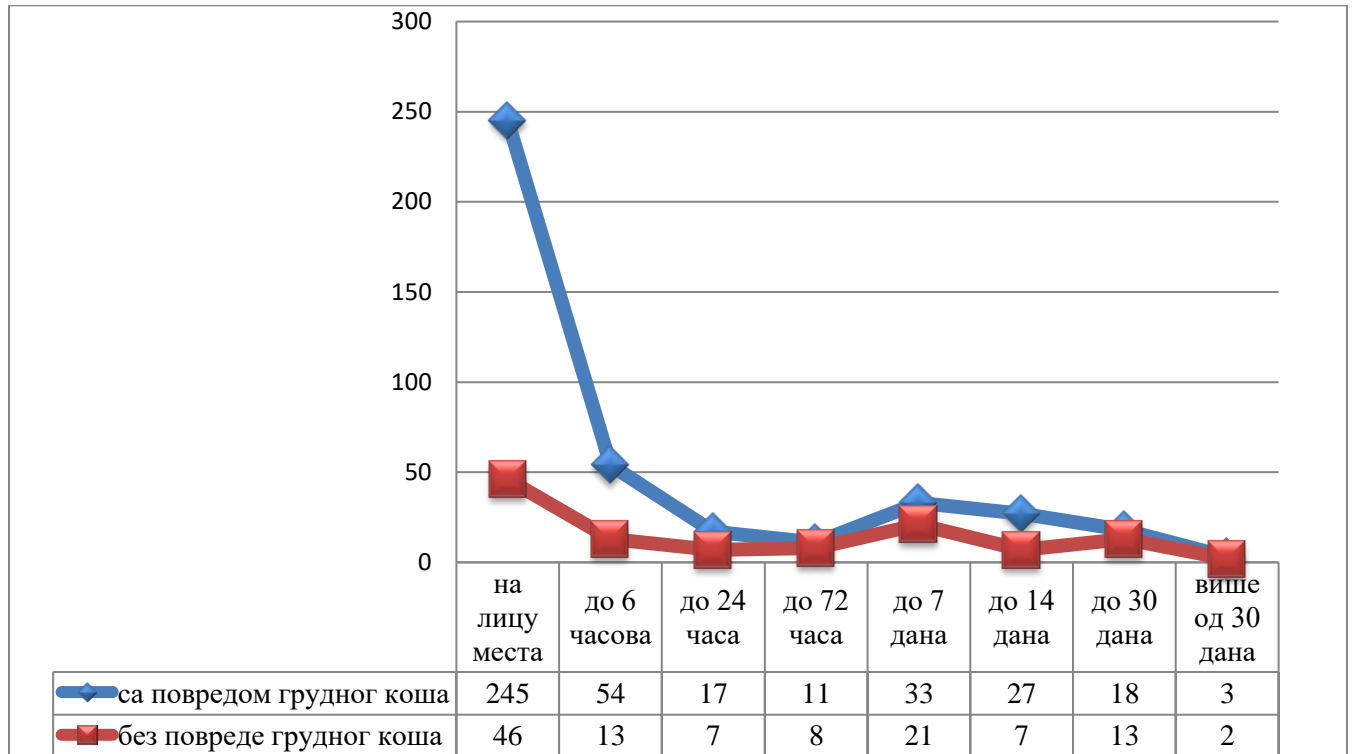
		Надживљавали повреде неки период (%)	Умрли на лицу места (%)	Укупно (%)
Повреде грудног коша	НЕ	71 (30,3)	46 (15,8)	117 (22,3)
	ДА	163 (69,7)	245 (84,2)	408 (77,7)
Укупно		234 (100)	291 (100)	525 (100)

Табела 35. Надживљавање повреда грудног коша смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Уочена је статистички значајна разлика између учесника са повредом неког дела грудног коша који чешће умиру на лицу места, него код учесника саобраћајних незгода који надживљавају повреде ($\chi^2=14,99$; $df=1$; $p=0,000$).

На графикону 24 приказана је детаљна расподела надживљавања учесника саобраћајних незгода након повреда грудног коша и учесника код којих није било повреда грудног коша. Учесници са повредама грудног коша су у највећем броју умрли на лицу

места и у првих 6 часова од повређивања. Број смртно страдалих учесника након повреда грудног коша је у свим временским тачкама био већи од броја смртно страдалих учесника код којих није било повреда грудног коша, што је статистички значајно ($\chi^2=28,81$; $df=7$; $p=0,000$).



Графикон 24. Приказ надживљавања смртно страдалих учесника саобраћајних незгода са и без повреда грудног коша у односу на време.

Резултати добијени анализом присуства различитих повреда грудног коша у две групе смртно страдалих у саобраћајним незгодама: они који су умирили на лицу места и они који су надживљавали повреде одређени временски период, показују значај појединих повреда у настанку смртног исхода на лицу места саобраћајне незгоде. Статистички значајне повреде грудног коша приказане су у табели 36.

Повреда	Наживљавали повреде	Умрли на лицу места	χ^2	р вредност	Crude OR (95% CI)
Тампонада	-	6 (100)	3,226	0,027	
Раскидана срчана кеса	3 (17,6)	14 (82,4)	4,090	0,043	3,892 (1,105-13,708)
Разорине срца	-	39 (100)	29,173	0,000	
Повреде меких ткива аорте	12 (11,8)	90 (88,2)	53,515	0,000	8,284 (4,404-15,582)
Руптура аорте	8 (10,5)	68 (89,5)	40,096	0,000	8,614 (4,046-18,339)
Једнострани пнеумоторакс	8 (14,8)	46 (85,2)	20,251	0,000	5,304 (2,450-11,481)
Обострани пнеумоторакс	7 (18,9)	30 (81,1)	9,515	0,002	3,727 (1,606-8,649)
Хемоторакс	46 (22,3)	160 (77,7)	66,410	0,000	4,992 (3,357-7,421)
Обостране нагњечине плућа	41 (33,6)	81 (66,4)	7,167	0,007	1,816 (1,189-2,773)
Обострани расцеп плућа	10 (18,2)	45(81,8)	16,145	0,000	4,098 (2,017-8,324)
Обострани преломи ребара	114 (36,5)	198 (63,5)	19,293	0,000	2,241 (1,571-3,198)
Обострани преломи ребара и грудне кости	57 (32,4)	119 (67,6)	15,178	0,000	2,148 (1,471-3,139)
Прелом грудне кичме	14 (22,6)	48 (77,4)	12,771	0,000	3,104 (1,665-5,786)
Прелом 1 или више ребра	161 (40,6)	236 (59,4)	9,980	0,002	1,946 (1,300-2,912)
Повреда неког дела грудног коша	163 (40,0)	245 (60,0)	14,992	0,000	2,320 (1,523-3,533)
Повреда грудног коша, главе и трбуха	30 (29,1)	73 (70,9)	11,608	0,001	2,277 (1,429-3,629)
Повреда грудног коша и трбуха	60 (31,9)	128 (68,1)	18,20	0,000	2,277 (1,567-3,309)

Табела 36. Повреде грудног коша и време смрти смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Код учесника код којих је констатовано разорење и тампонада срца, смртни исход је настао на лицу места саобраћајне незгоде.

Код учесника саобраћајних незгода који су умрли на лицу места постојао је више од 2 пута већи ризик за настанак повреде грудног коша (OR 2,320; 95% CI 1,523-3,533) или удружене повреде грудног коша, главе и трбуха (OR 2,277; 95% CI 1,429-3,629) него код осталих учесника. Код учесника умрлих на лицу места више од 8 пута је већи ризик за настанак руптуре аорте (OR 8,614; 95% CI 4,046-18,339), а око 5 пута већи за настанак пнеумоторакса (OR 5,304; 95% CI 2,450-11,481) и хемоторакса (OR 4,992; 95% CI 3,357-

7,421) него код осталих учесника који су надживљавали повреде одређени временски период.

4.11.8. Повреде грудног коша у саобраћајним незгодама-укупно

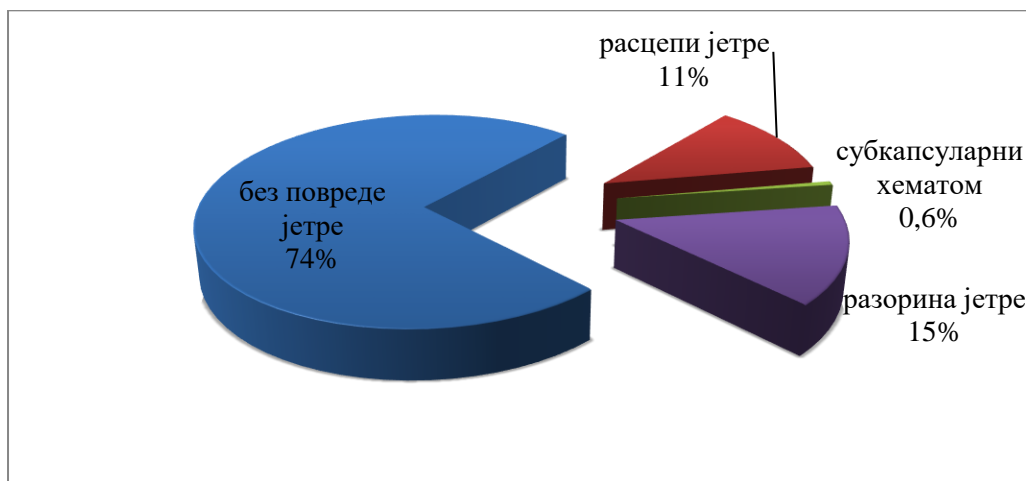
Повреда неког дела грудног коша код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода била је заступљена код 408 (77,7%) од укупно 525 учесника, што је статистички значајно ($\chi^2=44,589$; $df=1$; $p=0,000$). Код 241 од 525 учесника (45,9%) уочена је удружена повреда неког дела грудног коша и главе, док је код 188 учесника (35,8%) постојала удруженост повреда грудног коша и трбуха. Најмање је била заступљена политраума у којој су били повређени глава, грудни кош и трбух (103 учесника или 19,6%). Око 3/4 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода са констатованом повредом грудног коша је мушког пола. Смртно страдали учесници саобраћајних незгода код којих је дошло до повреде неког дела грудног коша (просечна старост $53,8\pm 18,6$ година) су старији од учесника код којих није повређен грудни кош (просечна старост $47,6\pm 21,3$ година), што је статистички потврђено (t тест= $-2,486$; $p=0,005$). Повреда неког дела грудног коша је најчешће била присутна код тракториста у 91% случајева (20 од 22), код возача у 83% (81 од 98), сувозача у 80% (63 од 79), а код пешака у 78% (172 од 220). Учесници са повредом неког дела грудног коша чешће умиру на лицу места (60%), него што надживљавају повреде (40%) што је статистички значајно ($\chi^2=14,99$; $df=1$; $p=0,000$).

Поремећај дисања због серијских прелома ребара као једини узрок смрти био је присутан код 9,1% учесника, искрварење због трауматске руптуре грудног дела аорте код 8% учесника, док је разорење срца евидентирано код 2,7% смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. У случајевима политрауме, конкурентни узроци смрти су најчешће биле удружене повреде главе и искрварења услед повреда грудног коша (5,1% учесника); повреда главе и поремећај дисања (3,6% учесника) или прелом вратне кичме и руптура аорте (1% учесника).

4.12. Карактеристике повреда трбуха смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама

4.12.1. Повреде јетре смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Повреде јетре су констатоване код 138 (26,3%) од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. Најчешће повреде су биле разорине јетре (код 77 или 14,7% учесника) и расцепи јетре који су били присутни код 58 (11%) свих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. Субкапсуларни хематоми констатовани су код свега 3 учесника. Детаљан приказ дистрибуције повреда јетре смртно страдалих учесника саобраћајних незгода је на графикону 25.



Графикон 25. Дистрибуција повреда јетре смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

У табели 37 је приказана учесталост повреда јетре код различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, при чему постоји статистичка значајност у присуству повреда између учесника ($\chi^2=21,824$; $df=7$; $p=0,003$). Код сувозача моторних

возила је најучесталија повреда јетре и износи 38% (од укупно 79 сувозача), у односу на друге учеснике саобраћајних незгода, што је статистички значајно ($\chi^2=5,867$; $df=1$; $p=0,015$). Код бициклиста је повреда јетре присутна у најмањем броју ($\chi^2=8,211$; $df=1$; $p=0,004$), што је статистички значајније у односу на остале учеснике.

Учесник	Поведа јетре		Укупно (%)
	ДА (%)	НЕ (%)	
Пешаци	51 (23,2)	169 (76,8)	220 (100)
Возачи	32 (32,7)	66 (67,3)	98 (100)
Сувозачи	30 (38,0)	49 (62,0)	79 (100)
Путници	4 (13,8)	25 (86,2)	29 (100)
Бициклисти	2 (5,3)	36 (94,7)	38 (100)
Мотоциклисти	9 (27,3)	24 (72,7)	33 (100)
Мотоциклиста сувозач	3 (50,0)	3 (50,0)	6 (100)
Трактористи	7 (31,8)	15 (68,2)	22 (100)
Укупно	138 (26,3)	387 (73,7)	525 (100)

Табела 37. Расподела повреда јетре различитих учесника саобраћајних незгода.

У 2/3 случајева када је повређена слезина, постојала је удружена повреде јетре (од 106 случаја повреда слезине, у 72 случаја је истовремено била повређена и јетра), што је статистички значајно ($\chi^2=116,166$; $df=1$; $p=0,000$). Повреда бубрега истовремено са повредом јетре уочена је у преко 70% (од 34 случаја повреда бубрега, у 25 случаја је истовремено била повређена и јетра), што је статистички значајно ($\chi^2=39,310$; $df=1$; $p=0,000$). Статистички су значајне и удружене повреде мокраћне бешике и јетре, као и црева и јетре, што је детаљно са резултатима χ^2 -теста приказано у табели 38. Једино удружена повреда слабинског дела кичме и јетре није показала статистичку значајност.

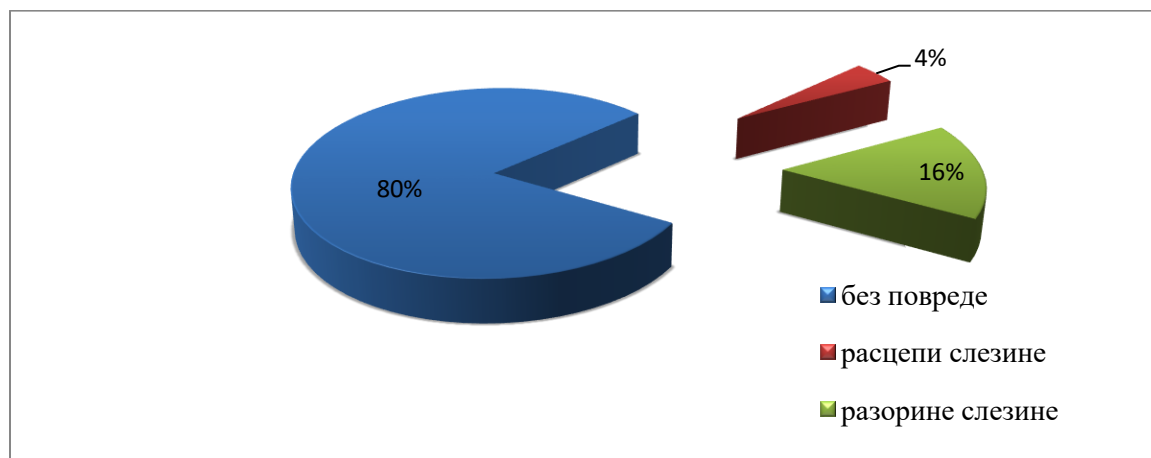
		Повреда јетре		Укупно	χ^2 тест	df	p вредност
		ДА	НЕ				
Повреда слезине	ДА	72 (13,7)	34 (6,5)	106 (20,2)	116,166	1	0,000
	НЕ	66 (12,6)	353 (67,2)	419 (79,8)			
Повреда бубрега	ДА	25 (4,8)	9 (1,7)	34 (6,5)	39,310	1	0,000
	НЕ	113 (21,5)	378 (72,0)	491 (93,5)			
Повреда бешике	ДА	19 (3,6)	10 (1,9)	29 (5,5)	22,286	1	0,000
	НЕ	119 (22,7)	377 (71,8)	496 (94,5)			
Повреда црева	ДА	54 (10,3)	39 (7,4)	93 (17,7)	57,930	1	0,000
	НЕ	84 (16,0)	348 (66,3)	432 (82,3)			
Повреда слабинске кичме	ДА	4 (0,8)	9 (1,7)	13 (2,5)	0.003	1	0.958
	НЕ	134 (25,5)	378 (72,0)	512 (97,5)			

Табела 38. Удруженост повреда јетре и повреда осталих трбушних органа смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Анализирајући надживљавање повреда, доказана је статистичка значајност у присуству повреда јетре и настанку смртог исхода на лицу места. Расцеп јетре је присутан код 45 (77,6%) учесника саобраћајних незгода који су умрли на лицу места ($\chi^2=11,969$; $df=1$; $p=0,001$), а ризик да учесници који су умрли на лицу места задобију расцеп јетре је око 3 пута већи него код осталих учесника (OR 3,110; 95% CI 1,634-5,917; $p=0,001$). Разорење јетре је било присутно код 61 (79,2%) учесника саобраћајних незгода који су умрли на лицу места ($\chi^2=19,562$; $df=1$; $p=0,000$), а ризик да учесници који су умрли на лицу места имају разорину јетре је више од 3 пута већа него код осталих учесника (OR 3,614; 95% CI 2,022-6,460; $p=0,000$).

4.12.2. Повреде слезине смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

У укупном узорку од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, код око 20% констатована је повреда слезине. Разорина слезине је била присутна код 85 (16% од укупно 525 смртно страдалих учесника) учесника, а расцепи код 21 (4% од укупно 525 смртно страдалих учесника). Дистрибуција повреда слезине смртно страдалих учесника саобраћајних незгода приказана је на графикону 26.



Графикон 26. Дистрибуција повреда слезине смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Показано је да постоји статистичка значајност у присуству повреда слезине између различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода ($\chi^2=18,388$; $df=7$; $p=0,010$).

Код сувозача моторних возила је повреда слезине најучешћа 31,6% (код 25 од укупно 79 сувозача је присутна повреда слезине), у односу на друге учеснике саобраћајних незгода, што је статистички значајно ($\chi^2=6,759$; $df=1$; $p=0,009$). Расподела повреда слезине различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода је приказана у табели 39.

Учесник	Повреда слезине		Укупно (%)
	ДА (%)	НЕ (%)	
Пешаци	33 (15,0)	187 (85,0)	220 (100)
Возачи	27 (27,6)	71 (72,4)	98 (100)
Сувозачи	25 (31,6)	54 (68,4)	79 (100)
Путници	3 (10,3)	26 (89,7)	29 (100)
Бициклисти	4 (10,5)	34 (89,5)	38 (100)
Мотоциклисти	8 (24,2)	25 (75,8)	33 (100)
Мотоциклиста сувозач	2 (33,3)	4 (66,7)	6 (100)
Трактористи	4 (18,2)	18 (61,8)	22 (100)
Укупно	106 (20,2)	419 (79,8)	525 (100)

Табела 39. Расподела повреда слезине различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

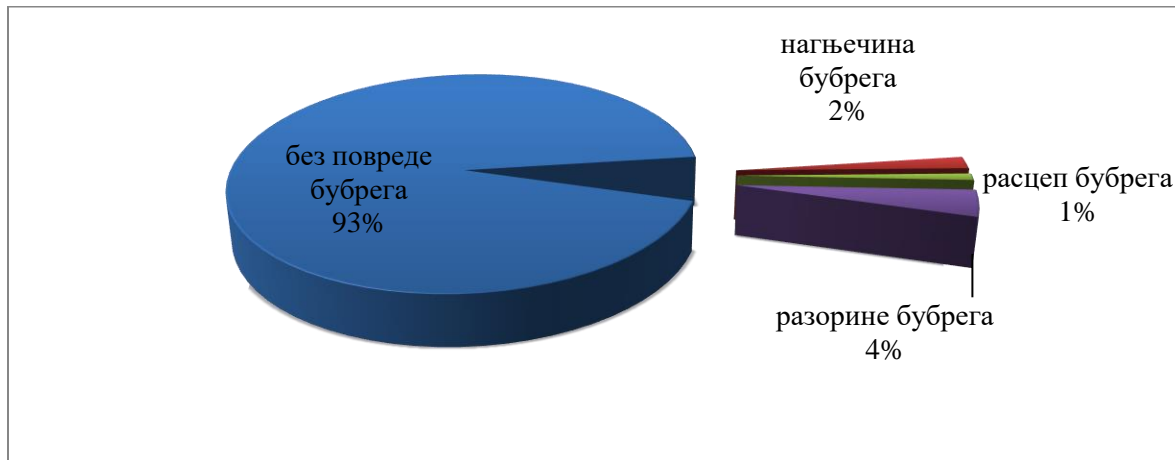
Расцеп слезине је констатован код 21 смртно страдалог учесника саобраћајних незгода, при чему је 19 од 21 (90,5%) учесника умрло на лицу места, што је показало статистичку значајност ($\chi^2=9,449$; $df=1$; $p=0,002$).

Учесници саобраћајних незгода умрли на лицу места имају око 8 пута већи ризик за настанак расцепа слезине него остали учесници (OR 8,103; 95% CI 1,868-35,154; $p=0,005$).

4.12.3. Повреде бубрега, мокраћне бешике и црева смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Ради лакше анализе повреде бубрега смо посматрали као: нагњечине бубрега, расцпе бубрега и разорине бубрега. Повреде бубрега су у целом узорку од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода констатоване код 34 (7%) учесника.

Разорине бубрега су биле најчешће присутне код 20 од 525 (3,8%), нагњечине бубрега код 9 од 525 (1,7%), а расцепи бубрега су били у најмањем броју присутни код 5 од 525 (1%) смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. Детаљна дистрибуција повреда бубрега смртно страдалих учесника саобраћајних незгода приказана је на графикону 27.

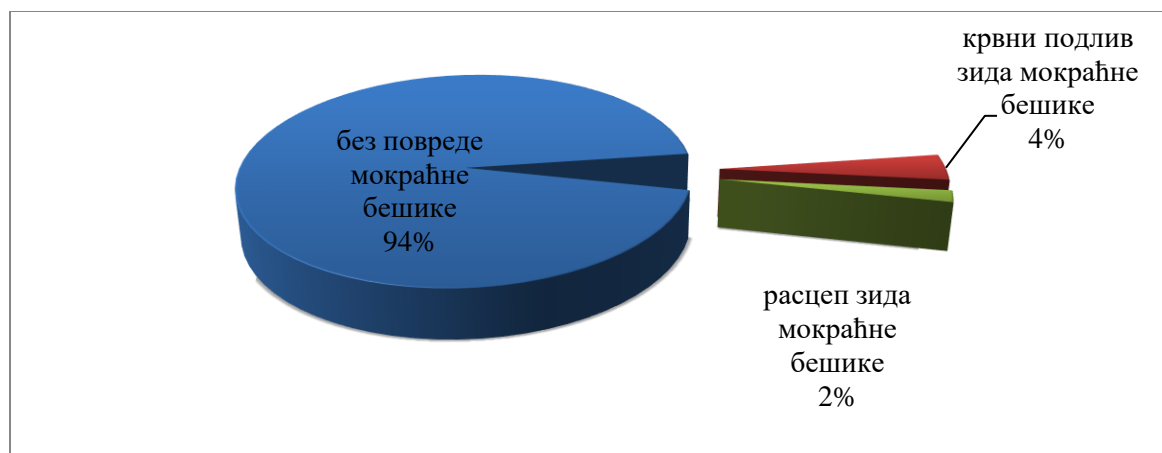


Графикон 27. Дистрибуција повреда бубрега смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Присуство повреда бубрега код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода у односу на време смрти, није показала статистичку значајност.

Повреде мокраћне бешике су у целом узорку од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода констатоване код 29 (6%) учесника. Најчешће је био присутан само крвни подлив зида мокраћне бешике 20 од 525 (3,8%), док су расцепи зида мокраћне бешике били присутни у свега 9 случајева.

Детаљна дистрибуција повреда мокраћне бешике смртно страдалих учесника саобраћајних незгода приказана је на графикону 28.

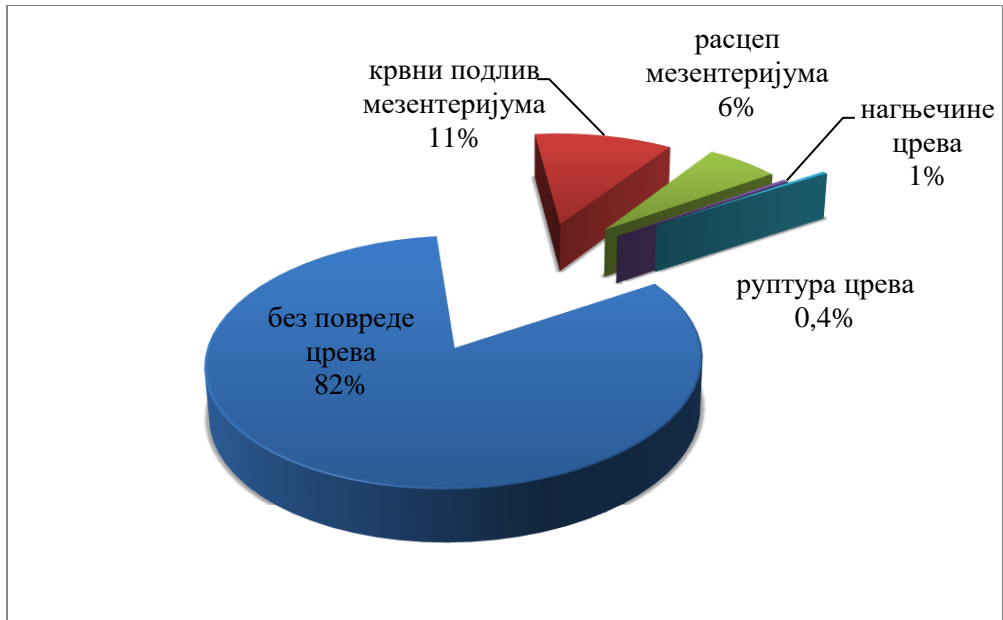


Графикон 28. Дистрибуција повреда мокраћне бешике смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Присуство повреда мокраћне бешике код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода у односу на време смрти, није показала статистичку значајност.

Ради лакше анализе повреде црева смо посматрали као: крвне подливе мезентеријума, расцпе мезентеријума, нагњечење црева и руптуре црева. У целом узорку од 525 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода повреде црева су констатоване код 93 од 525 (18%) учесника.

Најчешће повреде су биле локализоване на мезентеријуму у виду крвних подлива код 58 од 525 (11%) или у виду расцепа мезентеријума код 31 од 525 (5.9%) учесника. Нагњечине црева и руптуре црева су биле заступљене у знатно мањем броју. На графикону 29 је приказана дистрибуција повреда црева смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.



Графикон 29. Дистрибуција повреда црева смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

Учесници саобраћајних незгода са повредама црева чешће умиру на лицу места него што надживљавају повреде ($\chi^2=6,344$; $df=1$; $p=0,012$), а ризик да учесници који су умрли на лицу места имају повреду црева је око 2 пута већи него код осталих учесника (OR 1,879; 95% CI 1,170-3,018; $p=0,009$).

У зависности од врсте смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, повреде бубрега, мокраћне бешике и црева нису показале статистичку значајност.

Детаљна расподела повреда бубрега, мокраћне бешике и црева смртно страдалих учесника саобраћајних незгода је приказана у табели 40.

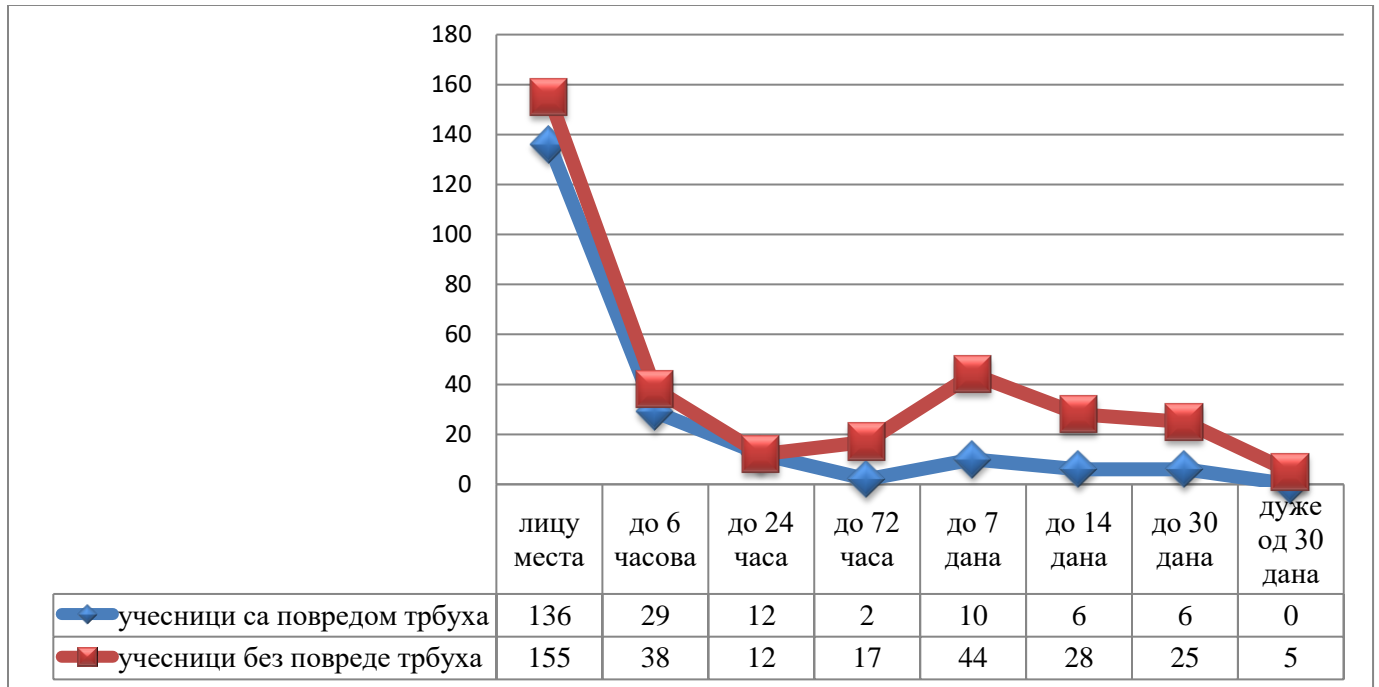
Учесник	Повреда бубрега (%)	Повреда бешике (%)	Повреда црева (%)	Укупно
Пешаци	12 (5,5)	12 (5,5)	37 (16,8)	220
Возачи	7 (7,1)	6 (6,1)	23 (23,5)	98
Сувозачи	8 (10,1)	6 (7,6)	18 (22,8)	79
Путници	3 (10,3)	1 (3,4)	3 (10,3)	29
Бициклисти	1 (2,6)	1 (2,6)	2 (5,3)	38
Мотоциклисти	2 (6,1)	1 (3,0)	5 (15,2)	33
Мотоциклиста сувозач	1 (16,7)	1 (16,7)	2 (33,3)	6
Трактористи	-	1 (4,5)	3 (13,6)	22
Укупно	34 (6,5)	29 (5,5)	93 (17,7)	525

Табела 40. Расподела повреда бубрега, мокраћне бешике и црева различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода.

4.12.4. Надживљавање повреда трбуха смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Повреда неког трбушног органа код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода била је заступљена код 201 од 525 (38,3%) учесника саобраћајних незгода. Од 201 учесника саобраћајних незгода са повредом трбуха, 65 (32,3% од 201) учесника је надживљавало повреде одређени временски период, док је 136 (67,7% од 201) учесника умрло на лицу места саобраћајне незгоде.

На графикону 30 приказана је детаљна расподела надживљавања учесника саобраћајних незгода након повреда трбуха и учесника код којих није било повреда трбуха. Учесници са повредама неког дела трбуха су у највећем броју умрли на лицу места и у првих 6 часова од повређивања, што је статистички значајно ($\chi^2=18,934$; $df=1$; $p=0,000$).



Графикон 30. Приказ надживљавања смртно страдалих учесника саобраћајних незгода са и без повреда трбуха у односу на време.

4.12.5. Повреде трбуха у саобраћајним незгодама-укупно

Повреда неког трбушног органа код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода била је заступљена код 201 од 525 (38,3%) учесника ($\chi^2=28,817$; $df=1$; $p=0,000$). Код 188 учесника (35,8%) уочена је удружена повреда неког дела грудног коша и трбуха, док је код 111 учесника (21%) постојала удруженост повреда главе и трбуха. Најмање је била заступљена политраума у којој су били повређени глава, грудни кош и трбух (103 учесника или 19,6%). Око 3/4 смртно страдалих учесника саобраћајних незгода са констатованом повредом трбуха је мушког пола. Смртно страдали учесници саобраћајних незгода код којих је дошло до повреде трбуха (просечна старост $48,6\pm 19,2$ година) су млађи од учесника код којих није повређен трбух (просечна старост $54,8\pm 19,1$ година), што је статистички потврђено (т тест= $3,647$; $p=0,000$).

Најчешће је повреда трбуха била присутна код сувозача 49,4% (39 је имало повреду од укупно 79 сувозача) и возача моторних возила 44,9% (44 је имало повреду од укупно 98 сувозача).

Учесници са повредом трбуха чешће умиру на лицу места (67,7%), него што надживљавају повреде (32,3%) што је статистички потврђено ($\chi^2=18,934$; $df=1$; $p=0,000$).

5. ДИСКУСИЈА

5.1. Демографске карактеристике смртно страдалих у саобраћајним незгода

Према подацима Службе за судску медицину и токсикологију Клиничког центра Крагујевац, од укупно 1366 судскомедицинских обдукција урађених у шеснаестогодишњем периоду од 2001. године до 2016. у 38,4% обдукованих случајева смртни исход је био последица саобраћајних незгода. У последње четири године (2013-2016. год) број обдукованих у целини је знатно смањен, што је резултовало привидним повећањем обдукција усмрћених у саобраћају. Ови подаци у складу су са другим епидемиолошким, аутопсијским студијама у којима је око 30-40% обдукованих, смртно страдало у саобраћајним незгодама^{35,36}.

Демографски подаци наше студије су показали да је знатно већи број смртно страдалих учесника саобраћајних незгода мушког пола, са односом између полова приближно 3:1. Доминантно већи број мушкараца се односи како на укупан број смртно страдалих у саобраћајним незгодама, тако и на различите категорије учесника. Слични резултати су објављени у студијама спроведеним у Немачкој³⁷, Мађарској³⁸, Индији³⁵ и Турској³⁹, у којима су мушкарци чинили око 70-85% смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама. Према нашим резултатима учесници оба пола су најчешће смртно страдали у саобраћајним незгодама у својству пешака.

Према резултатима других студија наводи се да је највише смртно страдалих у саобраћајним незгодама у старосној групи од 20-40 година^{31,40-42}. Највећи број смртно страдалих у нашој студији био је старији од 65 година. Ово неслагање са резултатима појединих студија се објашњава великим уделом пешака у укупном броју смртно страдалих учесника, који су уз трактористе били најстарији учесници.

Са просечном старошћу преко 61 годину, трактористи су били најстарији, што је у складу са резултатима осталих истраживања. Студија спроведена у Португалу је утврдила

да су возачи трактора као учесници саобраћајних незгода били у старосној групи од 60 до 70 година⁴³, а у Шведској је више од половине старије од 55 година⁴⁴. Најмлађи смртно страдали учесници саобраћајних незгода су били мотоциклисти (возачи и сувозачи мотоцикла) и возачи моторних возила (највећи број је у групи од 35-45 година), што обухвата радно способно становништво које је свакодневно активно у саобраћају. Наведени резултати су слични резултатима објављеним у другим студијама^{36,45-47}. Жене смртно stradale у саобраћајним незгодама су биле старије од мушкараца, што је у корелацији са резултатима објављеним у сличној студији⁴².

Највећи број саобраћајних незгода са смртним исходом према нашим резултатима се одиграо у сепембру, а најмањи број у марту. Слични резултати су објављени у другим студијама, где је највећи број саобраћајних незгода забележен у летњим месецима^{35,40}, када је интензитет саобраћаја и највећи, а најмањи у зимским месецима^{11,48,49}. Мотоциклисти најчешће страдају у периоду јул - октобар⁵⁰, што се објашњава погодним временским условима за вожњу. У случају тракториста највећа заступљеност била је од маја до септембра, тј. у јеку пољопривредних радова, што је потврђено и у другим студијама⁵¹.

За разлику од других студија које су утврдиле да су саобраћајне незгоде са смртним исходом најчешће у данима викенда као резултат конзумирања алкохола или неких других недозвољених супстанци од стране млађих учесника у саобраћају^{38,39}, у нашој студији је показано да су се овакве саобраћајне незгоде најчешће догађале петком и средом. За понедељак је у многим студијама, укључујући и нашу, показано да је најбезбеднији дан^{39,52}. Овакви подаци се могу објаснити чињеницом да је петак последњи радни дан, почетак викенда, учесници су опуштенији у вожњи и неопрезнији, што је предуслов за грешке.

Највулнерабилнији учесници у нашој студији су били пешаци (42%). Раније спроведена истраживања у свету су показала да пешаци чине 45% смртно страдалих учесника у слабо развијеним земљама, 29% у средње развијеним и око 18% у добро развијеним земљама^{37,53}. Овакви подаци резултат су: најмање заштићености пешака, директног контакта са осталим учесницима у саобраћају, који поседују велику брзину, масу и енергију. Додатни отежавајући фактор је недостатак пешачких стаза, због чега су пешаци приморани да користе коловоз који је у појединим деоницама неосветљен, што

ствара велики проблем возачима моторних возила да на време уоче пешаке и одреагују на прави начин¹¹. Са просечном старашћу преко 60 година (највећи број је у групи старијих од 65 година), пешаци спадају међу најстарије учеснике. Ови резултати су у корелацији са резултатима других студија, а могу се објаснити разлозима које носи старост: теже уочавање опасности, спорије реаговање, деменција, могућа оштећења вида и/или слуха^{38,54,55}. Опоравак након повреде старијих учесника је такође тежи него код млађих учесника, јер исте повреде код младих и старих не остављају исте последице^{37,56}.

У нашој студији нешто више од половине учесника је умрло на лицу места или на путу до одговарајуће здравствене установе, док су остали учесници надживљавали повреде одређени временски период. То је у сагласности са публикованим подацима појединих студија, које су показале да око 50% учесника умире на лицу места или на путу до здравствене установе^{38,39}. У литератури се помињу и студије у којима је смртност на лицу места саобраћајних незгода око 65%^{35,37}, али и студије где је само 20% смртност на лицу места⁴⁵. Од великог значаја за надживљавање повреда је место настанка саобраћајне незгоде, па је тако у урбаним деловима, где је могућност транспорта и збрињавања повређених брза, проценат учесника који умиру на лицу места мањи, док је у руралним знатно виши, због дужег времена потребног екипама за долазак на место саобраћајних незгода и транспорт у одговарајућу здравствену установу. Организациона структура службе за превоз повређених, техничка опремљеност возила, као и доступност возила такође могу објаснити разлике у претходно наведеним резултатима.

Наши резултати указују да су учесници који су умрли на лицу места млађи у односу на оне који су надживљавали повреде. У групи учесника који су умрли на лицу места налазе се углавном возачи моторних возила и мотоциклисти, који су склонији ризичном понашању у саобраћају (непоштовање саобраћајних прописа, брза вожња, неадекватна заштитна опрема, злоупотреба алкохола и/или психоактивних супстанци) и задобијају знатно теже повреде, што је у корелацији са подацима из других сличних студија³⁸. Бициклисти спадају у категорију учесника који чешће надживљавају повреде, што се може објаснити дистрибуцијом и тежином повреда које су најчешће локализоване у пределу карлице и доњих екстремитета, а ређе захватају виталне органе, што се потврђује резултатима других истраживања^{49,57}.

5.2. Алкохол као акцидентогени фактор смртно страдалих у саобраћајним незгодама

Подаци из наше студије указују на позитивну алкоholeмију код 24% свих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, односно код 33% тестираних учесника. Код одређеног броја смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, који су надживљавали повреде дуже од 24 часа, алкоholeмија није рађена.

С обзиром на чињеницу да 148 (28%) учесника није тестирано на алкохол због надживљавања повреда и болничког лечења које је трајало дуже од 24 сата, број алкоholeисаних учесника могло је бити и већи од наведеног. Наиме, због надживљавања и озбиљности повреда и хитности (реанимације и стабилизације повређених) узимање крви за хемијско-токсиколошку анализу на присуство алкоholeа, често није могуће. У ситуацијама када је особа надживљавала повреду краће од 24 сата, код које постмортално није установљен алкохол у крви, постоји теоријска могућност да је у време одигравања саобраћајних незгода постојало стање алкоholeисаности, а да је током периода надживљавања дошло до потпуне елиминације алкоholeа из крви.

Мушкараца је било статистички значајно више, са статистички значајнијом средњом вредношћу алкоholeмије. У сличним студијама, мушкарци су такође бројнији, са већом средњом вредношћу алкоholeмије^{58,59}. Овакви резултати се донекле могу објаснити чињеницом да је социо-културолошки образац у нашој земљи традиционално везан за конзумацију алкоholeних пића, поготово жестоких пића, јер су она најдоступнија. Ово је нарочито распрострањено међу млађим особама мушког пола. У нашој студији сваки трећи возач моторног возила или мотоцикла био је под дејством алкоholeа. У сличној аутопсијској студији спроведеној у Шкотској, око 20% возача моторних возила и мотоциклиста имало је позитивну алкоholeмију⁶⁰.

Највећи број особа са недозвољеном алкоholeмијом у нашој студији био је у старосној групи од 15-35 година живота. За разлику од наших резултата, у сличним студијама спроведених у Естонији⁶¹, Сао Паолу⁶² и Африци⁶³ утврђено је да је највећи

број алкохолисаних старости од 35-45 година. Злоупотреба алкохола нарочито је доминантна код адолесцената, а ако се дода и чињеница да су то углавном млади и неискусни возачи, може се објаснити зашто су честе саобраћајне незгоде у овом животном добу. Слични резултати су показани у студији спроведеној у Сједињеним Америчким Државама у којој је утврђено да је најчешћа злоупотреба алкохола уочена у старосној групи од 21-34 године живота⁶⁴.

Највише саобраћајних незгода у којима су учествовала алкохолисана лица забележен је недељом. Овакви резултати се могу објаснити трендом конзумације алкохола у данима викенда^{10,63,64}.

Највише алкохолисаних учесника било је у стању лаког пијанства (1-1,5%) и у припитом стању (0,5-1%). Овакви подаци су резултат некритичности особа у припитом стању и у стању лаког пијанства који тада постају пуни самопоуздања, храбрији и одважнији, па лако доносе погрешне одлуке (управљање моторним возилом и слично). Непоштовање саобраћајних прописа, бржа вожња, бахато понашање и ређе коришћење заштитних средстава (појас, кацига за мотоциклисте и слично), повећавају ризик за настанак саобраћајних незгода и тешких последица по здравље. Додатни фактори ризика су оштећење вида, слуха и поремећај просторне оријентације, нарочито у ситуацијама ноћне вожње^{22,23,25}.

Најмање учесника саобраћајних незгода који су смртно страдали је био у стадијуму препитости (3-4%), која подразумева стање потпуне дезоријентације, конфузије и коме²³.

5.3. Узрок смрти учесника саобраћајних незгода

Према резултатима наше студије повреда главе се издваја као најчешћи узрок смрти, било сингуларан (45%) или у комбинацији са другим узроцима као што су искрварење (5%) и поремећај дисања (4%). Повреда главе је водећи узрок смрти скоро свих учесника саобраћајних незгода, са изузетком сувозача моторних возила и тракториста. Код више од половине пешака, узрок смрти је била повреда главе, што је у корелацији са резултатима других студија^{35,38,45}. Повреде у саобраћају имају одређене специфичности према врсти повреда и екстензитету, што се објашњава деловањем

огромне кинетичке енергије коју тело прима у сударима²². Повреда тела настаје апсорпцијом спољашње силе услед удара, акцелерације или децелерације, при чему тело тежи да задржи првобитни положај и брзину⁶⁵. Глава је истурени и покретни део тела, а код пешака и учесника унутар возила и релативно незаштићени део тела. У току саобраћајних незгода код различитих учесника повреде главе могу настати: у фази набацивања на возило, при паду на коловоз, у току прегажења, ударом у делове унутар возила, притиском појединих делова возила и слично.

У групи учесника коју су умрли на лицу места саобраћајних незгода и у групи оних који су надживљавали повреде одређени временски период, водећи узрок смрти је била повреда главе. Према резултатима сличне студије спроведене у Ирану, код учесника који су умрли на лицу места повреда главе је била узрок у 67% случајева, док је код оних који су надживљавали повреде неки временски период, повреда главе била узрок у нешто мањем проценту, у 54% случајева⁶⁶.

Код око 16% смртно страдалих учесника саобраћајних незгода у периоду надживљавања повреда појавиле су се компликације, које су у 9% непосредно утицале на настанак смртог исхода. Најчешћа компликација била је запаљење плућа, са највећом инциденцом до четрнаест дана након повређивања, што се објашњава дугим статичним лежећим положајем повређених. Учесници код којих су у периоду надживљавања повреда настале компликације су у већини случајева биле старије особе мушког пола. Овакви резултати су у складу са холандском студијом у смислу старосне и полне дистрибуције, а којом је такође утврђено да је најчесталија компликација респираторни застој са фреквенцом од око 6%⁶⁷.

5.4. Повреде главе смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Повреде главе представљају велики здравствени и социоекономски проблем, нарочито последњих година, с обзиром на епидемиолошке размере које повреде ове регије имају у саобраћајним незгодама^{67,68}. Литературни подаци који се односе на повреде главе смртно страдалих у саобраћајним незгодама наводе да је процентуална заступљеност

истих од 60%⁶¹ до око 70%²⁹. У нашој студији на другом месту по учесталости, одмах након повреда грудног коша, налазиле су се повреде главе, које су биле заступљене код око две трећине смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. Повреде главе су често удружене, па је око половина наших учесника имала удружену повреду грудног коша и главе, а сваки пети учесник саобраћајних незгода имао је удружену повреду главе и трбуха или удружену повреду главе, грудног коша и трбуха. У сличним студијама у свету наводи се да су најучесталије повреде грудног коша, затим следе повреде главе које су заступљене код око половине учесника саобраћајних незгода, док су повреде трбуха најређе заступљене⁶⁹⁻⁷¹. Такође се наводи да су повреде главе и грудног коша најчешће удружене и као такве у великом броју случајева конкурентни узроци смрти^{69,72}.

Према нашим резултатима око 75% учесника са повредом главе било је мушког пола, што је у складу са процентуалном заступљеношћу мушкараца у целом узорку, а учесници саобраћајних незгода код којих је дошло до повреде главе су са просечном старошћу око 50 година, млађи од учесника код којих није повређена глава.

У нашој студији је повреда главе и врата као једини узрок смрти била присутна код скоро половине учесника, док је као конкурентни узрок била заступљена у око 10% случајева смртно страдалих у саобраћајним незгодама. Посматрано према различитим категоријама смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, повреда главе је била водећи узрок смрти са више од 50% заступљености код пешака, путника, мотоциклиста и бициклиста. Изузетак су возачи моторних возила, сувозачи и возачи трактора, код којих је повреда главе била у знатно мањем проценту узрок смрти. Раније спроведене студије наводе да су повреде главе као узрок смрти заступљене код 50%³⁸ до 65%⁴² пешака, око 50% мотоциклиста^{52,73} и код 50%⁶⁹ до 73%⁴² возача моторних возила, што незнатно одступа од резултата наше студије. Наши резултати се донекле слажу и са резултатима студије спроведене у Мађарској, где су пешаци, бициклисти и мотоциклисти сврстани у групу незаштићених учесника саобраћајних незгода, код којих су повреде главе биле у целини чешће заступљене, за разлику од заштићених учесника тј возача, сувозача и путника³⁸. Већи број повреда главе код путника на задњем седишту резултат је ређег коришћења заштитних појасева, што повећава могућност тумбања по аутомобилу и испадања из истог у току саобраћајних незгода⁷¹.

Према литературним подацима заступљеност прелома костију лобање код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода износи од око 70 до 90%⁷⁴⁻⁷⁶. У нашој студији преломи костију лобање су најчешће били заступљени код пешака и мотоциклиста (око 65%), док је посматрајући цео узорак проценат био нешто мањи (60%). У сличним студијама у свету наводи се да се код око 50% мотоциклиста региструју преломи костију лобање⁷³. Већа учесталост прелома костију лобање мотоциклиста у нашој студији могла би се објаснити непоштовањем прописа о ношењу заштитне опреме, пре свега кацига, које у великој мери штите возаче мотоцикла од могућих тешких повреда у саобраћајним незгодама⁷⁷.

Једноструки преломи костију лобање су били у највећем броју локализовани у пределу крова лобање, док је највећи део утиснутих прелома и скоро половина вишеструких прелома била локализована у пределу крова и основе лобање. У скоро 90% случајева преломи костију лобање су били праћени настанком нагњечина можданог ткива. Наиме, у литератури се наводи да нагњечине можданог ткива могу настати и у одсуству прелома костију лобање^{20,22}. Посматрано у целини, нагњечине можданог ткива констатоване су код око половине смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, што је незнатно више у односу на резултате других студија^{74,76}.

Повреде можданог ткива у нашој студији су најчешће биле присутне код пешака и бициклиста, који, као незаштићени учесници у саобраћајним задесима често имају повреде ове регије, што одговара раније публикованим резултатима³⁸.

Учесници саобраћајних незгода који су надживљавали повреде одређени временски период, имали су повреде главе у око 75% случајева. Када су у питању учесници саобраћајних незгода који су умрли на лицу места, наша студија је утврдила да је око 60% ових учесника имало повреду главе. Након иницијално велике смртности (на лицу места и у прва 24 часа), највећа инциденца смртог исхода уочава се недељу дана од повреде, што је у корелацији са резултатима раније спроведених студија^{74,76}.

У сличним аутопсијским студијама се истиче да повреде главе у највећем броју настају у саобраћајним незгодама, да највећи број управо умире на лицу места⁷⁶ и у првих пар сати након трауме, али и да значајан број учесника у току периода надживљавања умире недељу дана након трауме⁷⁴, што се слаже са нашим резултатима.

Према резултатима наше студије учесници који су умрли на лицу места и имали неку повреду главе имају око два пута већи ризик за присуство удружене повреде трбуха или удружене повреде грудног коша и трбуха него остали учесници. У сличним студијама наводи се значај удружених повреда^{69,74}, али има и студија где се истиче да је код три четвртине смртно страдалих настала повреда само једног система, а да су удружене повреде више система или преломи више костију биле ређе присутне⁶⁶.

Учесници саобраћајних незгода умрли на лицу места имају 12 пута већи ризик за присуство предвајања можданог стабла и око 6 пута већи ризик за деструкцију костију лобање или разорење мозга. Код учесника умрлих на лицу места око 3 пута је већи ризик за повреду вратне кичме, него код осталих учесника.

5.5. Повреде грудног коша смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Повреде грудног коша у саобраћајним незгодама су значајан узрок морбидитета и морталитета. У нашој студији повреде грудног коша биле су присутне код више од три четвртине смртно страдалих учесника саобраћајних незгода. У сличним студијама у свету истиче се значај повреда овог дела тела. Посматрано у целини, повреде грудног коша су присутне у 10-15% свих повреда, у око 25% су главни узрок смрти, док су у око 25% потпомажући фактор за настанак смртог исхода^{78,79}. Ако посматрамо само повреде настале у саобраћајним незгодама, резултати показују да су повреде грудног коша најбројније и заступљене су у око 60-80% случајева^{40,41}. Повреде грудног коша су често удружене, па је око половине наших учесника имала удружену повреду грудног коша и главе, трећина удружену повреду грудног коша и трбуха, док је сваки пети учесник саобраћајних незгода имао удружену повреду главе, грудног коша и трбуха, што је слично са резултатима других студија⁸⁰. Као једини узрок смрти, повреда грудног коша је била заступљена у око 20% случајева, док је као конкурентни узрок била присутна у око 10% случајева.

Мали је број студија које се баве учесталости и последицама повреда грудног коша у саобраћајним незгодама на територији Републике Србије. У периоду 1973-1988. на територији Србије је спроведена студија која је показала да је повреда грудног коша код 62% испитаника настала у саобраћајним незгодама⁸¹. Тридесет година након овог периода, на територији Србије, саобраћајне незгоде су и даље најчешћи узрок настанка повреда грудног коша (око 64%)^{80,82}.

Око 75% учесника са повредом грудног коша је мушког пола, што је у складу са процентуалном заступљеношћу мушкараца у целом узорку. Смртно страдали учесници саобраћајних незгода код којих је дошло до повреде неког дела грудног коша су старији од учесника код којих није повређен грудни кош, са просечном старошћу око 50 година. Према подацима из литературе, најчешће су повређени мушкарци у 40-им годинама живота^{80,83}, а ова разлика у годинама се може објаснити чињеницом да је и просечна старост целог нашег узорка нешто већа него у осталим студијама.

Према нашим подацима повреде грудног коша су најчешће код тракториста и сувозача моторних возила. Велика учесталост повреда грудног коша код возача трактора се може објаснити карактеристикама возила и механизмом настанка повреда. Најчешће су у питању трактори без кабине, где лако долази до испадања возача из седишта, превртања трактора или неке прикључне машине или приколице преко возача, при чему су повреде грудног коша неизбежне. Повреде грудног коша код возача моторних возила настају директно услед удара у предњи део возила тј. у волан и услед хиперекстензије и децелерације^{32,69,84,85}.

Код учесника који су смртно страдали на лицу места саобраћајних незгода, већи је ризик да су имали повреду неког дела грудног коша, него учесници који су надживљавали повреде одређени временски период. Ризик је већи ако су присутне удружене повреде грудног коша и трбуха, а највећи ако су удружене повреде главе, грудног коша и трбуха. Слични резултати су објављени у другим студијама у којима се наводи да учесници који имају удружене повреде чешће умиру на лицу места саобраћајних незгода или у току првих пар сати по пријему у одговарајућу здравствену установу^{79,86}.

Најчешћа повреда грудног коша у нашој студији је била прелом неког ребра, констатована код око три четвртине испитаника. Учесници који су смртно страдали на лицу места имају око два пута већи ризик за настанак обостраних прелома ребара или

комбинације прелома ребара и грудне кости. У литератури се такође наводи велика учесталост и значај прелома ребара код учесника саобраћајних незгода^{45,80,87}. Студије су показале да што је већи број преломљених ребара већа је инциденца компликација и смртности^{87,88}, што је посебно изражено у старијој популацији⁵⁶. Важно је нагласити да у ситуацијама када нема прелома ребара, могу настати озбиљне повреде грудних органа као што је случај са нагњечењем плућа. Преломи ребара су често удружени са повредама органа грудног коша: са повредама плућа, срца, грудног дела аорте, као и са хемотораксом. Од великог су значаја децелерационе повреде грудног коша (руптура аорте, пнеумоторакс и нагњечење срца) које најчешће настају у судару путничких моторних возила и спадају у животно угрожавајуће повреде³².

Анализирањем присуства различитих повреда грудног коша код учесника саобраћајних незгода који су смртно страдали на лицу места, приказан је значај појединих повреда. Према нашим резултатима учесници који су умрли на лицу места и имали повреду неког дела грудног коша имају око три пута већи ризик да су страдали као возачи моторних возила. Смртно страдали возачи моторних возила најчешће су имали повреде срца, аорте и хемоторакс. Такође, учесници који су умрли на лицу места саобраћајних незгода имали су око пет пута већи ризик за настанак руптуре перикарда, а око девет пута већи ризик за расцеп аорте у односу на остале учеснике који су надживљавали повреде. У сличним истраживањима показан је значај удружених повреда органа грудног коша и постојање велике вероватноће да је смртно повређен возач моторних возила имао повреде торакалне аорте, срца и перикарда, као и преломе ребара^{32,33,70}.

Смртно страдали сувозачи су имали најчешће повреду срца, грудног дела аорте и обостране расцепе плућа.

5.6. Повреде трбуха смртно страдалих учесника саобраћајних незгода

Због анатомске позиције и величине коју заузима, а минималне заштићености костима, трбушни предео је често изложен повређивању, нарочито у саобраћајним незгодама.

У нашој студији код смртно страдалих учесника саобраћајних незгода повреда неког трбушног органа била је присутна у 38% случајева, што је слично резултатима других студија^{45,69,73,89}. У литератури се такође истиче значај удружених повреда трбуха и других делова тела, нарочито грудног коша^{41,73,90}, које су код наших учесника биле присутне у 36% случајева.

Јетра је најчешће повређен орган у трбушној дупљи смртно страдалих учесника саобраћајних незгода (код сваког четвртог учесника). У 2/3 случајева повреде јетре су биле удружене са повредама слезине, док је бубрег истовремено са јетром повређен у преко 70%. Велика заступљеност повреда јетре објашњава се њеном величином, фиксираношћу у трбушној дупљи као и нееластичношћу самог ткива. Према резултатима наше студије ризик да учесници, који су умрли на лицу места имају расцеп или разорење јетре је око 3 пута већа него код осталих учесника. У литератури се наводе подаци према којима је повреда јетре учесталија у односу на повреде других органа трбушне дупље, са заступљеношћу нешто већом него у нашој студији 33%⁴⁵ и око 50%⁹⁰.

Код сваког петог смртно страдалог учесника саобраћајних незгода, констатована је повреда слезине, при чему су учесници умрли на лицу места имали око 8 пута већи ризик за присуство расцепа слезине. Reddy⁴⁵ и сарадници у аутопсијској студији након смртних саобраћајних незгода, наводе да је слезина друга по учесталости повређивања, након јетре, са заступљеношћу од око 18%, што је у складу са резултатима наше студије. Супротно, поједине студије наводе да је слезина најчешће повређен орган у трбушној дупљи, са учесталошћу од око 40%^{91,92}.

Са сличном учесталошћу као повреде слезине, око 20%, биле су заступљене повреде црева, пре свега повреде у виду крвних подлива опорњака. Ризик да учесници који су умрли на лицу места имају повреду црева је око 2 пута већи него код осталих учесника. Повреде бубрега (7%) и мокраћне бешике (6%) су констатоване код знатно мањег броја смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, што је у корелацији са раније објављеним резултатима^{45,90,92,93}.

У нашој студији, повреде трбуха су биле најчешће присутне код сувозача (50%) и возача моторних возила (45%). Истраживање спроведено у Француској указује на присуство повреда трбуха код возача моторних возила у само 10% случајева, са највећом заступљеношћу повреда слезине⁶⁹. Сувозачи имају већи ризик за настанак повреда трбуха

у односу на возаче, показано је у нашој и у студији Daskal-а и сарадника⁷¹. Повреде трбушних органа чешће су заступљене код заштићених учесника у саобраћајним незгодама (учесници унутар возила - возачи и сувозачи) у односу на незаштићене (пешаци, бициклисти и мотоциклисти), са учесталошћу од око 20%^{38,94}. У студији спроведеној у Аустралији истиче се да су повреде трбуха, било изоловане или удружене са повредама грудног коша често присутне код путника на задњим седиштима, а један од потенцијалних узрока је сигурносни појас⁹⁵. У нашој студији се овај механизам настанка повреда може прихватити због начина везивања појаса у три тачке (повреде од попречног дела појаса). Одсуство повреда код путника на задњем седишту се може објаснити некоришћењем појаса.

6. ЗАКЉУЧЦИ

Ова епидемиолошка, аутопсијска студија је јединствена, јер дефинише најугроженије учеснике у саобраћајним незгодама на територији града Крагујевца са околином, обухвата анализу учесталости и врсте повреда главе, грудног коша и трбуха између различитих учесника, као и релевантност одређених повреда и фактора ризика за надживљавање повреда. На основу спроведеног истраживања може се закључити следеће:

- Пешаци су најзаступљенији смртно страдали учесници саобраћајних незгода (42%), просечне старости око 60 година и чешће су мушког пола. Повреде грудног коша (преломи ребара и повреде плућа) и повреде главе (преломи костију лобање и оштећење мозданог ткива) су код смртно страдалих пешака најучесталије. Пешаци чешће надживљавају повреде него што умиру на лицу места, а у току надживљавања честе су компликације. Најчешћи узрок смрти пешака је повреда главе.
- Возачи моторних возила су други по учесталости смртно страдалих учесника саобраћајних незгода (19%), просечне старости око 45 година и чешће су мушког пола. Код возача моторних возила најчешће настају повреде грудног коша (срца и аорте), чешће умиру на лицу места, него што надживљавају повреде, а узрок смрти је најчешће повреда главе. Сваки трећи возач путничког моторног возила био је у алкохолисаном стању.
- Сувозачи моторних возила чине 15% смртно страдалих у саобраћајним незгодама, просечне старости око 45 година и мушког су пола. Код сувозача моторних возила најчешће настају повреде вратне кичме, грудног коша (срца, аорте и пнеумоторакс) и трбушних органа (јетре, слезине). Чешће умиру на лицу места, него што надживљавају повреде, а узроци смрти су најчешће повреде главе и искрварење.

- Бициклисти су заступљени у 7% смртно страдалих у саобраћајним незгодама, просечне старости око 57 година, мушког пола. Код бициклиста су најчесталије повреде главе (преломи костију лобање и оштећење мозданог ткива), које су и најчешћи узрок смрти. Чешће надживљавају повреде уз појаву компликација.
- Мотоциклисти и сувозачи мотоцикла чине 7% смртно страдалих у саобраћајним незгодама, најмлађи су учесници (просечне старости око 34 године) и чешће су мушког пола. Код мотоциклиста и сувозача мотоцикла најчешће настају повреде главе (преломи костију лобање и оштећење мозданог ткива). Чешће умиру на лицу места, него што надживљавају повреде, а узрок смрти је повреда главе. Сваки трећи возач мотоцикла био је у алкохолисаном стању.
- Путници у возилу су међу најмање заступљеним смртно страдалим учесницима у саобраћајним незгодама (6%), просечне старости око 48 година, чешће мушког пола. Чешће умиру на лицу места него што надживљавају повреде, а узрок смрти је најчешће повреда главе.
- Возачи трактора су најмање заступљени смртно страдали учесници у саобраћајним незгодама (4%), најстарији су учесници (просечне старости око 61 годину) и мушког су пола. Најчешће страдају у саобраћајним незгодама од маја до септембра, у сезони пољопривредних радова. Код возача трактора су најчесталије повреде грудног коша (преломи ребара и повреде плућа), а најчешћи узроци смрти су искрварење и поремећај дисања. Чешће умиру на лицу места, него што надживљавају повреде,
- Најчешћа компликација смртно страдалих учесника саобраћајних незгода у периоду наживљавања повреда је запаљење плућа, која у највећем проценту настаје у другој и трећој недељи наживљавања.

- Након повреда главе учесници саобраћајних незгода у подједнаком броју умиру на лицу места или надживљавају повреде.
- Након повреда грудног коша и након повреда трбуха учесници саобраћајних незгода у највећем броју умиру на лицу места и у првих 6 часова од повређивања, него што надживљавају повреде.
- Учесници саобраћајних незгода умрли на лицу места имају 12 пута већи ризик за предвајање можданог стабла, око 6 пута већи ризик за деструкцију костију лобање или разорење мозга, а око 3 пута већи ризик за повреду вратне кичме.
- Код учесника умрлих на лицу места више од 8 пута је већи ризик за настанак руптуре аорте, а око 5 пута већи за развој пнеумоторакса и хемоторакса него код осталих учесника који су надживљавали повреде одређени временски период.
- Ризик да учесници који су умрли на лицу места имају расцеп или разорење јетре је око 3 пута већи него код учесника који су надживљавали повреде.

7. ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization 2015; Geneva. Global status report on road safety. 2015.
2. Zakon o bezbednosti saobraćaja na putevima. „Sl. Glasnik RS“
3. Milovanović M. Sudska medicina, Medicinska knjiga, Beograd-Zagreb, 1985.
4. Popović V i sar. Sudska medicina, Medicinski fakultet universiteta u Beogradu, 2013.
5. Tasić M. i sar. Sudska medicina, Zmaj, Novi Sad, 2006.
6. Goniewicz K, Goniewicz M, Pawłowski W, Fiedor P. Road accident rates: strategies and programmes for improving road traffic safety. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2016; 42(4):433-438.
7. Haddon W Jr. The changing approach to the epidemiology, prevention, and amelioration of trauma: the transition to approaches etiologically rather than descriptively based. *Am J Public Health Nations Health.* 1968; 58(8): 1431–1438.
8. Haddon W Jr. Advances in the epidemiology of injuries as a basis for public policy. *Public Health Rep.* 1980; 95(5): 411–421.
9. Fabbri A, Marchesini G, Morselli-Labate AM, Rossi F, Cicognani A, Dente M, et all. Positive blood alcohol concentration and road accidents. A prospective study in an Italian emergency department. *Emerg Med J.* 2002; 19(3):210-4.
10. Gjerde H, Normann PT, Christophersen AS, Samuelsen SO, Morland J. Alcohol, psychoactive drugs and fatal road traffic accidents in Norway: a case-control study. *Accid Anal Prev.* 2011; 43(3):1197-203
11. Almeida RL, Bezerra Filho JG, Braga JU, Magalhães FB, Macedo MC, Silva KA. Man, road and vehicle: risk factors associated with the severity of traffic accidents. *Rev Saude Publica.* 2013;47(4):718-31.
12. Nishida Y. Analyzing accidents and developing elderly driver-targeted measures based on accident and violation records. *IATSS Research.* 2015; 39 (1): 26-35.
13. Zhang G, Cao L, Hu J, Yang KH. A Field Data Analysis of Risk Factors Affecting the Injury Risks in Vehicle-To-Pedestrian Crashes. *Ann Adv Automot Med.* 2008; 52: 199-214.
14. Hughes BP, Newstead S, Anund A, Shu CC, Falkmer T. A review of models relevant to road safety. *Accid Anal Prev.* 2015; 74:250-70.

15. Čičević S, Čubranić-Dobrodolac M, Trifunović A. Estimate of vehicle speed. 10th International Conference road safety in local community Serbia, Kragujevac, 2015.
16. Andersson AK, Chapman L. The impact of climate change on winter road maintenance and traffic accidents in West Midlands, UK. *Accid Anal Prev.* 2011; 43(1):284-9.
17. Clarke DD, Ward P, Bartle C, Truman W. Killer crashes: fatal road traffic accidents in the UK. *Accid Anal Prev.* 2010; 42(2):764-70.
18. Rudy BS. Suicide by pedestrian versus motor vehicle: a case report. *Am J Forensic Med Pathol.* 2012; 33(3):268-9.
19. Zine KU, Mugadlimath AB, Sane MR, Bhuyyar C, Rathod SN. Non-vehicular homicides masquerading as road traffic accidents. *Med Leg J.* 2016; 84(1):28-30.
20. DiMaio JV, DiMaio D. *Forensic Pathology.* 2nd ed. London New York: CRC Press; 2001.
21. Knight B, Saukko P. *Forensic Pathology.* 3rd ed. Edvard Arnold; 2004.
22. Shkrum JM, Ramsay AD. *Forensic Pathology of Trauma: Common Problems for the Pathologist.* Totowa, New Jersey: Humana Press Inc; 2007.
23. Otašević V. i sar. *Sudska medicina, Medicinski fakultet Niš,* 2011.
24. Goniewicz K, Goniewicz M, Pawłowski W, Fiedor P, Lasota D. Road safety in Poland: magnitude, causes and injuries. *Wiad Lek.* 2017;70(2 pt 2):352-356.
25. Matejić S. *Sudska medicina, Medicinski fakultet Univerziteta u Prištini, Kosovska Mitrovica,* 2017.
26. Zečević D i suradnici. *Sudska medicina i deontologija, Medicinska naklada Zagreb,* 2004.
27. Fredriksson R, Rosén E, Kullgren A. Priorities of pedestrian protection--a real-life study of severe injuries and car sources. *Accid Anal Prev.* 2010; 42(6):1672-81.
28. Pandurović S. *Automobilske nezgode, povrede i način povređivanja. Medicinski fakultet universiteta u Beogradu,* 1986.
29. Badea-Romero A, Lenard. Source of head injury for pedestrians and pedal cyclists: Striking vehicle or road? *Accid Anal Prev.* 2013; 50:1140-50.
30. Ječmenica DS, Alempijević DM, Pavlekić S, Aleksandrić BV. Traumatic testicular displacement in motorcycle drivers. *J Forensic Sci.* 2011; 56(2):541-3.

31. Kazuhiko K, Shimada R, Nakao K. Fatal traffic accidents and forensic medicine. *IATSS Research*. 2014; 38 (1): 71-76.
32. Swan KG Jr, Swan BC, Swan KG. Decelerational thoracic injury. *J Trauma*. 2001; 51(5):970-4.
33. Nikolić S, Strajina V, Zivković V. The mechanism of injuring of front-seat passengers in head-on motor vehicle collisions: forensic issues. *Srp Arh Celok Lek*. 2013;141(5-6):409-14.
34. Dunjić D i sar. *Ekspertizna medicina*. Evropski centar za mir i razvoj Univerziteta za mir Ujedinjenih nacija, Beograd, 2008.
35. Farooqui JM, Chavan KD, Bangal RS, Syed MMA, Thacker PJ, Alam S, et al. Pattern of injury in fatal road traffic accidents in a rural area of western Maharashtra, India. *Australas Med J*. 2013; 6(9): 476-82.
36. Mirza FH, Hassan Q, Jajja N. An autopsy-based study of death due to road traffic accidents in metropolis of Karachi. *J Pak Med Assoc*. 2013; 63(2): 156-60.
37. Pfeifer R, Schick S, Holzmann C, Graw M, Teuben M, Pape HC. Analysis of Injury and Mortality Patterns in Deceased Patients with Road Traffic Injuries: An Autopsy Study. *World J Surg*. 2017; 41(12): 3111-9.
38. Toro K, Hubay M, Sotonyi P, Keller E. Fatal traffic injuries among pedestrians, bicyclists and motor vehicle occupants. *Forensic Sci. Int*. 2005; 151(2-3):151-6.
39. Dirlik M, Bostancioglu BC, Elbek T, Korkmaz B, Callak Kallem F, Gun B. Features of the traffic accidents happened in the province of Aydin between 2005 and 2011. *Ulus Travma Acil Derg*. 2014; 20(5): 353-8.
40. Khorshidi A, Ainy E, Soori H, Sabbagh MM. Iranian road traffic injury project: assessment of road traffic injuries in Iran in 2012. *J Pak Med Assoc*. 2016; 66(5):517-20.
41. Hemmati H, Kazemnezhad-Leili E, Mohtasham-Amiri Z, Darzi AA, Davoudi-Kiakalayeh A, Dehnadi-Moghaddam A, et al. Evaluation of chest and abdominal injuries in trauma patients hospitalized in the surgery ward of poursina teaching hospital, guilan, iran. *Arch Trauma Res*. 2013; 1(4):161-5.
42. Hamzeh B, Najafi F, Karamimatin B, Ahmadijouybari T, Salari A, Moradinazar M. Epidemiology of traffic crash mortality in west of Iran in a 9 year period. *Chinese Journal of Traumatology*. 19 (2016) 70e74.

43. Antunes SM, Cordeiro C, Teixeira HM. Analysis of fatal accidents with tractors in the Centre of Portugal: Ten years analysis. *Forensic Sci Int.* 2018; 287: 74-80.
44. Pinzke S, Nilsson K, Lundqvist P. Tractor accidents in Swedish traffic. *Work.* 2012; 41 (Suppl 1): 5317-23.
45. Reddy NB, Hanumantha, Madithati P, Reddy NN, Reddy CS. An epidemiological study on pattern of thoraco-abdominal injuries sustained in fatal road traffic accidents of Bangalore: Autopsy-based study. *J Emerg Trauma Shock.* 2014; 7(2): 116-20.
46. Peymani P, Heydari ST, Hoseinzadeh A, Sarikhani Y, Hedjazi A, Zarenezhad M, et al. Epidemiological characteristics of fatal pedestrian accidents in Fars Province of Iran: a community-based survey. *Chin J Traumatol.* 2012; 15(5): 279-83.
47. Zhao H, Huang W, Yang GY, Chen R, Liu SX, Yu YM, et al. Analysis of 86 fatal motorcycle frontal crashes in Chongqing, China. *Chinese Journal of Traumatology.* 2012; 15(3): 170-174.
48. Etehad H, Yousefzadeh-Chabok Sh, Davoudi-Kiakalaye A, Moghadam Dehnadi A, Hemati H, Mohtasham-Amiri Z. Impact of road traffic accidents on the elderly. *Arch Gerontol Geriatr.* 2015;61(3):489-93.
49. Mirzaei M, Mirzadeh M, Shogaei Far H, Mirzaei M. Trends in Road Traffic Deaths in Yazd, Iran, 2004 - 2010. *Arch Trauma Res.* 2016; 5(2): e29266.
50. Olds K, Byard RW, Langlois NEI. Injury patterns and features of cycling fatalities in South Australia. *J Forensic Leg Med.* 2015; 34:99-103.
51. Rorat M, Thannhauser A, Jurek T. Analysis of injuries and causes of death in fatal farm-related incidents in Lower Silesia, Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2015; 22(2):271-4.
52. Berrones-Sanz LD. Analysis of accidents and injuries on motorcycles in Mexico. *Gac Med Mex.* 2017; 153(6):662-671.
53. Naci H, Chisholm D, Baker TD. Distribution of road traffic deaths by road user group: a global comparison. *Inj Prev.* 2009; 15(1): 55-9.
54. Sadeghi-Bazargani H, Samadirad B, Moslemi F. A decade of road traffic fatalities among the elderly in north-West Iran. *BMC Public Health.* 2018; 18(1): 111.
55. Honnungar RS, Manipady S, Bastia BK. Cataract as the root cause of fatal road traffic accidents in pedestrians. *Med Sci Law.* 2011; 51(2): 114-5.

56. Stawicki SP, Grossman MD, Hoey BA, Miller DL, Reed JF 3rd. Rib fractures in the elderly: a marker of injury severity. *J Am Geriatr Soc.* 2004; 52(5):805-8.
57. Hitosugi M, Koseki T, Miyama G, Furukawa S, Morita S. Comparison of the injury severity and medical history of disease-related versus trauma-related bicyclist fatalities. *Leg Med.* 2016; 18:58-61.
58. Damsere-Derry J, Palk G, King M. Road safety implications of the blood alcohol concentrations among alcohol users exiting bars in northern Ghana. *Traffic Inj Prev.* 2018; 19(8):799-805.
59. Sjögren H, Valverius P, Eriksson A. Gender differences in role of alcohol in fatal injury events. *Eur J Public Health.* 2006; 16(3):267-71.
60. Hamnett HJ, Ilett M, Izzati F, Smith SS, Watson KH. Toxicological findings in driver and motorcyclist fatalities in Scotland 2012-2015. *Forensic Sci Int.* 2017; 274:22-26.
61. Kaasik T, Vali M, Saar I. Road traffic mortality in Estonia: alcohol as the main contributing factor. *Int J Inj Contr Saf Promot.* 2007; 14(3):163-70.
62. de Carvalho Ponce J, Munoz DR, Andreuccetti G, de Carvalho DG, Leyton V. Alcohol-related traffic accidents with fatal outcomes in the city of Sao Paulo. *Accid Anal Prev.* 2011; 43(3):782-7.
63. du Plessis M, Hlaise KK, Blumenthal R. Ethanol-related death in Ga-Rankuwa road-users, South Africa: A five-year analysis. *J Forensic Leg Med.* 2016; 44:5-9.
64. Fell JC, Tippetts AS, Voas RB. Fatal traffic crashes involving drinking drivers: what have we learned? *Ann Adv Automot Med.* 2009; 53:63-76.
65. Liu W, Zhao H, Li K, Su S, Fan X, Yin Z. Study on pedestrian thorax injury in vehicle-to-pedestrian collisions using finite element analysis. *Chinese Journal of Traumatology.* 2015; 18(2): 74-80.
66. Sadeghi-Bazargani H, Samadirad B, Shahedifar N, Golestani M. Epidemiology of Road Traffic Injury Fatalities among Car Users; A Study Based on Forensic Medicine Data in East Azerbaijan of Iran. *Bull EmergTrauma* 2018; 6(2):146-154.
67. El Mestoui Z, Jalalzadeh H, Giannakopoulos GF, Zuidema WP. Incidence and etiology of mortality in polytrauma patients in a Dutch level I trauma center. *Eur J Emerg Med.* 2017; 24(1):49-54.

68. Saar S, Lomp A, Laos J, Mihnoviř V, řalkauskas R, Lustenberger T, et al. Population-Based Autopsy Study of Traumatic Fatalities. *World J Surg.* 2017; 41(7):1790-1795.
69. Ndiaye A, Chambost M, Chiron M. The fatal injuries of car drivers. *Forensic Sci Int.* 2009; (184) 21–27.
70. Okutani D, Moriyama S, Ootsuka T, Niman E, Kashima H, Kuroda M, et al. Assessment of traumatic rib fractures caused by traffic accident. *Kyobu Geka.* 2014; 67(5):362-5.
71. Daskal Y, Alfici R, Givon A, Peleg K, Olsha O, Kessel B, et al. Evaluation of differences in injury patterns according to seat position in trauma victims survived traffic accidents. *Chin J Traumatol.* 2018; 21(5): 273-276.
72. Zhao H, Yin Z, Yang G, Che X, Xie J, Huang W, et al. Analysis of 121 fatal passenger car-adult pedestrian accidents in China. *J Forensic Leg Med.* 2014; 27:76-81.
73. Faduyile F, Emiogun F, Soyemi S, Oyewole O, Okeke U, Williams O. Pattern of Injuries in Fatal Motorcycle Accidents Seen in Lagos State University Teaching Hospital: An Autopsy-Based Study. *Open Access Maced J Med Sci.* 2017; 5(2):112-116.
74. Alexis RJ, Jagdish S, Sukumar S, Pandit VR, Palnivel C, Antony MJ. Clinical Profile and Autopsy Findings in Fatal Head Injuries. *J Emerg Trauma Shock.* 2018; 11(3):205-210.
75. Vijay Kumar AG, Kumar U, Shivaramu MG, Vinay J. Fatal Cranio-Cerebral Injuries-Epidemiological Trends in Mortality Rates from Road Traffic Accidents. *Int J Forens Sci* 2018; 3(3): 000147.
76. Menon A, Pai VK, Rajeev A. Pattern of fatal head injuries due to vehicular accidents in Mangalore. *J Forensic Leg Med.* 2008;15(2):75-7.
77. Gupta S, Klaric K, Sam N, Din V, Juschkewitz T, Iv V, et al. Impact of helmet use on traumatic brain injury from road traffic accidents in Cambodia. *Traffic Inj Prev.* 2018; 19(1):66-70.
78. O'Connor JV, Adamski J. The diagnosis and treatment of noncardiac thoracic trauma. *J R Army Med Corps.* 2010; 156(1):5–14.
79. El-Menyar A, Abdelrahman H, Al-Hassani A, Ellabib M, Asim M, Zarour A, et al. Clinical Presentation and Time-Based Mortality in Patients With Chest Injuries Associated With Road Traffic Accidents. *Arch Trauma Res.* 2016; 5(1): e31888.
80. Turkalj I, Petrović K, Stojanović S, Petrović D, Brakus A, Ristić J. Blunt chest trauma-an audit of injuries diagnosed by the MDCT examination. *Vojnosanit Pregl.* 2014; 71(2):161-6.

81. Cvetanović D, Stepić V, Stanić V, Kurtović Z. Injuries of the thorax. *Vojnosanit Pregl.* 1991; 48(1): 23-6.
82. Slović Ž, Vitošević K, Todorović D, Todorović M. Forensic characteristics of chest injuries among subjects who died in road traffic accidents. *Vojnosanit Pregl.* <https://doi.org/10.2298/VSP180626064S>.
83. Liman ST, Kuzucu A, Tastepe AI, Ulasan GN, Topcu S. Chest injury due to blunt trauma. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2003; 23(3):374-8.
84. Ripple MG, Grant JR, Mealey J, Fowler DR. Evaluation of aortic injury in driver fatalities occurring in motor vehicle accidents in the State of Maryland for 2003 and 2004. *Am J Forensic Med Pathol.* 2008; 29(2): 123-7.
85. Kibayashi K, Shimada R, Nakao K. Fatal traffic accidents and forensic medicine. *IATSS Research.* 2014; (38): 71–76.
86. Bamvita JM, Bergeron E, Lavoie A, Ratte S, Clas D. The impact of premorbid conditions on temporal pattern and location of adult blunt trauma hospital deaths. *J Trauma.* 2007; 63(1): 135-41.
87. Yeh DD, Kutcher ME, Knudson MM, Tang JF. Epidural analgesia for blunt thoracic injury— which patients benefit most? *Injury.* 2012; 43(10):1667–1671.
88. Nikolić S. Forensic expertise of thoracic aorta, heart and pericardial injuries in car-occupant fatalities. *Srp Arh Celok Lek.* 2009; 137(11-12): 627-31.
89. Milošević M, Savić S, Matejić S, Mihailović Z, Jakšić V. Mechanisms of injury of pedestrians in road traffic accidents. *Praxis medica.* 2015; 44 (4) 5-10.
90. Subedi N, Yadav BN, Jha S, Paudel IS, Regmi R. A profile of abdominal and pelvic injuries in medico-legal autopsy. *J Forensic Leg Med.* 2013; 20(6):792-6.
91. González-Nicolás Trébo MT, Pérez-Tierra Ruíz J, Miguelena Bobadilla JM. Abdominal injuries treated in a referral hospital: analysis of outcomes, treatment approaches, and prognostic scales. *Emergencias.* 2019; 31(1):15-20.
92. Monchal T, Ndiaye A, Gadegbeku B, Javouhey E, Monneuse O. Abdominopelvic injuries due to road traffic accidents: Characteristics in a registry of 162,695 victims. *Traffic Inj Prev.* 2018; 19(5):529-534.

93. Yasuhara H, Naka S, Kuroda T, Wada N. Blunt Thoracic and Abdominal Vascular Trauma and Organ Injury Caused by Road Traffic Accident. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2000; 20(6):517-22.
94. Goniewicz M, Nogalski A, Khayesi M, Lübek T, Zuchora B, Goniewicz K, et al. Pattern of road traffic injuries in Lublin County, Poland. *Cent Eur J Public Health.* 2012; 20(2):116-20.
95. Beck B, Bilston LE, Brown J. Injury patterns of rear seat occupants in frontal impact: an in-depth crash investigation study. *Inj Prev.* 2016; 22(3):165-70.

БИОГРАФИЈА

Др Живана Словић (рођена Минић) је рођена 25.10.1982. године у Крагујевцу. Основну школу и средњу Медицинску школу је завршила у Крагујевцу. Медицински факултет, Универзитета у Крагујевцу је уписала школске 2001/2002 године (основне студије медицине, доктор медицине). У току студија учествовала је на више конгреса са националним и међународним значајем. Дипломирала је 4. децембра 2007. године са просечном оценом 8,29, а након обављеног приправничког стажа положила је стручни испит за доктора медицине 1. јула 2008. године.

Од марта 2009. године запослена је на Медицинском факултету, Универзитета у Крагујевцу на катедри за Анатомију и Судску медицину, као сарадник у настави на предмету Судска медицина, од марта 2011. године је у звању истраживача сарадника, а од марта 2018. године је у звању асистента за ужу научну област Судска медицина.

Школске 2008/2009. године је уписала Докторске академске студије на Медицинском факултету, Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Неуронауке, а усмени докторски испит је положила у јануару 2011. године. Специјализацију из судске медицине је уписала марта 2012. године на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, а 2017. године положила специјалистички испит са одличним успехом и стекла звање специјалиста судске медицине.

Учествовала је на пројекту „Молекулске, биохемијске и имунске анализе у дијагностици тумора“ финансираном од стране Министарства за науку и технолошки развој, као и на јуниор пројекту на Факултету медицинских наука у Крагујевцу „Утицај формалина и парафинског блока на степен фрагментације молекула ДНК у ткивима јетре, срца и мозга изузетих приликом извођења судскомедицинских обдукција“.

Члан је Лекарске коморе Србије, Српског лекарског друштва и Секције судских медицинара Србије.

Удата је, мајка једног детета.

БИБЛИОГРАФИЈА

1. Slović Ž, Vitošević K, Todorović D, Todorović M. Forensic characteristics of chest injuries among subjects who died in road traffic accidents. *Vojnosanit Pregl.* 2019. Doi: 10.2298/VSP180626064S. M23.
2. Vitosevic K, Todorović M, Varljen T, Slović Z, Matić S, Todorović D. Effect of formalin fixation on pcr amplification of DNA isolated from healthy autopsy tissues. *Acta Histochemica*, 2018, 120(8):780-788. M23
3. Todorovic M, Todorovic D, Matejic S, Minic Z, Stankovic V, Preljevic I, Hajrovic S, Savic S. The role of alcohol in fatal work related injuries. *HealthMed*, 2012. Vol.6 (2): 648-653. M23
4. K Vitošević, D Todorović, Ž Slović, R Živković Zarić, M Todorović. Forensic genetics and genotyping. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. DOI: 10.1515/SJECR-2016-0074. M51
5. Danijela Todorović, Katarina Vitošević, Miloš Todorović, Živana Slović. Formalin fixation of human healthy autopsied tissues: the influence of type of tissue, temperature and incubation time on the quality of isolated DNA. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. DOI: 10.2478/SJECR-2019-0020. M51
6. Zivana S. Slovic, Katarina Vitosevic, Radica Zivkovic Zaric, Nenad Mladjenovic and Milos S. Todorovic. Combined Homicide. *Racionalna terapija*, 2017; 10(1):47-52. M52
7. Slović Ž, Vitošević K, Jančić S, Matić S, Todorović M. Myocardial infarction at the patient with parathyroid adenoma. *Materia Medica*, 2017; 33 (1) 1494-1498. M52
8. Milutin Petrović, Gordana Tončev, Tatjana Bošković-Matić, Aleksandar Gavrilović, Živana Minić. Melas sindrom-prikaz bolesnika. *Medicinski časopis* 2011; 45 (2), 32-35. M52
9. Živana Minić, Suzana Matejić, Miloš Todorović, Olgica Vrndić, Milutin Petrović. Nagnječenje mozga-mehanizam nastanka i značaj. *Medicinski časopis* 2010; 44 (4), 16-19 M53
10. Živana Slović, Katarina Vitošević, Danijela Todorović, Miloš Todorović. Povrede kičme kod smrtno stradalih učesnika saobraćajnih nezgoda na teritoriji grada Kragujevca. 44 Oktobarski zdravstveni dani Srpskog lekarskog društva okružna produžnica Kragujevac, 24-25 Oktobar 2019, Kragujevac, Srbija, Sažeci radova. M34
11. Živana Slović, Miloš Todorović, Katarina Vitošević. The role of alcohol in fatal road traffic accidents in city of Kragujevac. The 27th International Meeting on Forensic Medicine Alpe-Adria-Panonia. Belgrade, Serbia, October 2-5, 2019. Book of Abstract. M34

12. Živana Slović, Katarina Vitošević, Danijela Todorović, Miloš Todorović. Forensic aspects of outliving period after road traffic accidents. DLUMS 5 th international congress Pirot, Serbia 23-25 Maj, 2019. M34
13. Slović Ž, Živković Zarić R, Vitošević K, Todorović D, Todorović S. M. The forensic aspects of accidents in city of Krafujevac. Meeting of Young Forensic Pathologists, 26-28 May 2016, Szeged, Hungary, Book of Abstracts. M34
14. Katarina Vitošević, Miloš Todorović, Živana Slović, Tatjana Varljen, Nenad Mladenović, Danijela Todorović. Formalin-fixed paraffin-embedded heart tissue as source for DNA typing analysis in forensic investigation. The 27th International Meeting on Forensic Medicine Alpe-Adria-Panonia. Belgrade, Serbia, October 2-5, 2019. Book of Abstract. M34
15. Katarina Vitošević, Miloš Todorović, Živana Slović, Stevan Matić, Tatjana Varljen, Danijela Todorović. The effect of formalin fixation on DNA extraction and molecular analysis of non-tumoral brain tissue excluded from autopsy. First Congress of Molecular Biologists of Serbia, 20-22 September 2017, Belgrade, Serbia, Book of Abstract. M34
16. Živković Zarić R, Vitošević K, Slović Ž, Đoković K, Todorović D, Todorović S. M. The forensic aspects of suicide in city of Krafujevac. Meeting of Young Forensic Pathologists, 26-28 May 2016, Szeged, Hungary, Book of Abstracts. M34
17. Suzana Matejić, Milena Šaranović, Danijela Todorović, Živana Minić, Miloš S-Todorović, Vesna Bošković. Forensic importance of exhumed human remains identification process, Balkan academy of forensic sciences, 11 th annual conference 10-13th of June 2015 Iasi, Romania, Book of Abstracts: 12, 13 M34
18. Matejic, M. Miletic, B. Mihajlovic, N. Deletic, V. Boskovic, M. Todorovic, D. Todorovic, Z. Minic. The role of importance of forensic teams in clarifying the fate of missing persons through governmental and nongovernmental institutions. The IX Annual Meeting of BAFS, Istanbul, Turkey 2013, Book of Abstracts. M34
19. S. Matejic, M. Miletic, B. Mihajlovic, N. Deletic, V. Boskovic, M. Todorovic, D. Todorovic, Z. Minic. Ten years after-challenges of exhumed human remains identification on the territory of Kosovo and Metohia. 21st International Meeting of Forensic Medicine, Sarajevo, 2012, Book of Abstracts. M34
20. Suzana Matejić, Milanka Miletic, Nebojša Deletić, Vesna Bošković, Gvozden Gagić, Živana Minić, Miloš Todorović. The identification of human remains exhumed in Kosovo and Metohija during the period from 2001 to 2009. International scientific conference „Archibald reiss days,, Belgrade, 3-4 March 2011, Thematic Conference Proceedings Vol.1: 245-252. M34

21. M. Todorovic, D. Todorovic, Z. Minic, S. Matejic, S. Savic Fatal work-related injuries: relationship between fatality rate and gender and age distribution. VII congress of BAFS, Tirana, Albania 2010, Book of Abstracts. PTH 28. M34
22. S. Matejić, V. Otašević, S. Mitrović, M. Todorović, Ž. Minić, N. Mladjenović, V. Jakšić, M. Milošević. The role of forensic anthropology in investigations of exhumed dead bodies in conflict and postconflict conditions in kosovo and metohija. The Sixth Annual Meeting of Balkan Academy of Forensic Sciences, 18-21. June 2009, Kavala, Greece, Book of Abstracts. M34
23. M. Todorović, S. Matejic, Ž. Minić, M. Obradović, I. Baralić. Injuries of workers with fatal outcome in going to or returning from work and on business trips. VI congress of BAFS, Kavala, Greece 2009, Book of Abstracts. M34
24. Živana Slović, Katarina Vitošević, Stevan Matić, Miloš Todorović. Totalna transpozicija organa i adenom paratiroidne žlezde, 42 Oktobarski zdravstveni dani srpskog lekarskog društva okružna produžnica Kragujevac, 19-20 Oktobar 2017, Kragujevac, Srbija, Sažeci radova. M33
25. Katarina Vitošević, Miloš Todorović, Živana Slović, Stevan Matić, Nenad Mladenović, Tatjana Varljen, Danijela Todorović. Izolovanje genomske DNK iz netumorskog tkiva bubrega izuzetog tokom sudskomedicinske obdukcije i fiksiranog u formalinu, 42 Oktobarski zdravstveni dani srpskog lekarskog društva okružna produžnica Kragujevac, 19-20 Oktobar 2017, Kragujevac, Srbija, Sažeci radova. M33
26. Živana Minić, Miloš Todorović, Suzana Matejić. Značaj sudskomedicinske obdukcije u utvrđivanju uzroka smrti. Drugi nacionalni kongres racionalne terapije u medicini, 7-8 novembar 2009, Kragujevac, Knjiga sažetaka. M33
27. Živana Minić, Miloš Todorović, Suzana Matejić. Uloga sudskomedicinske obdukcije u slučajevima prirodne smrti. XXXV Oktobarski zdravstvenidani, Kragujevac, Medicinski časopis 2010; 44 (1), 34. M64

ПРИЛОГ

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

Редни број - РБ:

Идентификациони број - ИБР:

Тип документације - ТД: Монографска публикација

Тип записа – ТЗ: Текстуални штампани материјал

Врста рада - ВР: Докторска дисертација

Аутор - АУ: Живана С. Словић

Ментор/коментор - МН: др сци. мед. Милош С. Тодоровић, доцент

Наслов рада - НР: Судскомедицинске карактеристике повреда и механизми повређивања смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама.

Језик публикације - ЈП: српски/ћирилица

Језик извода - ЈИ: српски/енглески

Земља публиковања - ЗП: Република Србија

Уже географско подручје – УГП: Централна Србија

Година – ГО: 2019. Година

Издавач – ИЗ: Ауторски репринт

Место и адреса – МС: 34 000 Крагујевац, Светозара Марковића 69, Република Србија

Физичи опис рада – ФО: 118 страна, 40 табела, 30 графикана

Научна област – УДК: Медицина

Научна дисциплина – ДИ: Судска медицина

Предметна одредница/ кључне речи – ПО: саобраћајна незгода, судскомедицинска обдукција, пешаци, повреде грудног коша, алкохол

Чува се - ЧУ: У библиотеци Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

Важна напомена - МН:

Извод - ИД:

Увод: Саобраћајне незгоде представљају велики здравствени проблем на глобалном нивоу чије су најтеже последице повреде, инвалидитети и смртни исход учесника.

Циљ: Анализа вулнерабилности и тренда различитих смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, објаснити механизам настанка повреда и узрока смрти.

Материјал и методе: Урађена је ретроспективна, аутопсијска студија пресека на материјалу Службе за судску медицину и токсикологију КЦ Крагујевац. У студију су укључени сви учесници саобраћајних незгода који су умрли од задобијених повреда или њихових компликација у периоду од 2001. до 2016. године.

Резултати: Студија је обухватала 525 учесника чија је смрт последица саобраћајне незгоде, односно 38% од укупно обдукованих. Мушкараца је било више него жена. Просечна старост учесника је била 52 ± 19 година, при чему су жене биле старије од мушкараца. Највулнерабилнији учесници су били пешаци (42%), возачи моторних возила (19%) и сувозачи (15%). Најчешће повређени део тела био је грудни кош (78%), затим глава (65%), а најмање су биле присутне повреде трбуха (38%). Повреда главе се издваја као најчешћи узрок смрти, било сингуларан или у комбинацији са другим узроцима, као што су искрварење и поремећај дисања. Нешто више од половине учесника (55%) је страдало на лицу места саобраћајне незгоде или на путу до одговарајуће здравствене установе, док је 45% учесника надживљавало повреде одређени временски период. Пешаци и бициклисти чешће надживљавају повреде, а возачи чешће страдају на лицу места, што је статистички значајно. Учесници саобраћајних незгода умрли на лицу места имају 12 пута већи ризик за предвајање можданог стабла, око 6 пута већи ризик за деструкцију костију лобање или разорење мозга и око 3 пута већи ризик за повреду вратне кичме. Код учесника умрлих на лицу места више од 8 пута је већи ризик за настанак руптуре аорте, а око 5 пута већи за развој пнеумоторакса и хемоторакса. Око 8 пута је већи ризик за настанак расцепа слезине и око 3 пута већи ризик за присуство расцепа или разорења јетре. Позитивна алкохолемија је доказана код 33% тестираних смртно страдалих учесника саобраћајних незгода, а средња вредност алкохолемије је била $1,4 \pm 0,9$ ‰. Алкохолисаних мушкараца је било више него жена, са значајно већом средњом вредношћу алкохолемије. Сваки трећи возач путничког моторног возила или возач мотоцикла био је у алкохолисаном стању.

Закључак: Најзаступљенији смртно страдали учесници саобраћајних незгода су пешаци, мушког пола, просечне старости око 60 година са повредама грудног коша од којих након повређивања умиру на лицу места.

Кључне речи: саобраћајна незгода, судскомедицинска обдукција, пешаци, повреде грудног коша, алкохол.

Датум прихватања теме од стране ННВ - ДП: 27.06.2017.године.

Датум одбране - ДО:

Чланови комисије - КО:

1. **Проф. др Слободан Милисављевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, председник;

2. **Проф. др Драган Јечменица**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Судска медицина, члан;

3. **Проф. др Бранко Ристић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан.

KEY WORDS DOCUMENTATION

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC

Accession number - ANO:

Identification number - INO:

Documentation type - DT: Monographic publication

Type of record - TR: Textual printed material

Contents code - CC: Ph. D. Thesis

Author - AU: Živana S. Slović

Menthor/co-mentor - MN: Assistant professor Miloš S. Todorović, M.D. Ph.D.

Title - TI: Forensic characteristics of injuries and mechanisms of injury to fatalities in road traffic accidents

Language of text - LT: Serbian / Cyrillic

Language of abstract: Serbian / English

Country of publication - CP: Republic of Serbia

Locality of publication - LP: Central Serbia

Publication year - PY: 2019.

Publisher - PU: Author reprint

Publication place - PP: 34 000 Kragujevac, Svetozara Markovica 69, Republic of Serbia

Physical description - PD: 118 pages, 40 tables, 30 charts

Scientific field - SF: Medicine

Scientific discipline - SD: Forensic medicine

Subject/key words - SKW: road traffic accident, autopsy, pedestrians, chest injuries, alcohol

UDC

Holding data: Library of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Republic of Serbia

Note - N:

Abstract - AB:

Introduction: Road traffic accidents represent a great health problem on the global scale with the hardest consequences being injuries, invalidity and deathly outcomes of the subjects.

Aim: The aim of this study was to analyze the vulnerability and the trends in the fatalities of road traffic accidents subjects, and to explain the mechanisms of injuries' occurrences and causes of death.

Materials and methods: The retrospective autopsy cross-sectional study was performed on the materials from the Clinical Centre of Kragujevac, Department of Forensic Medicine and Toxicology. The study included all of the participants in road traffic accidents who died from the sustained injuries or due to their complications during the period from 2001 to 2016.

Results: The study included 525 subjects who died due to the consequences of traffic accidents, i.e. 38 % of the total number of the autopsy cases. There were more men than women. The average age of the subjects was 52 ± 19 years, with women being older than men. The most vulnerable subjects were pedestrians (42%), motor vehicle drivers (19%) and front-seat passengers (15%). The chest injuries were the most frequent (78%), then the head injuries (65%) and finally abdominal injuries (38%). The head injury was the most frequent cause of death, on its own or in a combination with the other causes, such as the exsanguination or the breathing disorders. More than half of the subjects (55 %) died at the scene of the accident or on their way to the hospital, while 45 % of them outlived the injuries for a certain period of time. The pedestrians and the bicyclists outlived their injuries more frequently, while drivers died more frequently at the scene, which is statistically significant. The road traffic accidents' subjects who died at the scene were at 12 times higher risk of getting split brainstem, around 6 times higher risk for skull bones or brain destruction and around 3 times for cervical spine injury. There was also 8 times greater risk of aortic rupture, and around 5 times for the development of pneumothorax and haemothorax. Furthermore, there was around 8 times higher risk of the spleen rupture and around 3 times for the liver rupture or its complete destruction. The positive blood alcohol level was found in 33% of the tested deceased subjects, and the arithmetic value of the blood alcohol level was $1.4\pm 0.9\%$. Men were more intoxicated than women, with a significantly higher arithmetic value. Every third motor vehicle driver or motorcyclist was intoxicated.

Conclusion: The majority of fatalities in road traffic accidents are male pedestrians, average age being 60, with chest injuries and deathly outcome at the scene.

Accepted by the Scientific Board on - ASB: 27th June 2017.

Defended on - DE:

Thesis defended board (Degree/name/surname/title/faculty) - DB:

1. Full Professor **Slobodan Milisavljević**, M.D, Ph.D, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, scientific field Surgery, chairman;

2. Associate Professor **Dragan Ječmenica**, M.D, Ph.D, School of Medicine, University of Belgrade, scientific field Forensic medicine;

3. Full Professor **Branko Ristić**, M.D, Ph.D, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, scientific field Surgery, member.

Образац 1

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Живана Словић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Судскомедицинске карактеристике повреда и механизми повређивања смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама

која је одбрањена на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу _____, 27.11.2019. године,



потпис аутора

Образац 2

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Живана Словић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Судскомедицинске карактеристике повреда и механизми повређивања
смртно страдалих учесника у саобраћајним незгодама

која је одбрањена на Факултету медицинских наука

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

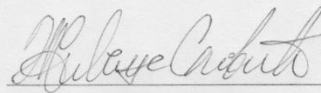
не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу _____, 27.11.2019. године,


потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org/rs/>

Радови који су били услов за пријаву завршене докторске дисертације

1. Slović Ž, Vitošević K, Todorović D, Todorović M. Forensic characteristics of chest injuries among subjects who died in road traffic accidents. *Vojnosanit Pregl.* 2019. Doi: 10.2298/VSP180626064S. M23.
2. Vitosevic K, Todorović M, Varljen T, Slović Z, Matić S, Todorović D. Effect of formalin fixation on pcr amplification of DNA isolated from healthy autopsy tissues. *Acta Histochemica*, 2018, 120(8):780-788. M23
3. K Vitošević, D Todorović, Ž Slović, R Živković Zarić, M Todorović. Forensic genetics and genotyping. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research.* DOI: 10.1515/SJECR-2016-0074. M51



VOJNOSANITETSKI PREGLED

VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA

Crnotravska 17, 11 000 **Beograd, Srbija**

Tel/faks: +381 11 2669689

vsp@vma.mod.gov.rs

ACCEPTED MANUSCRIPT

Accepted manuscripts are the articles in press that have been peer reviewed and accepted for publication by the Editorial Board of the *Vojnosanitetski Pregled*. They have not yet been copy edited and/or formatted in the publication house style, and the text could still be changed before final publication.

Although accepted manuscripts do not yet have all bibliographic details available, they can already be cited using the year of online publication and the DOI, as follows: article title, the author(s), publication (year), the DOI.

Please cite this article **FORENSIC CHARACTERISTICS OF CHEST INJURIES AMONG SUBJECTS WHO DIED IN ROAD TRAFFIC ACCIDENTS**

SUDSKOMEDICINSKE KARAKTERISTIKE POVREDA GRUDNOG KOŠA SMRTNO STRADALIH UČESNIKA U SAOBRAĆAJNIM NEZGODAMA

Authors Živana S Slović, Katarina Vitošević, Danijela Todorović, Miloš Todorović, *Vojnosanitetski pregled* (2019); Online First June, 2019.

UDC:

DOI: <https://doi.org/10.2298/VSP180626064S>

When the final article is assigned to volumes/issues of the Journal, the Article in Press version will be removed and the final version appear in the associated published volumes/issues of the Journal. The date the article was made available online first will be carried over.

**FORENSIC CHARACTERISTICS OF CHEST INJURIES AMONG SUBJECTS WHO
DIED IN ROAD TRAFFIC ACCIDENTS**

**SUDSKOMEDICINSKE KARAKTERISTIKE POVREDA GRUDNOG KOŠA SMRTNO
STRADALIH UČESNIKA U SAOBRAĆAJNIM NEZGODAMA**

Živana S Slović, Katarina Vitošević, Danijela Todorović, Miloš Todorović

Živana S Slović

University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Forensic
Medicine

Katarina Vitošević

University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Forensic
Medicine

Danijela Todorović

University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Genetics

Miloš Todorović

Clinical Center Kragujevac, Serbia, Department of Forensic Medicine and Toxicology

University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Forensic
Medicine

Correspondence to:

Živana S Slović

University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Forensic
Medicine

Svetozara Markovića 69, 34000 Kragujevac

Telefon: 069-3890089

E mail: zivanaminic@yahoo.com

Abstract

Background / Aim. In road traffic accidents, chest injuries are a critical factor since death usually occurs as a result of injuries to the heart and lungs, flail chest, pneumothorax, exsanguination etc. The aim of this study was to analyse the most vulnerable subjects in road accidents, as well as the most frequent and most significant types of chest injuries sustained by different categories of subjects, and to examine the relevance of certain injuries or risk factors to outliving the injuries. **Methods.** The autopsy, retrospective and cross-sectional study was performed at the Clinical Centre of Kragujevac, Department of Forensic Medicine and Toxicology. The study included all the participants in road traffic accidents on the territory of Kragujevac and the surrounding area who died from the injuries sustained or due to complications of the injuries during the period from 2001 to 2016. The subjects were divided into the following groups: pedestrians, motor vehicle drivers, front-seat passengers, back-seat passengers, bicyclists, motorcyclists and tractor drivers. Occurrence of injuries in three regions of the body (chest, head and abdomen) was analysed in all the subjects. **Results.** The study included 525 subjects who died due to injuries sustained in traffic accidents, which makes up for 38.4% of the total number of 1,366 autopsy cases covered by the study period. The average age of the subjects was 52±19 years. The study sample consisted of 391 (74.5%) men and 134 (25.5%) women. The most vulnerable subjects were pedestrians (220, i.e. 41.9%), followed by motor vehicle drivers (98, i.e. 18.7%), front-seat passengers (79, i.e. 15%), motorcyclists (39, i.e. 7.4%), bicyclists (38, i.e. 7.2%), back-seat passengers (29, i.e. 5.5%) and tractor drivers (22, i.e. 4.2%). Chest injuries were identified in 408 subjects (77.7%), while the most frequent type of injury was rib fracture, observed in two thirds of the sample. Out of the total number, 291 (55.4%) subjects died at the scene of the accident or on their way to the hospital, while 234 (44.6%) of them outlived injuries for a certain period of time. Drivers exhibited the highest risk of dying at the scene, while bicyclists outlived their injuries more frequently. **Conclusion.** Chest injuries are very common in subjects who died at the scene of road traffic accident.

Key words:

autopsy; accident; traffic; thoracic injuries; pedestrian; rib fractures.

Апстракт

Uvod/Cilj: Повреде грудног коша су значајне у саобраћајном трауматизму јер су чест узрок смрти због повреда виталних органа – срца и плућа, торакалног капка, пнеумоторакса, повреда великих крвних судова итд. Циљ ове студије био је анализа vulnerabilности различитих учесника у саобраћајним незгодима, утврђивање које су то најучесталије и најзначајније повреде грудног коша код различитих учесника, као и да се испита значај појединих повреда или фактора ризика за надживљавање повреда. **Методe.** Урађена је ретроспективна, аутопсијска, студија пресека на материјалу Службе за судску медицину и токсикологију, Клиничког центра Крагујевац. У студију су укључени сви учесници саобраћајних незгода који су умрли од задобijenih повреда или њихових компликација на територији града Крагујевца са околином, у периоду од 2001. године до 2016. године. Учесници су подељени у следеће групе: пешаци, воzaчи моторних возила, сувоzaчи, путници у возилу, бикиклисти, мотоциклисти и воzaчи трактора. Код свих учесника је анализирано присуство регионалних повреда (грудног коша, главе, абдомена). **Резултати.** Студија је обухватала 525 учесника чија је смрт последица саобраћајне незгоде, што чини 38,4% од укупног броја обдукција (1366). Просечна старост учесника била је 52±19 година. Мушкарца је било 391 (74,5%), а жена 134 (25,5%). Најvulnerabilнији учесници су били пешаци (220 или 41,9%), воzaчи моторних возила (98 или 18,7%), сувоzaчи (79 или 15%), мотоциклисти (39 или 7,4%), бикиклисти (38 или 7,2%), путници (29 или 5,5%) и воzaчи трактора (22 или 4,2%). Повреда nekог дела грудног коша је била присутна код 408 учесника (77,7%), а најучесталија повреда је била прелом nekог ребра, која је евидентирана код две трећине учесника. Од укупног броја, 291 (55,4%) учесник је страдао на лицу места или на путу до одговарајуће здравствене установе, док је 234 (44,6%) учесника надживљавало повреде неко време. Воzaчи имају већу шансу да умру на лицу места, док бикиклисти чеšће надживљаву повреде. **Закључак.** Повреде грудног коша честе су у случајевима смртног ishoda на лицу места у саобраћајним незгодима.

Кључне речи:

аутопсија; незгода; саобраћај; повреде грудног коша; пешак; прелом ребара.

Introduction

Out of all causes of death on the global scale, road traffic trauma is currently ranked ninth, albeit with a tendency to grow¹. It is estimated that in 2030 it might be the fifth leading cause of death in the world, with 2.4 million deceased per year¹. In road traffic accidents (RTAs), 1.25 million people die every year, which is more than 3,000 death instances per day¹. The World Health Organization has identified pedestrians, bicyclists and motorcyclists as the most vulnerable categories of participants in RTAs, given the increased likelihood of sustaining a serious injury in accidents compared to drivers of motorised vehicles and passengers inside¹.

Blunt chest trauma (BCT) makes up for 10-15% of all injuries and is identified as the main cause of death in approximately 25% of the subjects, while in approximately another 25% of instances it is the contributing factor of deathly outcomes^{2,3}. In RTAs, chest injuries are the most numerous ones and are observed in approximately 60-80% of the instances⁴⁻⁶, while in terms of causes of death, these injuries are found in approximately 15% of the casualties³. The most frequently injured are men in their 40s^{5,7}.

RTA injuries to the chest remain a significant cause of morbidity and mortality. In the majority of RTAs, injuries to the chest are combined with trauma of other regions of the body, such being the head or abdomen⁵. Rib fracture is one of the most common BCTs^{5,8}. Studies have reported that as the number of rib fractures increases, the number of complications increases, too, as well as mortality rates^{8,9}, which is particularly pronounced in the elderly population¹⁰. Deceleration thoracic injuries are of great relevance (traumatic aortic transection, flail chest, myocardial contusion), most commonly occurring in motor vehicle collisions, and are classified as life-threatening injuries¹¹.

There are merely few studies dealing with the frequency and consequences of chest injuries in RTAs in the territory of the Republic of Serbia. A study conducted during the 1973–1988 period in the territory of Serbia concluded that chest injuries were observed in 62% of subjects involved in RTAs¹². Thirty years later, RTAs remain the most common mechanism of chest injury in the territory of Serbia (approximately 64%)⁵. Nikolić et al. demonstrated that chest organ injuries are most frequently concomitant in RTAs, and that there is a high probability

that the fatally injured one be the motor vehicle driver, with a number of concomitant injuries of the thoracic aorta, heart and pericardium, as well as with fractured thoracic cage bones^{13,14}.

Daskal et al. evidenced that severe chest injuries were most common in front-seat passengers when compared to drivers and other passengers in the vehicle¹⁵.

The aim of this study was to analyse the most vulnerable RTA participants, to analyse the frequency and types of chest injuries among different subjects, as well as to examine the relevance of certain specific chest injuries and risk factors in outliving the injuries.

Methods

The epidemiological (observational) analytical, retrospective and cross-sectional autopsy study was conducted at the Clinical Centre of Kragujevac, Department of Forensic Medicine and Toxicology, for a sixteen-year period (between 2001 and 2016). The study included 525 RTA subjects (38.4% of 1,366) who died from sustained injuries or complications of the injuries in the territory of Kragujevac and the surrounding area. The subjects were included in the study according to the police reports, requests for forensic autopsy obtained from competent courts or prosecution or, in rare instances, based on retrospectively acquired hetero-anamnestic information. The data on the injuries sustained were obtained by analysing the autopsy records, as well as the available medical documentation. The study did not include children under 14 years of age and all subjects shorter than 150 cm.

Subjects were analysed in terms of gender, age and type of involvement in traffic accidents. Frequency of accidents was observed depending on the month of the year and the day of the week. According to their type of involvement in RTAs, all subjects were classified into the following groups: pedestrians, motor vehicle drivers, front-seat passengers, back-seat passengers, bicyclists, motorcyclists and tractor drivers. Chest injuries were classified into the following groups: bone fractures of the chest (sternum, thoracic spine, unilateral or bilateral rib fractures), lung injuries (unilateral or bilateral: contusions, lacerations, disruptions), cardiac injuries (rupture of the pericardium, myocardial rupture, contusion, cardiac tamponade), aortic injuries (haematoma of adventitia of the aorta, aortic rupture), pneumothorax (unilateral or bilateral) and haemothorax. In addition, the analysis included simultaneous occurrence of chest injuries and head or abdominal trauma. When considering the outliving period, the subjects were divided into two categories: subjects who died at the scene of the accident and those who outlived their injuries for a certain period of time.

Statistical Package for Social Sciences – SPSS for Windows, Version 20 (SPSS Inc Chicago, IL) was used for processing data. All numerical variables were tested with the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilks tests for normal distribution as criteria for further implementation of parametric methods. According to the distribution of data, appropriate descriptive statistics were employed (mean values with standard deviation or median with interquartile range – IQR). To estimate the differences between variables that exhibited parametric distribution, the Student's t-test was used. In variables that showed a nonparametric distribution, the Pearson's chi-square test (with Yates correction) and Kruskal-Wallis test were applied. Analysis of the connection of dichotomous dependent variable (immediate death versus death after a period of outliving) and observational independent variables (injuries of certain body parts) was carried out by way of binary logistic regression, and the results were presented as crude Odds Ratio (OR) with 95% confidence interval (CI). After applying corrections for the influence of other independent and confounding variables, the acquired data were expressed as adjusted OR with 95% CI. The p value of 0.05 has been considered to be significant.

This study was conducted with the approval of the Ethical Committee of the Clinical Centre of Kragujevac (18/10/2016, No 01/13221).

Results

The study included 525 subjects, whose average age was 52.4 ± 19.4 years (ranging from 16 to 92 years). There were 391 (74.5%) men, aged 51.3 ± 19.6 years (ranging from 16 to 92 years) and 134 (25.5%) women, aged 55.8 ± 18.5 years (ranging from 16 to 84 years). The ratio of male and female subjects was approximately 3:1 ($\chi^2=125.808$; $df=1$; $p=0.000$). On average, the women were older than men (t test= -2.370 ; $p=0.019$), which has been shown in all age groups ($\chi^2=8.735$; $df=3$; $p=0.033$). A detailed overview of the results is provided in Table 1.

Among all the different categories of subjects, tractor drivers were the oldest (Kruskal Wallis test= 100.34 ; df 7; $p=0.000$). In addition, tractor drivers were the subjects with the highest percentage of identified chest injuries. The distribution of subjects according to RTA participation, their age and occurrence of chest injuries is provided in Table 2.

Depending on the month of the year, the largest number of fatal RTAs was recorded in September (63, i.e. 12%), followed by August and October (60, i.e. 11.4%), while the fewest accidents took place in March (20, i.e. 3.8%) and February (25, i.e. 4.8%) ($\chi^2=47.274$; $df=11$; $p=0.000$). When observing the days of the week, the highest number of fatal RTAs was recorded

on Wednesdays (92, i.e. 18%), followed by Fridays and Sundays (85, i.e. 16%), while the fewest such accidents took place on Mondays (47, i.e. 9%) ($\chi^2=20.853$; $df=6$; $p=0.002$).

In the study sample, chest injuries were identified in 408 (77.7%) out of 525 subjects, followed by head injuries (skull fractures or intracranial bleeding), which were observed in 339 (64.6%) out of 525 subjects. Abdominal injuries were found in 201 (38.3%) out of 525 subjects. Almost half of the subjects (241 out of 525, i.e. 45.9%) suffered from concomitant chest and head injuries, while one third of them (188 out of 525, i.e. 35.8%) sustained concomitant chest and abdomen injuries. Simultaneous occurrence of chest, head and abdominal injury was identified in 103 out of 525 (19.6%) instances ($\chi^2=193.830$; $df=1$; $p=0.000$).

Subjects who had died at the scene in RTA were more likely to have sustained chest injuries, which proved to be statistically significant ($\chi^2=14.99$; $df=1$; $p=0.000$). Regional types of injuries analysed by using the binary logistic regression is presented in Table 3.

From the total number of 525, 291 (55.4%) subjects died at the scene of the accident or on their way to the hospital (their average age was 48.8 ± 19.3 years), while 234 (44.6%) out of 525 subjects outlived the injuries (their average age was 56.9 ± 18.7 years) for a certain period of time. Subjects who outlived their injuries were of older age ($t\text{-test}=4.89$; $p=0.000$). In 46 (8.8%) out of 525 subjects, the main cause of death was a complication of injury (pneumonia, sepsis, thromboembolism or fat embolism). Subjects who outlived the injuries differed in terms of type of their RTA involvement: pedestrians and bicyclists outlived their injuries more frequently, while motor vehicle drivers were more likely to die at the scene (Table 4).

The most frequent type of chest injury was fracture of the ribs on both sides of the chest. The odds for subjects who died at the scene in RTAs to have sustained fracture of the ribs on both sides of the chest is approximately two times higher than for the other subjects who outlived the accidents for some time. Presence of different rib cage fractures analysed using binary logistic regression is presented in Table 5.

The association of lung parenchymal injuries with rib fractures has statistical significance ($\chi^2=109.563$; $df=6$; $p=0.000$). The most common type of lung injury is bilateral lung contusion (122 out of 525 subjects, i.e. 23.2%), and odds that the subjects who died at the scene to sustained this type of injury are twice as high as for the rest of the subjects (OR 1.816; 95% CI 1.189-2.773). The odds of occurrence of bilateral lung lacerations in those who died instantly are approximately four times higher than in the other subjects (OR 4.098; 95% CI 2.017-8.324).

Subjects who died at the scene of the accident had frequently sustained injuries of the heart and the aorta (Table 6). The odds of occurrence of pericardial rupture in those who died at the scene are approximately five times higher than in the other subjects (OR 4.730; 95% CI 1.341-16.685), while the odds of occurrence of aortic rupture in those who died at the scene are approximately nine times higher than in the other subjects (OR 9.388; 95% CI 4.404-20.015). Aortic adventitial hematoma is significant, as well, hence the odds of occurrence of this type of injury are approximately six times higher for the subjects who died at the scene of the accident (OR 6.075; 95% CI 2.058-17.929).

Haemothorax was identified in 206 (39.2%) out of 525 subjects, while in 203 (98.5%) out of 525 of them combinations of haemothorax and rib fractures occurred, and haemopneumothorax was identified in 85 (41%) out of 525 subjects. The connection between haemothorax and fractured ribs has statistical significance ($\chi^2=94.605$; $df=1$; $p=0.000$). Unilateral and bilateral pneumothorax are often accompanied by rib fractures, which is statistically significant ($\chi^2=15.237$; $df=1$; $p=0.000$ and $\chi^2=8.921$; $df=1$; $p=0.003$). The occurrence of unilateral pneumothorax, bilateral pneumothorax and haemothorax in subjects dying at the scene of the accident is statistically significant (Table 7).

Numerous risk factors (the existence of different chest injuries or demographic features) proved to be in significant connection with immediate deathly outcomes of RTAs in two groups of subjects. After adjusting the results for gender and occurrence of other chest injuries, only a few of the above mentioned risk factors remained statistically significant to be associated with immediate deathly outcomes. The multivariate logistic regression resulted in strong associations (Cox & Snell R square 0.336, Nagelkerke R square 0.450, Hosmer-Lemeshow, $\chi^2=6.876$, $df=8$, $p=0.550$, overall model accuracy of 77.1%). Details are presented in Table 8.

Discussion

The aim of this study was to estimate the frequency and characteristics of RTA chest injuries in the region of Kragujevac in order to better understand their significance and define preventive measures for the most vulnerable population categories. Demographic data revealed that males contributed to the total account of subjects in much higher numbers compared to

females, and this was also applicable to the total number of the deceased and RTA participants pertaining to different categories. Similar results have been reported in studies conducted in Germany¹⁶, Hungary¹⁷, India¹⁸ and Turkey¹⁹, where men accounted for 70-85% of casualties in RTAs.

According to the results obtained in this study, tractor drivers are among the oldest of subjects, and comparable results have been reported in other studies, as well. In Portugal, for instance, most of the tractor drivers involved in RTAs are between 60 and 70 years old²⁰, while in Sweden more than half of the casualties are aged 55 and older²¹. The most vulnerable subjects in this research were pedestrians, which is in accordance with conclusions of similar studies conducted in the world, where pedestrians made up for 45% of the deceased RTA participants in underdeveloped countries, 29% in developing countries, while in the developed countries pedestrians made up for approximately 18% of the casualties^{16,22}. A high number of deceased pedestrians in the present research could be explained by a large number of decrepit and old vehicles, poor road infrastructure as well as by irresponsible behavior of pedestrians. Pedestrians have been identified as the most numerous and the most heterogeneous category of traffic participants and they are the least protected subjects. A great majority of the deceased pedestrians in RTAs was older than 65. These findings could be explained by the fact that elderly pedestrians have difficulties in noticing potential dangers and do not respond to them timely, they frequently have dementia, hearing or sight impairments which also makes it more difficult for them to participate in traffic^{17,23,24}, while recovery from trauma is more demanding than in the younger population^{10,16}. The largest number of motorcyclists and motor vehicles drivers was in the 35-45 age category, which included the working population, and this also correlates to the results of the rest of the studies²⁵⁻²⁸.

Seasonal differences were noticed when it comes to RTA deathly outcomes, and these could be explained by greater activity during summer and autumn when compared to winter, which is partially in accordance with the results from other studies^{17,19}. The smallest number of fatal RTAs took place on Mondays, the first work day of the week, i.e. when subjects were not tired, while the majority of fatal RTAs took place in the middle of the week and at weekends, when the working population was more exhausted and when the younger population was usually more active, because of going to restaurants and alcohol abuse^{17,19}.

In the present study, injuries of individual parts of the chest were identified in two thirds of the subjects, head injury came in second by incidence and abdomen injuries were the least frequent, which largely coincides with results from other studies^{16,25}. Traffic injuries exhibit certain characteristics according to type of injury and extension, which is explained by the presence of an enormous action force that is generated as a result of mass and acceleration multiplication which the body absorbs during an accident. The injury occurs due to the absorption of the external force upon impact, acceleration or deceleration, whereas the body tends to maintain its original position and speed^{29,30}. According to this study, the majority of the deceased subjects were pedestrians, while due to the poly-phase mechanism of injury, chest injuries were among the most common type of trauma. Primary injuries sustained by pedestrians were caused by the first impact of the vehicle (usually in the legs), secondary injuries were caused by contact with the vehicle, while tertiary ones were caused by subsequent contact with the terrain as a result of falling against the ground^{29,31}. Depending on the profile of the front end of the car, the pedestrian struck was either thrown forward in the direction of the movement in cases of the bonnet front being high and blunt, or scooped up onto the bonnet top, as with many slope-fronted modern vehicles. If the car speed is appreciable, the body can be thrown into the air or knocked down flat with a severe impact^{11,29,31}. Motor vehicle drivers sustained direct chest injuries due to impact against the front part of the vehicle interior, i.e. the steering wheel, as well as hyperextension and deceleration³²⁻³⁴. The large percentage of chest injuries among tractor drivers in this study sample could be explained by the characteristics of the vehicle and the mechanism by which the accident occurred. Namely, these are usually tractors without a cab in which drivers can be knocked out of their seat rather easily. Furthermore, the tractors or implement machinery could capsize or trailers could tip and end on top of the driver, and in those instances, chest injuries are inevitable.

Subjects who died at the scene of the accident are virtually twice more likely to have sustained chest trauma than the other subjects, a fact which is in correlation with El-Menyar et al.³, who point out that such chances are approximately two times higher if chest injuries are sustained. The chances that subjects who have died at the scene sustained simultaneous chest and abdominal injuries are more than two times higher, while the chances for occurrence of simultaneous injuries to the head, abdomen and the chest are more than three times higher for subjects who died at the scene. Similar results have been reported in other studies, according to

which subjects with simultaneous chest, head and abdominal injuries were most likely to die at the scene or during the first few hours^{3,35} following the accident.

In this study, more than half of the subjects died at the scene of the accident or on their way to a healthcare facility, while the remaining ones outlived their injuries for a certain period of time. This is in accordance with data from other studies, in which approximately 50% of the subjects died at the scene or on their way to the hospital^{17,19}. In several studies, the published results deviate from those presented here, where mortality rate at the scene of the accident is approximately 65%^{16,18}, while Reddy et al.²⁵ stated that only 20% of subjects died at the scene. Organisational structure of the services for transporting injured persons, technical equipment of vehicles and availability of vehicles could explain the differences in the above stated results. Subjects who died at the scene were of younger age compared to those who died in the hospital, because these are mainly motor vehicles drivers and motorcyclists who are prone to risky behavior, and they suffer from serious injuries, which correlates to the results of other studies¹⁷. The results of this study accentuate that a large number of subjects who died at the scene of the accident pertained to the group of motor vehicle drivers and motorcyclist, who were classified in the group of younger RTA subjects. Bicyclists were the category of subjects who outlived their injuries most frequently. This could be explained by the distribution of injuries, localised mostly in the pelvic region and lower limbs, and least often in the chest area. It is important to mention that one quarter of the bicyclists experienced pneumonia complications during hospitalisation. Similar distribution of bicyclist injuries is evidenced by certain other studies^{17,36,37}.

Rib fractures are among the most frequent injuries in RTAs, with a share of 60-70%^{5,25}. The authors established that rib fracture was followed by damaged blood vessels and haemothorax, as this was largely present in all subjects. Subjects with bilateral fractures of the ribs and bilateral fractures of the ribs accompanied by sternal fracture were approximately twice as likely to die at the scene. In their study, Kent et al.³⁸ found that the odds ratio for death of younger subjects (aged 18-45) with rib fractures was smaller than for older subjects (over 64 years). Regardless of the presence or absence of concomitant trauma, subjects with rib fractures are at significantly increased risk of in-hospital mortality³⁸.

Lung contusions were either caused by effects of direct force originating from the fractured ribs, or via effects of indirect force on lung tissue, in cases without rib fractures. Bilateral lung contusions were the most frequent type of injury of intrathoracic organs of the

following RTA subjects: pedestrians, passengers, bicyclists, motorcyclists and tractor drivers. Similar results have been reported in other studies, as well^{3,25}.

Subjects with myocardial rupture and tamponade died at the scene of the accident. In cases of myocardial rupture, death occurs within a few moments, and the diagnosis is most frequently set during autopsy³⁹. According to the results of this study, aortic rupture was the most frequent injury of intrathoracic organs in motor vehicle drivers and front-seat passengers. Aortic rupture is classified in the group of deceleration thoracic injuries, most commonly occurring in motor vehicle collisions, with front-seat occupants being the most vulnerable category^{11,13}.

By analysing the occurrence of different types of chest injuries in subjects, the authors obtained results which accentuated the relevance of certain types of injuries and the characteristics of deathly outcomes at the scene of the accident. Motor vehicle drivers were nearly three times more likely to die at the scene when compared to other subjects. This could be explained by the fact that motor vehicle drivers frequently sustain aortic rupture, pneumothorax or haemothorax, which are life-threatening injuries that increase dramatically the chances for deathly outcomes at the scene of the accident. According to the obtained results, subjects who died at the scene of the accident are highly likely to have sustained aortic rupture, fracture of the thoracic spine and pneumothorax.

Unlike other studies which employ data from all RTAs^{3,15,22,40}, the authors only used the data on RTAs with fatal outcomes, i.e. autopsy reports. This could explain the partial difference between the results obtained herein and certain results reported by other studies in the world. The present results should be interpreted considering several limitations: absence of traffic police reports from the scene of the accident, limited geographical area, exclusion of children under 14 years of age and shorter than 150 cm. These would provide data on the exact time of an RTA, road conditions at the time of the accident, traffic accident expertise (type of vehicle, speed of impact), application of protective gear (seatbelts, helmets), as well as the extent of driving experience of RTA participants.

Conclusion

The majority of fatalities in RTAs are male pedestrians, with average age being 51, who died after outliving their injuries for a certain period of time. Chest injuries are the most numerous ones in such accidents, and the most frequent type of injury is rib fracture combined

with haemothorax. Chest injuries are frequently life-threatening or result in serious health consequences.

Autopsy in cases of fatal RTAs is extremely important, because it is the only way to identify all of the injuries and explain the mechanisms of their occurrence; hence the data obtained in such procedures are irreplaceable.

Acknowledgements

The authors would like to express their gratitude to Srđan Stefanović for his invaluable assistance in statistical data processing.

REFERENCES

1. *World Health Organization 2015*; Geneva. Global status report on road safety. 2015.
2. *O'Connor JV, Adamski J*. The diagnosis and treatment of noncardiac thoracic trauma. *J R Army Med Corps*. 2010; 156(1):5–14.
3. *El-Menyar A, Abdelrahman H, Al-Hassani A, Ellabib M, Asim M, Zarour A, et al*. Clinical Presentation and Time-Based Mortality in Patients With Chest Injuries Associated With Road Traffic Accidents. *Arch Trauma Res*. 2016; 5(1):e31888.
4. *Stewart DJ*. Blunt chest trauma. *J Trauma Nurs*. 2014; 21(6):282-4; quiz 285-6.
5. *Turkalj I, Petrović K, Stojanović S, Petrović D, Brakus A, Ristić J*. Blunt chest trauma-an audit of injuries diagnosed by the MDCT examination. *Vojnosanit Pregl*. 2014; 71(2):161-6.
6. *Hemmati H, Kazemnezhad-Leili E, Mohtasham-Amiri Z, Darzi AA, Davoudi-Kiakalayeh A, Dehnadi-Moghaddam A, et al*. Evaluation of chest and abdominal injuries in trauma patients hospitalized in the surgery ward of poursina teaching hospital, guilan, iran. *Arch Trauma Res*. 2013; 1(4):161-5.
7. *Liman ST, Kuzucu A, Tastep AI, Ulasan GN, Topcu S*. Chest injury due to blunt trauma. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2003; 23(3):374-8.
8. *Yeh DD, Kutcher ME, Knudson MM, Tang JF*. Epidural analgesia for blunt thoracic injury— which patients benefit most? *Injury*. 2012; 43(10):1667–1671.
9. *Okutani D, Moriyama S, Ootsuka T, Niman E, Kashima H, Kuroda M, et al*. Assessment of traumatic rib fractures caused by traffic accident. *Kyobu Geka*. 2014; 67(5):362-5.

10. *Stawicki SP, Grossman MD, Hoey BA, Miller DL, Reed JF 3rd*. Rib fractures in the elderly: a marker of injury severity. *J Am Geriatr Soc*. 2004; 52(5):805-8.
11. *Swan KG Jr, Swan BC, Swan KG*. Decelerational thoracic injury. *J Trauma*. 2001; 51(5):970-4.
12. *Cvetanović D, Stepić V, Stanić V, Kurtović Z*. Injuries of the thorax. *Vojnosanit Pregl*. 1991; 48(1): 23-6.
13. *Nikolić S*. Forensic expertise of thoracic aorta, heart and pericardial injuries in car-occupant fatalities. *Srp Arh Celok Lek*. 2009; 137(11-12): 627-31.
14. *Nikolić S, Strajina V, Zivković V*. The mechanism of injuring of front-seat passengers in head-on motor vehicle collisions: forensic issues. *Srp Arh Celok Lek*. 2013; 141(5-6):409-14.
15. *Daskal Y, Alfici R, Givon A, Peleg K, Olsha O, Kessel B*; et al. Evaluation of differences in injury patterns according to seat position in trauma victims survived traffic accidents. *Chin J Traumatol*. 2018; 21(5): 273-276.
16. *Pfeifer R, Schick S, Holzmann C, Graw M, Teuben M, Pape HC*. Analysis of Injury and Mortality Patterns in Deceased Patients with Road Traffic Injuries: An Autopsy Study. *World J Surg*. 2017; 41(12): 3111-9.
17. *Toro K, Hubay M, Sotonyi P, Keller E*. Fatal traffic injuries among pedestrians, bicyclists and motor vehicle occupants. *Forensic Sci Int*. 2005; 151(2-3):151-6.
18. *Farooqui JM, Chavan KD, Bangal RS, Syed MMA, Thacker PJ, Alam S*, et al. Pattern of injury in fatal road traffic accidents in a rural area of western Maharashtra, India. *Australas Med J*. 2013; 6(9): 476-82.
19. *Dirlik M, Bostancioglu BC, Elbek T, Korkmaz B, Callak Kallem F, Gun B*. Features of the traffic accidents happened in the province of Aydin between 2005 and 2011. *Ulus Travma Acil Derg*. 2014; 20(5): 353-8.
20. *Antunes SM, Cordeiro C, Teixeira HM*. Analysis of fatal accidents with tractors in the Centre of Portugal: Ten years analysis. *Forensic Sci Int*. 2018; 287: 74-80.
21. *Pinzke S, Nilsson K, Lundqvist P*. Tractor accidents in Swedish traffic. *Work*. 2012; 41 (Suppl 1): 5317-23.
22. *Naci H, Chisholm D, Baker T D*. Distribution of road traffic deaths by road user group: a global comparison. *Inj Prev*. 2009; 15(1): 55-9.

23. *Sadeghi-Bazargani H, Samadirad B, Moslemi F.* A decade of road traffic fatalities among the elderly in north-West Iran. *BMC Public Health.* 2018; 18(1): 111.
24. *Honnungar RS, Manipady S, Bastia BK.* Cataract as the root cause of fatal road traffic accidents in pedestrians. *Med Sci Law.* 2011; 51(2): 114-5.
25. *Reddy NB, Hanumantha, Madithati P, Reddy NN, Reddy CS.* An epidemiological study on pattern of thoraco-abdominal injuries sustained in fatal road traffic accidents of Bangalore: Autopsy-based study. *J Emerg Trauma Shock.* 2014; 7(2): 116-20.
26. *Peymani P, Heydari ST, Hoseinzadeh A, Sarikhani Y, Hedjazi A, Zarenezhad M, et al.* Epidemiological characteristics of fatal pedestrian accidents in Fars Province of Iran: a community-based survey. *Chin J Traumatol.* 2012; 15(5): 279-83.
27. *Zhao H, Huang W, Yang GY, Chen R, Liu SX, Yu YM, et al.* Analysis of 86 fatal motorcycle frontal crashes in Chongqing, China. *Chinese Journal of Traumatology.* 2012; 15(3): 170-174.
28. *Mirza FH, Hassan Q, Jajja Nadia.* An autopsy-based study of death due to road traffic accidents in metropolis of Karachi. *J Pak Med Assoc.* 2013; 63(2): 156-60.
29. *Shkrum JM, Ramsay AD.* Forensic Pathology of Trauma: Common Problems for the Pathologist. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc; 2007.
30. *Liu W, Zhao H, Li K, Su S, Fan X, Yin Z.* Study on pedestrian thorax injury in vehicle-to-pedestrian collisions using finite element analysis. *Chinese Journal of Traumatology.* 2015; 18(2): 74-80.
31. *Zhang G, Cao L, Hu J, Yang KH.* A Field Data Analysis of Risk Factors Affecting the Injury Risks in Vehicle-To-Pedestrian Crashes. *Ann Adv Automot Med.* 2008; 52: 199-214.
32. *Kibayashi K, Shimada R, Nakao K.* Fatal traffic accidents and forensic medicine. *IATSS Research.* 2014; (38): 71–76.
33. *Ndiaye A, Chambost M, Chiron M.* The fatal injuries of car drivers. *Forensic Sci Int.* 2009; (184) 21–27.
34. *Ripple MG, Grant JR, Mealey J, Fowler DR.* Evaluation of aortic injury in driver fatalities occurring in motor vehicle accidents in the State of Maryland for 2003 and 2004. *Am J Forensic Med Pathol.* 2008; 29(2): 123-7.
35. *Bamvita JM, Bergeron E, Lavoie A, Ratte S, Clas D.* The impact of premorbid conditions on temporal pattern and location of adult blunt trauma hospital deaths. *J Trauma.* 2007; 63(1): 135-41.

36. *Olds K, Byard RW, Langlois NE.* Injury patterns and features of cycling fatalities in South Australia. *J Forensic Leg Med.* 2015; 34:99-103.
37. *Hitosugi M, Koseki T, Miyama G, Furukawa S, Morita S.* Comparison of the injury severity and medical history of disease-related versus trauma-related bicyclist fatalities. *Leg Med.* 2016; 18:58-61.
38. *Kent R, Woods W, Bostrom O.* Fatality risk and the presence of rib fractures. *Ann Adv Automot Med.* 2008; 52:73-82.
39. *Baldwin D, Chow KL, Mashbari H, Omi E, Lee JK.* Case reports of atrial and pericardial rupture from blunt cardiac trauma. *J Cardiothorac Surg.* 2018; 13(1):71.
40. *Almeida RL, Bezerra Filho JG, Braga JU, Magalhaes FB, Macedo MC, Silva KA.* Man, road and vehicle: risk factors associated with the severity of traffic accidents. *Rev Saude Publica.* 2013; 47(4): 718-31.

Table 1

The distribution of RTA* subjects by age ranges and sex

Age ranges	Men	Women	Total
	Number (%)	Number (%)	Number (%)
16-35	97 (24.8)	21 (15.7)	118 (22.5)
36-50	76 (19.4)	19 (14.2)	95 (18.1)
51-65	104 (26.6)	44 (32.8)	148 (28.2)
> 65	114 (19.2)	50 (37.3)	164 (31.2)
Total	391 (100)	134 (100)	525 (100)

* road traffic accidents.

Table 2

The distribution, age and presence of chest injuries according to types of RTA† participation

	Total (%)	Median (IQR††) (years)	Presence of chest injuries (%)
Pedestrians	220 (41.9)	62 (51-74.5)	172 (78.2)
Motor vehicle drivers	98 (18.7)	43.5 (32-55)	81 (82.7)
Front seat passengers	79 (15)	47 (26-62)	63 (79.7)
Back seat passengers	29 (5.5)	53 (26-64)	20 (69)
Bicyclists	38 (7.2)	58.5 (49-67)	26 (68.4)
Motorcyclists	33 (7.4)	34 (24-40)	23 (69.7)
Tractor drivers	22 (4.2)	63.5 (54-71)	20 (90.9)

† road traffic accidents, †† interquartile range.

Table 3

Regional types of injuries analysed by using the binary logistic regression

	Subjects who died at the scene (%)	Subjects who outlived the injuries (%)	Crude OR‡, (95%CI‡‡)	p value
Chest injury	245 (60)	163 (40)	1.778 (1.076-2.940)	<0.05
Chest and head injury	134 (55.6)	107 (44.4)	0.397 (0.231-0.684)	<0.05
Chest and abdomen injury	128 (68.1)	60 (31.9)	2.320 (1.523-3.533)	<0.05
Chest, abdomen and head injury	73 (70.9)	30 (29.1)	3.208 (1.467-7.016)	<0.05

‡ Odds Ratio, ‡‡ confidence interval.

Table 4

The distribution of subjects according to type of participation and outliving period

	Subjects who died at the scene (%)	Subjects who outlived the injuries (%)	p value (Chi- square test)
Pedestrians	101 (45.9)	119 (54.1)	<0.05
Motor vehicle drivers	73 (74.5)	25 (25.2)	<0.05
Front seat passengers	49 (62.0)	30 (38.0)	>0.05
Back seat passengers	17 (58.6)	12 (41.4)	>0.05
Bicyclists	12 (31.6)	26 (68.4)	<0.05
Motorcyclists	24 (58.3)	15 (41.7)	>0.05
Tractor drivers	15 (68.2)	7 (31.8)	>0.05

Table 5

Presence of different rib cage fractures analysed using binary logistic regression

	Subjects who died at the scene (%)	Subjects who outlived the injuries (%)	Crude OR§ (95% CI§§)	p value
Fracture of sternum	1 (0.3)	3 (1.3)	0.266 (0.027- 2.569)	>0.05
Fractures of ribs on one side	36 (12.4)	43 (18.4)	0.627 (0.388- 1.014)	>0.05
Fractures of ribs on both sides	198 (68)	114 (48.7)	2.241 (1.571- 3.198)	<0.05
Fractures of ribs on both sides with fracture of sternum	119 (40.9)	57 (24.4)	2.148 (1.471- 3.139)	<0.05
Fracture of thoracic spine	48 (16.5)	14 (6)	3.104 (1.665- 5.786)	<0.05

§ Odds Ratio, §§ confidence interval.

Table 6

The distribution of subjects according to the presence of heart and aortic injuries and outliving period

	Subjects who died at the scene (%)	Subjects who outlived the injuries (%)	p value (Chi- square test)
Heart tamponade	6 (2.1)	0	<0.05
Heart contusions	13 (4.5)	6 (2.6)	>0.05
Rupture of pericardium	14 (4.8)	3 (1.3)	<0.05
Heart destruction	39 (13.4)	0	<0.05
Hematoma of adventitia aortae	90 (30.9)	12 (5.1)	<0.05
Aortic rupture	68 (23.4)	8 (3.4)	<0.05

Table 7

Presence of pneumothorax/hemothorax, rib fractures and the outliving period

	Rib fractures		Subjects who died at the scene (%)	Subjects who outlived the injuries (%)	p value (Chi- square test)	
	Yes	No				
One-sided pneumothorax	Yes	53 (10.1)	1 (0.2)	46 (85.2)	8 (14.8)	<0.05
	No	344 (65.5)	127 (24.2)			
Both-sided pneumothorax	Yes	36 (6.8)	1 (0.2)	30 (81.1)	7 (18.9)	<0.05
	No	361 (68.8)	127 (24.2)			
Hemothorax	Yes	203 (38.7)	3 (0.6)	160 (77.7)	46 (22.3)	<0.05
	No	194 (36.9)	125 (23.8)			

Table 8

Risk factors and time of death analysed using multivariate logistic regression

Risk factors-independent variables	Adjusted OR (95% CI)	p value
Gender	1.588 (0.932-2.707)	>0.05
Older than 51 years	0.334 (0.164-0.680)	<0.05
Pedestrians	0.666 (0.321-1.383)	>0.05
Motor vehicle drivers	2.703 (1.380-5.295)	<0.05
Front seat passengers	1.370 (0.511-3.668)	>0.05
Back seat passengers	0.571 (0.225-1.453)	>0.05
Bicyclists	1.004 (0.362-2.786)	>0.05
Motorcyclists	0.206 (0.024-1.779)	>0.05
Tractor drivers	2.580 (0.777-8.567)	>0.05
Fracture of sternum	0.162 (0.008-3.404)	>0.05
Fractures of ribs on one-sided	0.229 (0.036-1.442)	>0.05
Fractures of ribs on both sides	0.262 (0.042-1.619)	>0.05
Fractures of ribs on both sides with fracture of the sternum	0.283 (0.045-1.764)	>0.05
Fracture of thoracic spine	4.173 (1.921-9.066)	<0.05
One-sided lung contusions	1.183 (0.549-2.550)	>0.05
Bilateral lung contusions	1.274 (0.640-2.539)	>0.05
One-sided lung lacerations	0.889 (0.259-3.047)	>0.05
Bilateral lung lacerations	1.885 (0.639-5.561)	>0.05
One-sided lung disruption	1.097 (0.013-0.752)	<0.05
Heart contusions	2.185 (0.472-10.113)	>0.05
Rupture of pericardium	0.663 (0.175-2.517)	>0.05
Hematoma of adventitia aorte	2.400 (0.576-10.002)	>0.05
Aortic rupture	3.606 (1.157-11.240)	<0.05
One-sided pneumothorax	5.619 (1.959-16.117)	<0.05
Both-sided pneumothorax	1.864 (0.596-5.831)	>0.05
Hemothorax	1.647 (0.556-4.877)	>0.05

Chest injury	6.234 (0.899-43.254)	>0.05
Chest and head injury	0.550 (0.278-1.089)	>0.05
Chest and abdomen injury	0.361 (0.162-0.807)	<0.05
Chest, abdomen and head injury	3.606 (1.341-9.673)	<0.05

|| Odds Ratio, |||| confidence interval.

Received on June 26, 2018.

Revised on May 22, 2019.

Accepted May 28, 2019.

Online First June, 2019.



Effect of formalin fixation on pcr amplification of DNA isolated from healthy autopsy tissues



Katarina Vitošević^{a,*}, Miloš Todorović^a, Tatjana Varljen^b, Živana Slović^a, Stevan Matić^c, Danijela Todorović^d

^a University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Forensic Medicine, Kragujevac, Svetozara Markovića 69, Serbia

^b Institute of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Deligradska 31a, Serbia

^c Clinical Center of Kragujevac, Department of Pathology, Kragujevac, Zmaj Jovina 30, Serbia

^d University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Genetics, Kragujevac, Svetozara Markovića 69, Serbia

ARTICLE INFO

Keywords:

Autopsy
Formalin fixed tissue
DNA isolation
PCR
DNA degradation

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the effects of formalin fixation on the degradation of DNA molecules in five different healthy tissues exempted during the autopsy, as well as the selection of the method that is most suitable for the DNA isolation. Heart muscle, liver, brain, lung and kidney tissue obtained from the healthy people who suddenly died from a violent death were used. The parts of tissue were fixed in 10% phosphate-buffered formalin as well as in 4% unbuffered formalin at room temperature. Morphology of tissue was studied using H&E staining. The DNA was isolated 6 h, 1–7 days (every 24 h), 10, 14, 28 days and 2 months after fixation using two different methods: extraction with phenol-chloroform-isoamyl alcohol as well as with PureLink Genomic DNA Kit. Yield and purity of the DNA samples were measured spectrophotometrically at 260 nm and 280 nm. The PCR amplifications of the glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 (GPD1, 150 bp), β actin (ACTB, 262 bp) and ribosomal protein L4 (RPL4, 407 bp) genes were performed to evaluate the degree of DNA fragmentation. The RPL4 gene was amplified up to 72 h, ACTB gene up to 14 days and GPD1 gene up to 28 days from tissue fixed in phosphate-buffered formalin using phenol-chloroform-isoamylalcohol protocol for DNA isolation. Liver and kidney gave better results of PCR amplification, but statistical significance between tissues was not found. Preserving period, fixative and DNA extracting method are important factors for successful PCR amplification. The healthy tissue, fixed in phosphate-formalin up to 28 days, can be useful source in molecular studies. Tissues fixed in unbuffered formalin are suitable for molecular analysis up to 7 days.

1. Introduction

Molecules of DNA isolated from the postmortem tissue samples are important for molecular diagnosis, studies of rare diseases, retrospective genetic and epidemiological studies and use in forensic (Legnard et al., 2002), only when the integrity of the molecules is preserved. Preparation of microscope slides for histomorphological investigation requires the preservation of tissue through chemical means by a process of fixation. Fixation is crucial step in processing tissue taken from autopsy or biopsy for the examination and archival preservation (Thavarajah et al., 2012). Fixed and paraffin embedded tissues are commonly analyzed histomorphologically and by polymerase chain reaction (PCR) for both research and clinical application because they are available and their DNA is stable for decades (Shibata et al.,

1988). The most widely used fixative for preservation of tissue morphology is 10% formaldehyde (Groelz et al., 2013), which is 3.7% formaldehyde in water (Hewitt et al., 2008; Bonin and Stanta, 2013). During the last decades, neutral buffered formalin (NBF), buffered with several different buffers such as calcium carbonate, magnesium carbonate, citrate, Tris and most commonly phosphate buffers (Hewitt et al., 2008), has been in use. In addition to formalin, few other fixatives are used to tissue fixation, such as: ethanol-based fixatives, glutaraldehyde, potassium dichromate acetic acid, etc (Miething et al., 2006), but none of these reagents has gained broader acceptance.

Although formalin fixation is the traditional method for tissue preservation in many laboratories, biomolecules isolated from formalin fixed tissues are of limited use for molecular analyses. The formalin fixation leads to the formation of a cross-linking between nucleic acids

* Corresponding author at: University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Svetozara Markovića 69, 34 000, Kragujevac, Serbia.

E-mail addresses: vitoševickatarina@gmail.com (K. Vitošević), mtodorovickg@gmail.com (M. Todorović), tanja.varljen@gmail.com (T. Varljen), zivanaminic@yahoo.com (Ž. Slović), stevan-008@hotmail.com (S. Matić), dtodorovic197@gmail.com (D. Todorović).

<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.09.005>

Received 12 June 2018; Received in revised form 8 September 2018; Accepted 10 September 2018
0065-1281 / © 2018 Elsevier GmbH. All rights reserved.

and proteins (Okello et al., 2010) by forming methylene bridges between the amino groups of purine and pyrimidine bases as well as between nucleotide bases and histones (Bonin and Stanta, 2013; Duval et al., 2010; Bussolati et al., 2011). Formalin breaks the phosphodiester backbone of DNA (Duval et al., 2010), leading to the fragmentation of nucleic acids. The cross-linking increases the sensitivity of DNA to mechanical stress, reduces the openness for enzymes (Dietrich et al., 2013) and blocks PCR amplification (Dietrich et al., 2013; Lin et al., 2009). Beside the type of fixative, the duration of fixation, temperature, tissue type, amount of tissue and degree of autolysis also impact on DNA yield and integrity (Dietrich et al., 2013; Zsikla et al., 2004; Nechifor-Boila et al., 2015; Gilbert et al., 2007; Srinivasan et al., 2002). For formalin fixatives, composition of fixative such as formalin concentration, pH and salt concentration is important. The process of fixation itself depends on thickness of tissue, volume of fixative and time of fixation and if one of these three elements is not optimized it leads to underfixation or overfixation of the tissues (Hewitt et al., 2008). However, DNA isolated from both underfixed and overfixed tissues has shortest fragments (Hewitt et al., 2008).

Many studies investigate the impact of DNA extraction method on DNA integrity and consequently on the PCR amplification performance (Dietrich et al., 2013). Most of the protocols are based on commercially available DNA extraction kits (Bussolati et al., 2011; Nechifor-Boila et al., 2015; Ludysga et al., 2012; Kocjan et al., 2015; Skage and Schander, 2007; Senguven et al., 2014) as well as phenol chloroform isoamyl alcohol extraction (Ludysga et al., 2012; Skage and Schander, 2007; Senguven et al., 2014; Gouvegia et al., 2016). This study was designed to investigate the effects of process of tissue fixation on nuclear DNA as well as on the histological structures and their significance with regard to their possible application in modern practice. We compared yield, purity and integrity of DNA isolated from healthy, autopsy tissues fixed in phosphate-buffered formalin and in unbuffered formalin for different time points. In our laboratory, buffered formalin is obtained commercially and used for the fixation of biopsy tissues. We also compared the yield, purity and integrity of DNA after extraction using commercially available kit (PureLink Genomic DNA Kit) as well as the phenol-chloroform isoamyl alcohol protocol (PCI), from five different types of tissues taken from autopsy. For PCR, primers targeting three genes: glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 (GPD1, 150bp), β actin (ACTB, 262bp) and ribosomal protein L4 (RPL4, 407bp), to evaluate the degree of DNA fragmentation.

2. Materials and methods

2.1. Tissue collection

The heart muscle, liver, brain, lung and kidney tissue obtained from two healthy people who suddenly died from a violent death were used. The corpses were at +4 °C, 24 h after death (in Serbia autopsies are not allowed before these period) and after that the autopsy were done. Two samples were obtained from each of five tissue type from each crops (resulting in a total of 20 samples). Each of 20 samples was divided into two equal portions. Half of examined tissue samples were fixed in 10% phosphate-buffered formalin (Superlab, Belgrade, Serbia, Cat. No. 09201045), while the remaining were fixed in 4% unbuffered formalin (ZORKA Pharma-HEMIJA, Sabac, Serbia, Cat. No. 477737) in a ratio of at least 20 parts of fixative to one part of tissue (v/v). Fixation was performed at room temperature and duration of fixation was as follows: 6 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 5 days, 6 days, 7 days, 10 days, 14 days, 28 days and 2 months. The control samples were the parts of tissues performing for experiments immediately after autopsy.

2.2. Tissue processing

Samples fixed in 4% unbuffered and 10% buffered formalin were processed in separate runs on an automated tissue processor (Leica TP

220, Germany). After fixation, the processing protocol was the following: incubation at 86%, 96% (3 times), 100% ethanol (Biognost, Zagreb, Croatia, Lot. No. H100-109/17), (4 times), followed by xylene (ZORKA Pharma-HEMIJA, Sabac, Serbia, catalog No. 12793), (2 times) and paraffin wax (Path Hille & Co Ltd, Essex, UK, Lot. No. 13189) for 1 h 30 min in each position. All blocks of paraffin embedded tissue were kept dry at room temperature until use.

2.3. Haematoxylin and eosin staining (H&E)

The first and last slices were stained with hematoxylin (Biognost, Zagreb, Croatia, Lot. No. HEMM-24/18) and eosin (Biognost, Zagreb, Croatia, Lot. No. EOY/25/17) and evaluated histomorphologically. Section of 4–8 μ m thickness from FFPE tissue blocks after cooling were cut on a microtome (Leica RM 2135) and stretched on a water bath heated to 44 °C. Paraffin sections were removed from the water bath and placed on glass, than heated in thermostat at 56 °C within 1 h. Deparaffinization was performed by following program: 2 x 5 min in xylene (ZORKA Pharma-HEMIJA), than a rehydration step 100% (Biognost), 96% (ZORKA Pharma-HEMIJA, Sabac, Serbia, Cat. No. 383171), 70% (Biognost, Zagreb, Croatia, Lot. No. H100-109/17) ethanol and finally in deionised water for 5 min in each. Deparaffinised slides were than stained with Mayer's hematoxylin (Biognost) 2 to 5 min followed by a 5–10 min wash with lukewarm tap water and then stained 1–2 minutes with alcohol eosin (Biognost). After that, dehydration was performed with successive washes with 80% ethanol (Biognost) for 1–2 min, 90% ethanol (Biognost) for 2–3 min, 96% ethanol (ZORKA Pharma-HEMIJA) for 2–5 min, 100% ethanol (Biognost) for 5–10 min, solution with equal volume of 100% ethanol (Biognost) and xylene (ZORKA Pharma-HEMIJA) for 2–3 min, xylene (ZORKA Pharma-HEMIJA) for 2–5 min and then slides were mounted with Canada balsam (Biognost, Zagreb, Croatia, Lot. No. KB-14/17). The samples were examined under a light microscope (Olympus, BX51, Olympus Corporation, Japan) and photographed by camera (Artcam -500 MI 1/2.5" CMOS, Artray Co. LTD, Japan).

2.4. DNA isolation

The DNA was isolated using two different methods: extraction with phenol-chloroform-isoamyl alcohol (Fisher Scientific by Thermo Fisher Scientific, Geel, Belgium, Lot. No.162004) and commercial kit PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA, Lot. No.1743752). For each method DNA molecules were isolated from 40 samples for each time point (4 samples from each tissue fixed in two different formalin), resulting in total of 1040 samples. The samples were washed in 100% (Biognost) as well as in 70% ethanol (Biognost). The extraction methods are described below.

For phenol-chloroform-isoamyl alcohol (Fisher Scientific) (PCI) extraction, digestion TNS buffer (TE buffer (Lonza, Rockland, ME USA, Lot. No.0000512200), 10%SDS (Fisher Scientific by Thermo Fisher Scientific, Geel, Belgium, Lot. No.154052), 3 M NaCl (ZORKA Pharma-HEMIJA, Sabac, Serbia, Cas. No. 7647-14-5), ampoules-deionized water) and 50 μ l proteinase K (20 mg/ml, Thermo Scientific by Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Lithuania, Lot. No.00326647) were added to the samples and incubated overnight at 56 °C. Phenol-chloroform isoamyl alcohol (Fisher Scientific) solution (25:24:1) was added to the each sample and centrifuged at 4 °C. Supernatant was transferred into new tube and an equal volume of chloroform (Carlo Erba reagents S.A.S., Val de Reuil, France, Cas N. 67-66-3) isoamyl alcohol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA, Lot. No. SHBG0019 V) solution (24:1) was added and centrifuged. Supernatant was transferred into new tube. The DNA was precipitated with 2.5 vol of 100% ice cold ethanol (Biognost) and 0.1 vol of 3 M NaCl (ZORKA Pharma-HEMIJA), followed by overnight storage at –20 °C. The precipitated DNA was centrifuged, supernatant was removed and 70% ice-cold ethanol (Biognost) followed by centrifugation was added into the pellets. The pellets were dried at

room temperature for few hours. The DNA was resuspended in the 50 µl of TE buffer (Lonza, 10 mM Tris–HCl and 1 mM EDTA) and stored at –20 °C.

The commercial kit PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen) was used for DNA extraction from formalin fixed tissues and performed according to manufacturer's instructions with some modifications as follows. After incubation in 100% (Biognost) and 70% ethanol (Biognost), tissues were incubated in 300 µl master Digestion Buffer Mix (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA Lot. No.1747049) plus 50 µl proteinase K (20 mg/ml, Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA, Lot. No.1739722) over night on 56 °C. After digestion, samples were incubated with RNaseA (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA, Lot. No. 1747059) and Binding Buffer (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA, lot No. 1747050) in 96% ethanol (ZORKA Pharma-HEMIJA) and transfer to spin columns. Samples were washed in columns with Wash Buffer 1 (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA, Lot. No. 1747051) and Wash Buffer 2 (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA, Lot. No.1747052). Finally, samples were eluted in 50 µl of Elution buffer (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA, Lot. No. 1747053).

2.5. Spectrophotometrical measurements

Yield and purity of the DNA samples were measured spectrophotometrically (UV–1800 Shimadzu UV spectrophotometer, Japan). The absorbances were measured at 260 nm and 280 nm. The reading at 260 nm allows calculation of the concentration and yield of nucleic acid in the sample. One OD unit corresponds to approximately 50 µg/ml DNA. The OD260/OD280 ratio provides an estimate of the purity of the DNA. Pure preparations of DNA have OD260/OD280 values between 1,5-2,0.

2.6. Polymerase chain reaction (PCR)

All PCR reactions were performed in duplicates (8 samples per each tissue, per each DNA method isolation and per each formalin used) resulting in total of 2080 PCR reactions. The fragments of GPD1 (glycerol-3-phosphate dehydrogenase), ACTB (β-actin) and RPL4 (ribosomal protein L4) genes were amplified from isolated DNA using PCR reaction. The nucleotide sequences of the primers (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA, Lot. No.4940) are shown in the Table 1. The primers were selected in the Primer BLAST, taking into account the nucleotide composition and Tm of the primer, to be suitable for performing a multiplex PCR. The PCR amplification was performed in a final volume of 25 µl containing: One Taq 2x Master Mix with Standard Buffer (New England Biolabs Inc., Ipswich, MA, USA, Lot. No. 0131606); primers (10 µM forward primer and 10 µM reverse primer (Invitrogen) and DNA sample (approximately 1 ng/µl of genomic DNA) in sterile bidestilated water. The PCR amplification was performed in a PCR apparatus (Technie genius, Eppendorf). The following PCR conditions were used for each PCR reaction: initial denaturation at 94 °C, 30 s; 30 cycles of 94 °C, 30 s, 60 °C 1 min, and 68 °C 1 min; final extension at 68 °C for 5 min. Negative controls as well as positive controls were included at each manipulation. Negative

controls contained all PCR reaction compounds except the DNA. Positive control is DNA isolated from the tissue immediately after the autopsy. The PCR products were visualized on 2% agarose gel (Lonza, Rockland, ME, USA, Lot. No. 0000522600) stained with ethidium bromide 10 mg/ml (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA, Lot. No. 0107038). After electrophoresis, the gel was photographed under ultraviolet light.

2.7. Statistical analysis

IBM SPSS software, version 20.0 (IBM, Armonk, NY, USA) was used for statistical analysis and p-value < 0,05 was considered statistically significant. By testing the normality we observed that the experimental data were not normally distributed. The difference between tissues was analyzed by Kruskal-Wallis test for analysis of variance of multiple independent samples. Test for the PCR positive samples detected by each extraction method was analyzed by applying the Mann Whitney test for analysis of variance of two independent samples. The same test was used for comparing difference between buffered and unbuffered formalin. Friedman test was applied to determine which time point is statistically significant for PCR positive results for both formalins.

3. Results

In our investigation, 520 staining samples were analyzed using conventional microscopy. The DNA was isolated from 1040 samples and PCR amplification was performed for each sample in duplicate to confirm the reproducibility of the results (about 2080 PCR reactions were performed).

The morphology of tissue fixed in unbuffered and in phosphate-buffered formalin was studied using H&E staining. There is no significant difference in histological details (such as normal tissue architecture, cytological and nuclear details) between tissues fixed in unbuffered vs. buffered formalin. In addition, H&E stained sections indicated a little bit better staining of tissue stored in buffered formalin versus unbuffered formalin which not appear to be diagnostically significant. Prolonged fixation did not appear to be loss or improvement of details (Fig. 1).

The results shown in Table 2 represent the yield (ng) and purity of DNA isolated from analyzed tissues fixed in unbuffered as well as in phosphate-buffered formalin. Yield of DNA extracted from human tissue samples fixed in unbuffered and in buffered formalin was satisfactory. A higher yield as well as higher degree of purity of DNA was obtained from the samples extracted by the PCI method compared to the extraction method with Commercial Kit. Total yield and quality of DNA extracted were highly dependent on the method used.

PCR amplification was performed on 80 samples for each time point for each DNA extraction method (160 samples for each time point). The RPL4 gene was amplified up to 72 h fixation in phosphate-buffered formalin and up to 6 h in unbuffered formalin. Shorter fragments, size up to 150 bp and 262 bp, were amplified from samples fixed in phosphate-buffered formalin up to 28 days and 14 days, respectively and from samples fixed in unbuffered formalin up to 7 days and 5 days, respectively. The intensity of bands (amplicons) in agarose gel was time dependent. For tissues fixed in unbuffered formalin the statistically significant differences were detected between 6 h and 24 h (p = 0.018, Friedman test, N = 120). For tissues fixed in phosphate-buffered formalin the statistically significant differences were detected between 24 h and 48 h (p = 0.046, Friedman test, N = 120), between 48 h and 72 h (p = 0.021, Friedman test, N = 120) as well as between 28 days and 2 months (p = 0.046, Friedman test, N = 120).

Total amount and quality of isolated DNA were highly dependent on the method used. Statistically significant differences among successful amplification of genes from DNA samples isolated with different methods were detected for all time points of fixation starting from 72 h of fixation (p = 0,023, Mann Whitney test, N = 240). DNA samples

Table 1
Primers used for multiplex PCR and length of the amplicon (bp).

Primer name	Primer sequence	Amplicon length (bp)
GPD1 -20 F	CAGATGCCAGGTGAGTGAA	150
GPD1-20 R	ACTGCCTGACTCCCTACTCCT	
ACTB-20 F	TGCTAAAGACCCGTGGGGAAC	262
ACTB-20 R	TGTGACCCCTTTCTCCCTCA	
RPL4-20 F	TGGAACAGGAGGGGAAGACA	407
RPL4-20 R	ATCACAGCAAGGGACACACG	

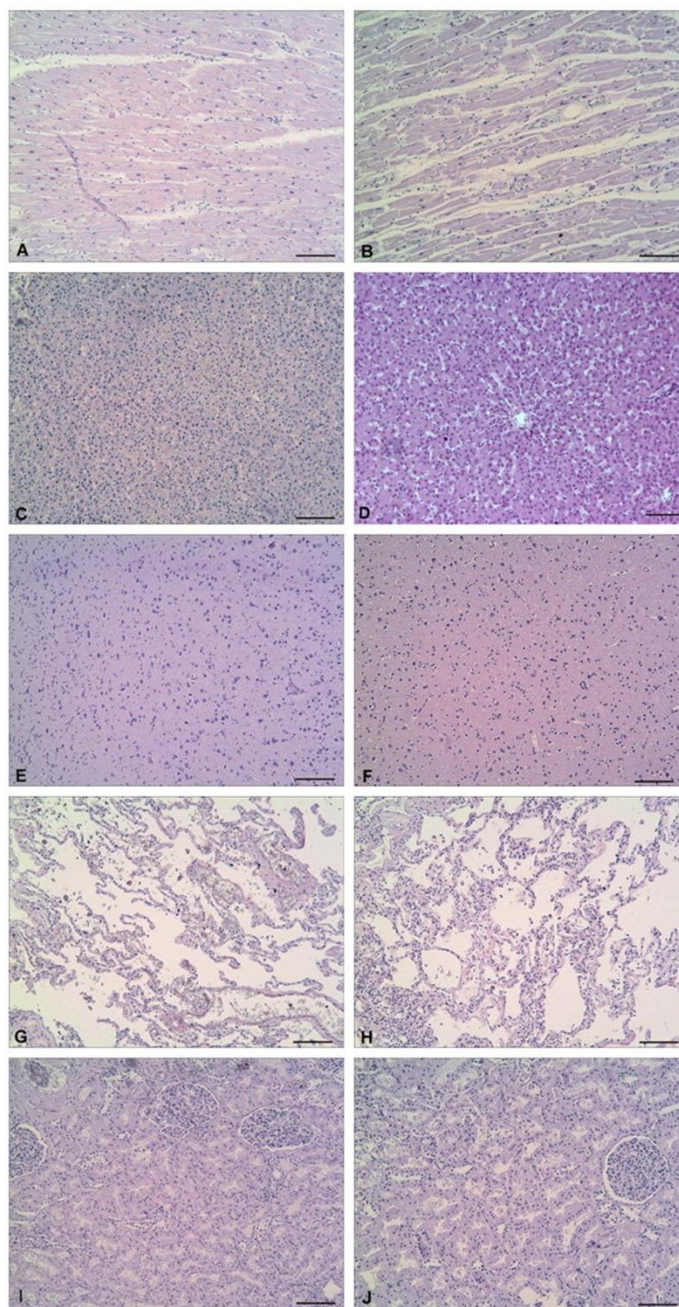


Fig. 1. H&E stained sections of heart tissue (a, b), liver tissue (c, d), brain tissue (e, f), lung tissue (g, h) and kidney tissue (i, j). Comparison of the morphological preservation of tissues fixed in unbuffered (a, c, e, g, i) and phosphate-buffered formalin (b, d, f, h, j).

K. Vitošević et al.

Acta Histochemica 120 (2018) 780–788

Table 2
The yield (ng) and rate of purity (OD260/OD280) of DNA extracted from tissue samples fixed in unbuffered or phosphate-buffered formalin using two different DNA isolation methods.

Extraction method	Type of fixative	Average (OD260/OD280)		Yield (ng ± S.E.)	
		Mean	Range	Mean ± S.E.	Range
PCI method	phosphate-buffered	2.0	1.3–2.9	199.71 ± 7.66	97 - 490
	unbuffered	1.9	1.1–2.9	179.14 ± 11.84	83 - 422
Commercial Kit	phosphate-buffered	1.7	1.2–2.9	118.27 ± 14.28	75 - 161
	unbuffered	1.6	1.0 - 2.9	99.44 ± 0.957	75 - 114

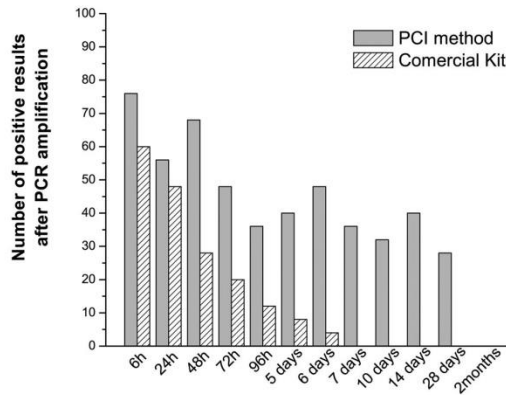


Fig. 2. Comparison of successful amplification of GPD1 gene in DNA samples isolated from fixed tissues using PCI protocol or Commercial kit. Statistically significant differences were detected for all time points of fixation starting from 72 h of fixation ($p = 0,023$, Mann-Whitney test, $N = 240$).

isolated using PCI protocol resulted in longer PCR fragments than using Commercial Kit probably due to the higher sensitivity and better DNA yield of the PCI method (Fig. 2).

The type of tissue formalin fixation has a significant impact on the efficiency of the amplification of the selected genes (Fig. 3a). Comparing samples that were fixed in unbuffered and in phosphate-buffered formalin a statistically significant differences ($p = 0.00-0,039$, Mann-Whitney test, $N = 240$) in rate of fragmentation are detected in almost all time points of fixation (up to 28 days of fixation) (Fig. 3b). These results indicate that statistically significant difference of integrity of DNA fixed in unbuffered or in phosphate-buffered formalin exist starting after 24 h. PCR amplicons could be detected in all DNA samples, isolated with PCI method from phosphate-buffered formalin-fixed tissues up to 14 days, but only fragments of 150 bp to 262 bp length. The amplicons which length was 407 bp were detected in DNA samples isolated from tissues fixed in phosphate-buffered formalin up to 72 h. On the other hand, using unbuffered formalin fixation leads to DNA degradation much faster than phosphate-buffered formalin. PCR fragments of 150 bp to 262 bp length could be detected in DNA samples, isolated from unbuffered formalin-fixed tissues up to 5 days. Larger PCR fragment in length of 407 bp were detected in DNA samples isolated from tissues fixed in unbuffered formalin up to 6 h.

The percentage of successful PCR amplification for GPD1 gene at different time of tissue fixation in phosphate-buffered formalin was time-dependent and the values were from 100% to 35% in the first 28 days (Fig. 4a). There was no amplification of GPD1 gene in DNA samples isolated from tissues 2 months after fixation in phosphate-buffered

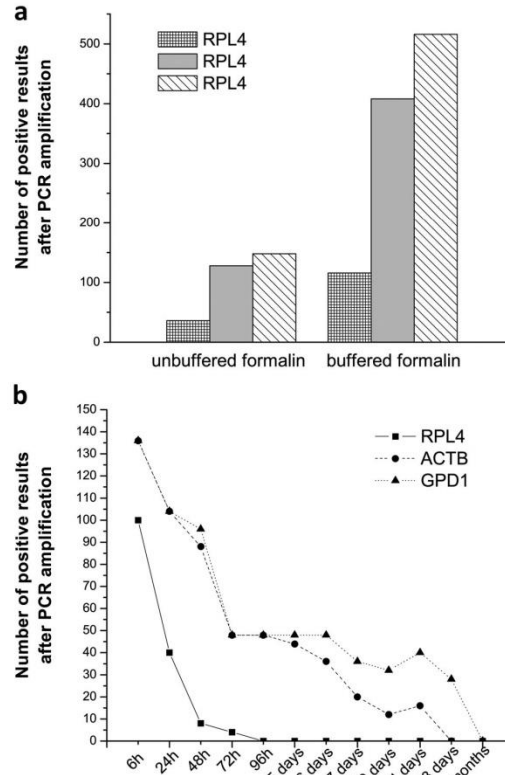


Fig. 3. The influence of type of used formalin fixation on the performances of PCR amplification. a. A higher PCR success rate for all three genes (RPL4, ACTB, GPD1 gene) for DNA isolated from tissue fixed in buffered formalin compared to tissue fixed in phosphate-buffered formalin. Comparing samples that were fixed in unbuffered and in phosphate-buffered formalin a statistically significant differences ($p = 0.00-0,039$, Mann-Whitney test, $N = 240$) in rate of fragmentation are detected in almost all time points of fixation. b. Time-dependent successful PCR amplification for three used genes amplified in DNA samples isolated from tissues fixed in buffered formalin up to two months. The statistically significant differences were detected between 24 h and 48 h ($p = 0,046$, Friedman test, $N = 120$), between 48 h and 72 h ($p = 0,021$ Friedman test, $N = 120$) as well as between 28 days and 2 months ($p = 0,046$ Friedman test, $N = 120$).

formalin. Regardless ACTB gene percentage of successful PCR amplification was from 100% to 15% till 14 days, while for RPL4 gene were from 80% to 5% for the first 72 h for tissue fixed in phosphate-buffered formalin (Fig. 4b and c). Percentage of PCR success rate of GPD1 gene amplification isolated from tissue fixed in unbuffered formalin for different fixation time points were in range from 80% to 5% up to 7 days after fixation. After that no GPD1 amplification was detected on agarose gel (Fig. 4a). Successful PCR amplification for ACTB gene were from 80% to 5% till 5 days and for RPL4 gene were only 45% for the first 6 h for the tissue fixed in unbuffered formalin (Fig. 4b and c).

According to our results, no significant association was found between positive rate of detection of all three fragments and different tissues which were examined (Fig. 5). The longest fragment of DNA (RPL4 gene) was amplified in all tissues with minimum percent. Shorter fragments (ACTB and GPD1 gene) were amplified in almost all samples (Table 3). There is no statistically significant difference of PCR success

K. Vitošević et al.

Acta Histochemica 120 (2018) 780–788

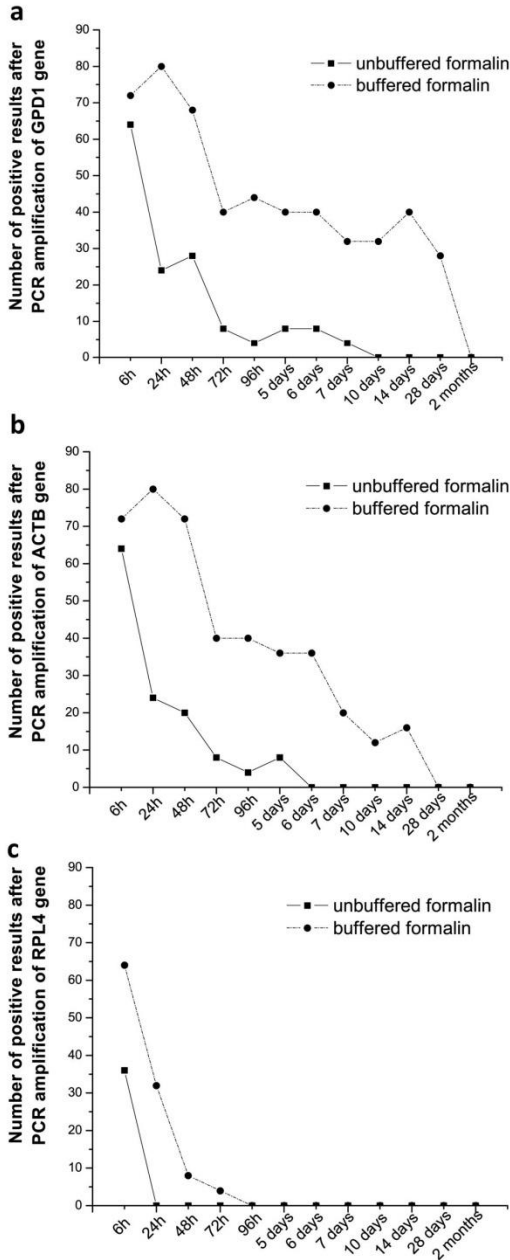


Fig. 4. Time dependent successful PCR amplification of DNA isolated from five different tissues fixed in phosphate-buffered and in unbuffered formalin. PCR results for GPD1 (a), ACTB (b) and RPL4 (c) gene amplification from tissue fixed in unbuffered and phosphate-buffered formalin.

amplification between different tissues ($p = 0,970$, Kruskal-Wallis test, $N = 240$).

Fig. 5 Comparison of successful amplification for RPL4, ACTB and

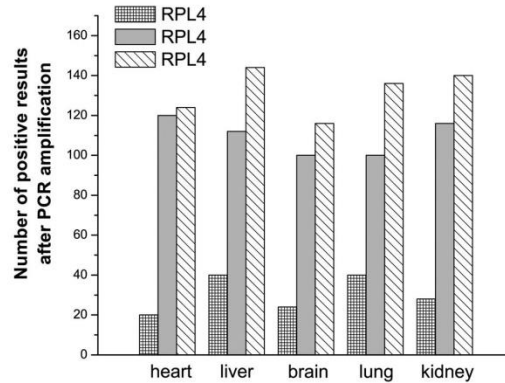


Fig. 5. Comparison of successful amplification for RPL4, ACTB and GPD1 gene between five different tissues (heart, liver, brain, lung and kidney). There is no statistically significant difference of PCR success amplification between different tissues ($p = 0,970$, Kruskal-Wallis test, $N = 240$).

GPD1 gene between five different tissues (heart, liver, brain, lung and kidney)

4. Discussion

The analysis of DNA molecules isolated from fixed human tissues is often used in forensic practice in the case of paternity testing (Gino et al., 2004), personal identification (Babol-Pokora and Berent, 2008; Budimlija et al., 2009) and forensic dilemmas in pathology (Budimlija et al., 2009). In our laboratory, tissues exempted during a forensic autopsy are fixed in formalin, embedded in paraffin and kept in the archives for many years (more than 30 years). Formalin is the most commonly used fixative in pathology and forensic laboratories because it enables well preserved tissue morphology. However, formalin leads to extensive cross-linking of all tissue components which causes the fragmentation of DNA molecules to fragments of length of about 300-400bp (Lehmann and Kreipe, 2001). It is known that 10% phosphate-buffered formalin is already frequently used in practice. However, unbuffered formalin was used in the past so the archived autopsy tissues embedded in paraffin were previously fixed just in unbuffered formalin. Since there are not a large number of studies that compare the effects of phosphate-buffered and unbuffered formalin on the preservation especially of healthy tissues, this research is significant because it give us information about whether the archived formalin fixed and paraffin embedded tissues can be used in practice.

The objective of this study was to compare the quality of DNA isolated from five different autopsy tissue fixed in unbuffered and in phosphate-buffered formalin for different time points. To obtain required DNA, tissues extracted during autopsy were heart muscle, liver, brain, lung and kidney. It was examined which tissue is well preserved for subsequent molecular analysis. In routine autopsy, these organs are accessible for collection of samples and are appropriate of our study. The cell density of these tissues was considered. After H&E staining and microscopy examination of samples, the samples with severe congestion, hemorrhage, autolysis or artifacts were excluded. Both investigated fixatives had the low influence on the histological structure of the tissue and gave generally comparable results that were adequate for histological identification and structural status for multiple tissues excluded during autopsy. The degree of DNA fragmentation in tissue samples was followed by PCR amplification of three genes of different lengths: RPL4 gene (407 bp), ACTB (262 bp) and GPD1 gene (150 bp). As standard DNA identification methods, the short tandem repeats (STR) as well as single nucleotide polymorphisms (SNPs) methods are

Table 3
Detection of different fragments of DNA isolated from different tissues fixed in phosphate-buffered as well as in unbuffered formalin for various time points.

		6h	24h	48h	72h	96h	5days	6 days	7days	10days	14days	28days	2 m
Phosphate-buffered formalin													
Heart	RPL4	8/16	8/16	4/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ACTB	12/16	4/16	12/16	8/16	8/16	8/16	8/16	4/16	4/16	4/16	0/16	0/16
	GPD1	12/16	16/16	12/16	8/16	8/16	8/16	8/16	4/16	8/16	8/16	0/16	0/16
Liver	RPL4	16/16	12/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ACTB	16/16	16/16	12/16	8/16	4/16	4/16	8/16	4/16	4/16	0/16	0/16	0/16
	GPD1	16/16	16/16	12/16	8/16	8/16	8/16	8/16	8/16	8/16	8/16	8/16	0/16
Brain	RPL4	12/16	8/16	4/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ACTB	12/16	16/16	12/16	8/16	4/16	8/16	8/16	8/16	4/16	4/16	0/16	0/16
	GPD1	12/16	16/16	12/16	8/16	4/16	8/16	8/16	8/16	8/16	8/16	8/16	0/16
Lung	RPL4	16/16	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ACTB	16/16	16/16	16/16	8/16	12/16	0/16	4/16	4/16	0/16	4/16	0/16	0/16
	GPD1	16/16	16/16	16/16	8/16	12/16	0/16	12/16	8/16	8/16	8/16	8/16	0/16
Kidney	RPL4	16/16	0/16	0/16	4/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ACTB	16/16	16/16	16/16	8/16	12/16	16/16	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	GPD1	16/16	16/16	16/16	8/16	12/16	16/16	8/16	4/16	0/16	8/16	4/16	0/16
Unbuffered formalin													
Heart	RPL4	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ACTB	8/16	16/16	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	GPD1	8/16	16/16	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
Liver	RPL4	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ACTB	16/16	8/16	4/16	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	GPD1	16/16	8/16	4/16	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
Brain	RPL4	4/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ACTB	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	GPD1	8/16	0/16	4/16	0/16	0/16	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
Lung	RPL4	16/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ACTB	16/16	0/16	0/16	0/16	4/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	GPD1	16/16	0/16	0/16	0/16	4/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
Kidney	RPL4	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	ACTB	16/16	0/16	8/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	GPD1	16/16	0/16	8/16	0/16	0/16	0/16	4/16	4/16	0/16	0/16	0/16	0/16

■ RPL4 ■ ACTB ■ GPD1

used in forensic laboratories. To perform these methods, DNA fragments of length from 150 bp to 450 bp are required. For this reason, the use of selected genes is justified.

The amplification of the GPD1 gene was observed in autopsy tissue samples of DNA fixed in unbuffered formalin up to 28 days (except from heart tissue), ACTB gene up to 14 days, while the RPL4 gene was observed in kidney samples fixed in formalin 72 h. When the various tissue samples were compared liver, and kidney were particularly suitable while lung and brain tissues showed some oscillation in results. Statistically significant differences between five examined tissues were not obtained. Although Miething et al. compared healthy cardiac and skeletal muscle, liver, kidney and brain tissue and concluded that skeletal muscle and kidney are the suitable tissues for investigation. The brain tissue showed strong fluctuations in the test results which can be attributed to uneven penetration by fixative (Miething et al., 2006). The similar result was obtained by Legnard et al. which compared unbuffered formalin fixed and paraffin embedded tissues (Legnard et al., 2002). They concluded that successful amplification is more related to the extraction protocol and formalin fixation than to individual tissues (Legnard et al., 2002). The scientists have different opinions about the selection of organs for analyzing the DNA molecule. Some of them think

that the organs of the abdominal cavity (liver, kidney and spleen) are not adequate for molecular testing due to release of pancreatic enzymes and bacterial overgrowth compared to the organs from thoracic cavity and the cranial vault (Niland et al., 2012). There is no literature data about the successful amplification of DNA fragments isolated from healthy lung tissue extracted during autopsy and fixed in formalin. Funabashii et al. considered that the lungs are not good for subsequent analyzing because presence of mucus in this organs (Funabashi et al., 2012). We assume that this is the reason of some fluctuations in amplification results obtained on this tissue.

Different extraction protocols have been described for obtained better quality of DNA from formalin-fixed tissue samples (Legnard et al., 2002; Okello et al., 2010; Ludyga et al., 2012; Babol-Pokora and Berent, 2008; Rabelo-Goncalves et al., 2014; Cao et al., 2003; Ferrer et al., 2007). Several previous studies have compared protocols for DNA extraction from tissues excluded during autopsy with varying results. However, there is some controversy between laboratories given the other studies have compared the Commercial kit with phenol-chloroform-isoamyl alcohol and found either the columns (Wang et al., 2013) or the PCI method (Rabelo-Goncalves et al., 2014) to be superior in the yield and amplifiability. In this study we compared two standard

methods from DNA isolation from autopsy tissues: extraction with PCI and extraction using Commercial kit (PureLink Genomic DNA Kit). Total amount of DNA extracted were highly dependent on the method used. Extraction with PCI showed better results in terms of the yield and purity of DNA as well as in higher intensities of bands on the agarose gel comparing with extraction method using commercially available kit (PureLink Genomic DNA Kit). The DNA samples isolated with PCI protocol resulted in longer PCR amplicons than the Commercial kit probably due to a higher sensitivity and better DNA yield of the PCI method. In previous studies phenol-chloroform-isoamyl alcohol extraction was also proven as effective when dealing with poor quality DNA (Budimlija et al., 2009), and gives highest yield (Okello et al., 2010; Rabelo-Goncalves et al., 2014) purity and successful gene amplification (Rabelo-Goncalves et al., 2014; Cao et al., 2003). The inferior results with Commercial kit are probably because of DNA loss in silica columns (Ludyga et al., 2012).

Choosing the 4% unbuffered formalin and commercially available phosphate-buffered 10% formalin (Alfapanon 10%) we investigate their affect on DNA integrity. These two formalins are in usage in our laboratory for decades before further processing of tissue. The 4% unbuffered formalin is used for all tissue taken from autopsy and commercially available phosphate-buffered 10% formalin is usually used for biopsy tissues because it both gives better staining and the nuance of better morphology. The literature data indicate that unbuffered formalin oxidizes to formic acid. An acidic environment causes degradation of nucleic acids because the β -glycosidic bonds in the purine bases are hydrolysed at pH 4 (Zsikla et al., 2004; Srinivasan et al., 2002; Bonin et al., 2003; Hamazaki et al., 1993). Some authors claim that DNA fragments longer than 90 bp from autopsy tissue fixed in unbuffered formalin could not be amplified (Bonin et al., 2003). The general opinion is that tissue should be fixed in neutral buffered formalin with pH = 7 (Thavarajah et al., 2012), for 24 h to 48 h (Bonin and Stanta, 2013; Bonin et al., 2003; Nam et al., 2014) in the dark before further tissue processing (Bonin et al., 2003). The optimal fixation time depends on the tissue type and specimen size (Bonin and Stanta, 2013). Our results suggest that DNA is better preserved in phosphate-buffered than in unbuffered formalin. While Miething et al. succeeded to detect DNA fragment in length of 150 bp from cardiac, skeletal muscle, liver, kidney and brain up to 28 days fixed in buffered formalin (Miething et al., 2006), we got the same results for liver, kidney, brain and lung tissue also fixed in phosphate-buffered formalin. Hamazaki et al. investigated fixation of autopsy liver tissue in unbuffered formalin for longer time (Hamazaki et al., 1993). The DNA fragment of 128 bp in length was obtained from liver tissue fixed 3 months and less (Hamazaki et al., 1993). To the best of our knowledge, there is no more literature data about the DNA integrity in the healthy tissues fixed in formalin. There are much more studies about DNA integrity isolated from cancer tissues fixed in formalin and embedded in paraffin. In terms of cancer tissue and otherwise diseased tissue which is paraffin embedded the results were lower quality probably due to permanent alteration in DNA molecule and damage of DNA with aggressive reagents for deparaffinization (Budimlija et al., 2009). Also reagents used for paraffin embedding could damage the quality of DNA molecule (Funabashi et al., 2012). Coura et al. used paraffin blocks of cancer tissue and succeeded to amplified at 100% in the range of 121 to 227 bp fragment in length from tissue fixed in 4% buffered formalin up to 24 h vs. tissue fixed in unbuffered formalin where samples did not amplify and showed only a smear (Coura et al., 2005). Inoue et al. used paraffin blocks of cancer tissue and found that fixation even of 1 day in unbuffered formalin showed less amplification of 345 bp fragment in length compared with those of 167 bp and 262 bp, while no amplification was obtained for the samples fixed for 7 and more days (Inoue et al., 1996). There are no studies that investigate DNA integrity isolated from cancer tissue only fixed in formalin, without paraffin embedding. On the basis of this, it can't be concluded what part makes the share of formalin fixation, the process of deparaffinization and the cancer

modification itself on DNA integrity.

The most important factor which causes DNA degradation is formalin fixation time (Legnard et al., 2002). Prolonged fixation time leads decreasing of success rate of PCR amplifications and inability to amplify longer fragments (Nam et al., 2014; Quach et al., 2004; Greer et al., 1991a,b). Because formalin causes time dependent degradation of DNA some authors found that after 36 h decreases the quality of DNA which inhibits the recovery of DNA (Hewitt et al., 2008), and often leading to no results after fixation longer than 72 h (Gino et al., 2004). Problem with autopsy tissue is usually fixation for a longer period of time (Bonin et al., 2003). However, the concentration of formaldehyde used, pH of solution and fixation time can vary significantly among different studies. In the literature there are numerous data on the degree of degradation of DNA molecules that is isolated from healthy (Legnard et al., 2002; Greer et al., 1991a; Santos et al., 2008; Greer et al., 1991b) as well as from cancer (Nam et al., 2014) tissue embedded in paraffin blocks, which were fixed in formalin for different time points. The shorter the time of formalin fixation gives the better DNA preservation (Ferrer et al., 2007). Apart from the fixation time, time since death also lead to DNA degradation and extensive modification that may affect on DNA integrity (Okello et al., 2010) as well as tissue autolysis results in small molecular weight DNA (Greer et al., 1991a).

The significance of this study is that we analyzed healthy tissue from autopsy while majority of studies used paraffin embedded cancer tissue from biopsies. The most of the studies compared buffered formalin with other fixatives, but minority compared buffered with unbuffered formalin. Moreover, a small number of studies compared differences between tissues regardless to DNA integrity. For the future investigations it would be good to compare DNA isolated from tissue excluded during biopsy and autopsy, affect of the time since death before tissue fixation on DNA degradation and the effect of formalin fixation on DNA integrity which is isolated from cancerous tissue before paraffin embedding.

5. Conclusion

The most important factors for successful PCR amplification are the fixative which is used, fixation time and extracting method. Formalin is still preferred fixative because it gives the best morphological preservation, easy to use and it is relatively cheap. Healthy tissue fixed in phosphate-buffered formalin up to 28 days can be useful source in molecular studies. Unbuffered formalin is suitable for tissue fixation only up to 7 days. The differences between five examined tissues were not obtained.

Compliance with ethical standards

Institutional ethical approval was obtained in compliance with the Declaration of Helsinki. Authorization to use human biological samples for research was obtained. The Ethics Committee of the University of Kragujevac, Faculty of Medical sciences, the Ethic Committee of Clinical Center of Kragujevac (no. 01-2798), Appeal Public Prosecutor's Office from Kragujevac (A number 79/13) and Higher Court in Kragujevac (SU-VIII-110/13) agreed to these investigations.

Funding

This study was funded by Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia (grand number JP: 05/13).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Contributions

Author Katarina Vitošević and Danijela Todorović conceived and designed the study, and wrote, edited and reviewed the manuscript. Authors Miloš Todorović, Tatjana Varljen, Živana Slovič and Stevan Matic researched and analysed data, and wrote, edited and reviewed the manuscript. All authors gave final approval for publication. Author Katarina Vitošević takes full responsibility for the work as a whole, including the study design, access to data and the decision to submit and publish the manuscript.

References

Babol-Pokora, K., Berent, J., 2008. SNP-minisequencing as an excellent tool for analysing degraded DNA recovered from archival tissues. *Acta Biochim. Pol.* 55, 815–819.

Bonin, S., Stanta, G., 2013. Nucleic acid extraction methods from fixed and paraffin-embedded tissues in cancer diagnostics. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 13, 271–282. <https://doi.org/10.1586/erm.13.14>.

Bonin, S., Petrerá, F., Niccolini, B., Stanta, G., 2003. PCR analysis in archival postmortem tissues. *Mol. Pathol.* 56, 184–186. <https://doi.org/10.1136/mp.56.3.184>.

Budimilija, Z., Lu, C., Axler-DiPerte, G., Seifarth, J., Popiolek, D., Fogt, F., Prinz, M., 2009. Malignant tumors and forensics-dilemmas and proposals. *Croat. Med. J.* 50, 218–227. <https://doi.org/10.3325/cmj.2009.50.218>.

Bussolati, G., Annaratone, L., Medico, E., D'Armento, G., Sapino, A., 2011. Formalin fixation at low temperature better preserves nucleic acid integrity. *PLoS One* 6, e21043. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021043>.

Cao, W., Hashibe, M., Rao, J.Y., Morgenstern, H., Zhang, Z.F., 2003. Comparison of methods for DNA extraction from paraffin-embedded tissues and buccal cells. *Cancer Detect Prev.* 27, 397–404. [https://doi.org/10.1016/S0361-090X\(03\)00103-X](https://doi.org/10.1016/S0361-090X(03)00103-X).

Coura, R., Prolla, J.C., Meurer, L., Ashton-Prolla, P., 2005. An alternative protocol for DNA extraction from formalin fixed and paraffin wax embedded tissue. *J. Clin. Pathol.* 58, 894–895. <https://doi.org/10.1136/jcp.2004.021352>.

Dietrich, D., Uhl, B., Sailer, V., Holmes, E.E., Jung, M., Meller, S., Kristiansen, G., 2013. Improved PCR performance using template DNA from formalin-fixed and paraffin-embedded tissues by overcoming PCR inhibition. *PLoS One* 8, e77771. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077771>.

Duval, K., Aubin, R.A., Elliott, J., Gorn-Hondermann, I., Birnboim, H.C., Jonker, D., Fournay, R.M., Fregeau, C.J., 2010. Optimized manual and automated recovery of amplifiable DNA from tissues preserved in buffered formalin and alcohol-based fixative. *Forensic Sci. Int. Genet.* 4, 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2009.06.003>.

Ferrer, I., Armstrong, J., Capellari, S., Parchi, P., Arzberger, T., Bell, J., Budka, H., Strobel, T., Giaccone, G., Rossi, G., Bogdanovic, N., Fakai, P., Schmitt, A., Riederers, P., Al-Sarraj, S., Ravid, R., Kretschmar, H., 2007. Effects of formalin fixation, paraffin embedding, and time of storage on DNA preservation in brain tissue: a BrainNet Europe study. *Brain Pathol.* 17, 297–303. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2007.00073.x>.

Funabashi, K.S., Barcelos, D., Visona, I., e Silva, M.S., e Sousa, M.L., de Franco, M.F., Iwamura, E.S., 2012. DNA extraction and molecular analysis of non-tumoral liver, spleen, and brain from autopsy samples: the effect of formalin fixation and paraffin embedding. *Pathol. Res. Pract.* 208, 584–591. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2012.07.001>.

Gilbert, M.T., Haselkorn, T., Bunce, M., Sanchez, J.J., Lucas, S.B., Jewell, L.D., Van Marck, E., Worobey, M., 2007. The isolation of nucleic acids from fixed, paraffin-embedded tissues-which methods are useful when? *PLoS One* 2, e537. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000537>.

Gino, S., Varacalli, S., Robino, C., Torre, C., 2004. STR typing of fixed human tissue: formalin vs. alcohol-based method. *Int. Congress Ser.* 1261, 611–612. [https://doi.org/10.1016/S0531-5131\(03\)01660/1](https://doi.org/10.1016/S0531-5131(03)01660/1).

Gouveia, G.R., Ferreira, S.C., Siqueira, S.A.C., Pereira, J., 2016. Nucleic acids extraction from formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. In: Larramendy, M.L., Soloneski, S. (Eds.), *Nucleic Acids-From Basic Aspects to Laboratory Tools*. IntechOpen, pp. 27–36. <https://doi.org/10.5772/61581>.

Greer, C.E., Lund, J.K., Manos, M.M., 1991a. PCR amplification from paraffin-embedded tissues: recommendations on fixatives for long-term storage and prospective studies. *PCR Methods Appl.* 1, 46–50. <https://doi.org/10.1101/gr.1.1.46>.

Greer, C.E., Peterson, S.L., Kiviat, N.B., Manos, M.M., 1991b. PCR amplification from paraffin-embedded tissues. Effects of fixative and fixation time. *Am. J. Clin. Pathol.* 95, 117–124. <https://doi.org/10.1093/ajcp/95.2.117>.

Groelz, D., Sobin, L., Branton, P., Compton, C., Wyrich, R., Rainen, L., 2013. Non-formalin fixative versus formalin-fixed tissue: a comparison of histology and RNA quality. *Exp. Mol. Pathol.* 94, 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2012.07.002>.

Hamazaki, S., Koshiba, M., Habuchi, T., Takahashi, R., Sugiyama, T., 1993. The effect of formalin fixation on restriction endonuclease digestion of DNA and PCR amplification. *Pathol. Res. Pract.* 189, 553–557. [https://doi.org/10.1016/S0344-0338\(11\)80365-1](https://doi.org/10.1016/S0344-0338(11)80365-1).

Hewitt, S.M., Lewis, F.A., Cao, Y., Conrad, R.C., Cronin, M., Danenberg, K.D., Goralski, T.J., Langmore, J.R., Raja, R.G., Williams, P.M., Palma, J.F., Warrington, J.A., 2008. Tissue handling and specimen preparation in surgical pathology/issues concerning the recovery of nucleic acids from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 132, 1929–1935. <https://doi.org/10.1043/1543-2165-132.12.1929>.

Inoue, T., Nabeshima, K., Kataoka, H., Kono, M., 1996. Feasibility of archival non-buffered formalin-fixed and paraffin-embedded tissues for PCR amplification: an analysis of resected gastric carcinoma. *Pathol. Int.* 46, 997–1004. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.1996.tb03580.x>.

Kocjan, B.J., Hosnjak, L., Poljak, M., 2015. Commercially available kits for manual and automatic extraction of nucleic acids from formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissues. *Acta Dermatovenol. Alp. Pannonica Adriat.* 24, 47–53. <https://doi.org/10.15570/actaapa.2015.12>.

Legnard, B., Mazancourt, Pd., Durigon, M., Khalifat, V., Crainic, K., 2002. DNA genotyping of unbuffered formalin fixed paraffin embedded tissues. *Forensic Sci. Int.* 125, 205–211. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(01\)00641-7](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(01)00641-7).

Lehmann, U., Kreipe, H., 2001. Real-time PCR analysis of DNA and RNA extracted from formalin-fixed and paraffin-embedded biopsies. *Methods* 25, 409–418. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1263>.

Lin, J., Kennedy, S.H., Svarovsky, T., Rogers, J., Kemnitz, J.W., Xu, A., Zondervan, K.T., 2009. High-quality genomic DNA extraction from formalin-fixed and paraffin-embedded samples deparaffinized using mineral oil. *Anal. Biochem.* 395, 265–267. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.08.016>.

Ludya, N., Grunwald, B., Azimzadeh, O., Englert, S., Hofler, H., Tapio, S., Aubele, M., 2012. Nucleic acids from long-term preserved FFPE tissues are suitable for downstream analyses. *Virchows Arch.* 460, 131–140. <https://doi.org/10.1007/s00428-011-1184-9>.

Miething, F., Hering, S., Hanschke, B., Dressler, J., 2006. Effect of fixation to the degradation of nuclear and mitochondrial DNA in different tissues. *J. Histochem. Cytochem.* 54, 371–374. <https://doi.org/10.1369/jhc.586726.2005>.

Nam, S.K., Im, J., Kwak, Y., Han, N., Nam, K.H., Seo, A.N., Lee, H.S., 2014. Effects of fixation and storage of human tissue samples on nucleic acid preservation. *Korean J. Pathol.* 48, 36–42. <https://doi.org/10.4132/KoreanJPathol.2014.48.1.36>.

Nechifor-Boila, A.C., Loghina, A., Vacariu, V., Halatiu, V.B., Borda, A., 2015. The storage period of the formalin-fixed paraffin-embedded tumor blocks does not influence the concentration and purity of the isolated DNA in a series of 83 renal and thyroid carcinomas. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 56, 759–763.

Niland, E.E., McGuire, A., Cox, M.H., Sandusky, G.E., 2012. High quality DNA obtained with an automated DNA extraction method with 70+ year old formalin-fixed celoidin-embedded (FFCE) blocks from the Indiana medical history museum. *Am. J. Transl. Res.* 4, 198–205.

Okello, J.B., Zurek, J., Devault, A.M., Kuch, M., Okwi, A.L., Sewankambo, N.K., Bimenya, G.S., Poinar, D., Poinar, H.N., 2010. Comparison of methods in the recovery of nucleic acids from archival formalin-fixed paraffin-embedded autopsy tissues. *Anal. Biochem.* 400, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.01.014>.

Quach, N., Goodman, M.F., Shibata, D., 2004. In vitro mutation artifacts after formalin fixation and error prone translesion synthesis during PCR. *BMC Clin. Pathol.* 4, 1. <https://doi.org/10.1186/1472-6890-4-1>.

Rabelo-Goncalves, E., Roesler, B., Guardia, A.C., Milan, A., Hara, N., Escanhoela, C., Almeida, J., Boin, I., Zeitune, J.M., 2014. Evaluation of five DNA extraction methods for detection of *H. pylori* in formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) liver tissue from patients with hepatocellular carcinoma. *Pathol. Res. Pract.* 210, 142–146. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2013.11.003>.

Santos, M.C., Saito, C.P., Line, S.R., 2008. Extraction of genomic DNA from paraffin-embedded tissue sections of human foetuses fixed and stored in formalin for long periods. *Pathol. Res. Pract.* 204, 633–636. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2008.04.005>.

Senguen, B., Baris, E., Oygur, T., Berkats, M., 2014. Comparison of methods for the extraction of DNA from formalin-fixed, paraffin-embedded archival tissues. *Int. J. Med. Sci.* 11, 494–499. <https://doi.org/10.7150/ijms.8842>.

Shibata, D., Martin, W.J., Arnheim, N., 1988. Analysis of DNA sequences in forty-year-old paraffin-embedded thin-tissues sections: a bridge between molecular biology and classical histology. *Cancer Res.* 48, 4564–4566.

Skage, M., Schander, C., 2007. DNA from formalin-fixed tissue: extraction or repair? That is the question. *Mar. Biol. Res.* 3 (289), 295. <https://doi.org/10.1080/17451000701473942>.

Srinivasan, M., Sedmak, D., Jewell, S., 2002. Effect of fixatives and tissue processing on the content and integrity of nucleic acids. *Am. J. Pathol.* 161, 1961–1971. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64472-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64472-0).

Thavarajah, R., Mudimbaimannar, V.K., Elizabeth, J., Rao, U.K., Ranganathan, K., 2012. Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation. *J. Oral Maxillofac. Pathol.* 16, 400–405. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.102496>.

Wang, J.H., Gouda-Vossos, A., Dzamko, N., Halliday, G., Huang, Y., 2013. DNA extraction from fresh-frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded human brain tissue. *Neurosci. Bull.* 29, 649–654. <https://doi.org/10.1007/s12264-013-1379-y>.

Zsikla, V., Baumann, M., Cathomas, G., 2004. Effect of buffered formalin on amplification of DNA from paraffin wax embedded small biopsies using real-time PCR. *J. Clin. Pathol.* 57, 654–656. <https://doi.org/10.1136/jcp.2003.013961>.

FORENSIC GENETICS AND GENOTYPING

Katarina Vitošević¹; Danijela Todorović²; Živana Slović³; Radica Živković-Zarić¹ and Miloš Todorović^{1,3}

¹Department of Anatomy and Forensic Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia;

²Department of Human Genetics, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia;

³Department of Forensic Medicine and Toxicology, Clinical Centre Kragujevac, Kragujevac, Serbia

FORENZIČKA GENETIKA I GENOTIPIZACIJA

Katarina Vitošević¹; Danijela Todorović²; Živana Slović³; Radica Živković-Zarić¹ and Miloš S. Todorović^{1,3}

¹Katadra za anatomiju i forenzičku medicinu, Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac, Srbija

²Katedra za humanu genetiku, Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac, Srbija

³Katedra za forenzičku medicinu i toksikologiju, Klinički centar Kragujevac, Kragujevac, Srbija

Received / Prilijen: 09. 05. 2016.

Accepted / Prihvaćen: 19. 07. 2016.

ABSTRACT

Forensic genetics represents a combination of molecular and population genetics. Personal identification and kinship analysis (e.g. paternity testing) are the two main subjects of forensic DNA analysis. Biological specimens from which DNA is isolated are blood, semen, saliva, tissues, bones, teeth, hairs. Genotyping has become a basis in the characterization of forensic biological evidence. It is performed using a variety of genetic markers, which are divided into two large groups: bi-allelic (single-nucleotide polymorphisms, SNP) and multi-allelic polymorphisms (variable number of tandem repeats, VNTR and short tandem repeats, STR). This review describes the purpose of genetic markers in forensic investigation and their limitations. The STR loci are currently the most informative genetic markers for identity testing, but in cases without a suspect SNP can predict offender's ancestry and phenotype traits such as skin, eyes and hair color. Nowadays, many countries worldwide have established forensic DNA databases based on autosomal short tandem repeats and other markers. In order for DNA profile database to be useful at a national or international level, it is essential to standardize genetic markers used in laboratories.

Keywords: Forensic genetics; Genotyping; Genetic markers; Databases

SAŽETAK

Forenzička genetika predstavlja spoj molekularne i populacione genetike. Identifikacija i utvrđivanje rodbinskih veza (npr. očinstva) su osnovni zadaci forenzičke DNK analize. Biološki materijali iz koga se izoluje DNK su krv, semena, tečnost, pljuvačka, tkiva, kosti, zubi, dlake. Genotipizacija je postala osnov u karakterizaciji forenzičkih bioloških dokaza. Ona se izvodi pomoću različitih genetičkih markera koji su podeljeni u dve velike grupe: bialelski (pojedinačni nukleotidni poliorfizam, SNP) i multialelski polimorfizmi (varijabilni broj uzastopnih ponovaka, VNTR i kratki uzastopni ponovci, STR). Ovaj revijski rad ukazuje na značaj genetičkih markera u forenzičkoj istrazi i ograničenja u njihovoj primeni. STR lokusi su trenutno najinformativniji genetički markeri u identifikacije, ali u slučajevima gde nema osumnjičenih SNP može da ukaže na poreklo prestupnika i fenotipske karakteristike, kao što su boja kože, oči i kose. U mnogim zemljama širom sveta uspostavljene su forenzičke DNK baze podataka koje se baziraju na autozomnim STR i drugim markerima. Da bi baze podataka o DNK profilu bile korisne na nacionalnom i internacionalnom nivou neophodno je da se standardizuju genetički markeri koji se koriste u laboratorijama.

Кljučне речи: forenzička genetika, genotipizacija, genetički markeri, DNK baze podataka

ABBREVIATIONS

bp – base pairs	mRNA – messenger ribonucleic acid
cfDNA – cell-free fetal DNA	mtDNA – mitochondrial DNA
CODIS – Combined DNA Index System	NA – nucleic acid
DNA – deoxyribonucleic acid	PCR – polymorphism chain reaction
EDNAP – European DNA Profiling Group	RNA – ribonucleic acid
ENFSI – European Network of Forensic Science Institute	RFLP- restriction fragment length polymorphism
ESS – European Standard Set	SNP – single nucleotide polymorphism
EU – European Union	SSR – simple sequence repeat
FBI – Federal Bureau of Investigation	STADNAP – Standardization of DNA Profiling
HV1 - hyper variable region 1	STR – short tandem repeats
HV2 - hyper variable region 2	UV light - ultraviolet light
MPS – Massively Parallel Sequencing	USA - United States of America
	VNTR – variable number of tandem repeats



Ser J Exp Clin Res 2017; 1-1
DOI: 10.1515/SJECR-2016-0074

Corresponding author: Doc.dr Miloš Todorović, Zmaj Jovina 30, 34 000 Kragujevac,
Tel: 062 877 6761, Fax: 034 306 800, E-mail: mtodorovic@gmail.com

Unauthenticated
Download Date | 2/15/18 3:23 PM



INTRODUCTION

Forensic genetics is an interdisciplinary science that uses techniques from statistics and computer science and connects them biology and law (1, 2). Typical contexts for forensic DNA analysis are disputes on kinship (e.g. paternity testing), corpse identification, forensic casework (criminal matters), missing person investigation and mass-fatality identification (e.g. terrorist attacks, airplane crash, tsunami disaster, war crimes) (2-4). Personal identification and relatedness to other individuals are the two main subjects of forensic DNA analysis (2).

Early molecular biology procedures were based on the analysis of protein polymorphisms (e.g. blood group) and phenotype polymorphisms (e.g. eyes and hair color). The discrimination potential of these systems is low compared to DNA polymorphisms (3, 5). Any two humans are 99,9% identical in their nucleotide sequences (1, 2, 4). The remaining 0,1% indicates that, on average, for every 1,000 nucleotides there is one nucleotide that varies among people and defines different alleles of the corresponding gene, and for two randomly chosen individuals there are about 3 million bases differentiating haploid genomes (6). Polymorphisms in the DNA molecule are not uniformly distributed; in some regions of the genome they are densely packed. These hypervariable genetic loci are the source of forensic DNA typing and can be used to both differentiate and correlate individuals (1, 4). The forensic application of DNA typing methods over the past thirty years constitutes a major progression in the examination of biological evidence. With its remarkable sensitivity and power of discrimination, DNA analysis has become the most important in the fields of forensic science and forensic medicine (7).

SOURCES OF DNA

Biological specimens from whom DNA is isolated and typed are: blood and bloodstains, semen and seminal stains, saliva, tissues, organs, bones, teeth, hairs, fingernails, urine, and other body fluids (e.g. vaginal) (3, 7-10).

Blood samples provide large amounts of cells which contain DNA (11). It is possible to reproduce genetic profiles even from four-year-old dried blood stains (5). Many studies showed that blood was not a suitable substrate for personal identification in the case of blood transfusion, peripheral blood stem cells transplantation or bone marrow transplantation due to the presence of donor cells in the recipient blood cells (12, 13). Chaudhary et al. have shown that the saliva also contain donor cells (12). Other common biological sources for forensic DNA profiling in these cases are fingernails and hair follicles (12). However, some studies have shown donor chimerism (presence of donor cells in the recipient) in these sources, but very rarely (12).

Saliva is a potentially useful source of genomic DNA for genetic studies since it can be collected in a painless and non-invasive manner. The inhibitory substances are much

lower and less complex in saliva (e.g. proteases from food particles, bacterial cells) (14) than in blood (e.g. heme, hemoglobin, lactoferrin, immunoglobulin G) (15, 16, 17). Saliva transports exfoliated epithelial cells from buccal mucosa which contains DNA and the mean number of epithelial cells per 1 mL of saliva is about 4.3×10^5 , which makes it a suitable source of genomic DNA (8, 11, 18). Some studies have shown that DNA of perpetrator may be detected in the victim's oral cavity up to 1 hour after intense or constrained kissing (8, 10). Saliva can also be placed on human skin through kissing, biting, sucking and licking. Kenna et al. have reported that salivary DNA persists on the skin a minimum of 96 h (19). For example, it is possible to extract DNA from bite marks within this period, but amount of saliva deposited on the skin is usually very small in bite marks (19, 20). In addition, the concentration of salivary DNA varied from donor to donor and from day to day (19). Also many factors can cause DNA damage in saliva, such as: diet, brushing habits, eating habits, smoking, cancer in the oral cavity, fungal infection, etc. Problem with buccal cells is DNA contamination. Food particles often remain in the oral cavity which contaminates the exfoliated epithelial cells from buccal mucosa and leads to less yields of DNA and incorrect results (6).

The fingernail hyponychium can provide a valuable source of evidential material for investigation (8, 21). Traces of skin (especially if the victim scratched the perpetrator), body fluids and hairs may collect under the nails. The persistence of foreign DNA under the nails generally lasts up to 6 h (8). Cook and Dixon in their study detected foreign DNA in 13% of samples after 24 h (21).

Hairs from the victim or from the putative offender are frequently found at crime scenes. Isolation and analysis of DNA molecule from the hair root could provide the identification of the perpetrator. Hairs with intact root in the mitotically active anagen-growing phase mainly contain informative DNA profiles, while the inactive, naturally shed hairs in the telogen phase rarely yield informative DNA profiles. Unfortunately, 95% of the hairs found at a crime scene are inactive or in telogen phase (22).

Bones and teeth are available evidence for homicide committed several years ago or for homicides where the victim was not found promptly and they are often the only surviving material that can be tested especially in mass fatality incidents and mass graves (23). Bone and teeth samples protect DNA through their physical and/or chemical resistance to environmental degradation (23). Teeth with their anatomical location and morphological structure (enamel, dentine, pulp and cementum) provide unique protection to endogenous DNA from post-mortem degradation (24). The dental pulp also provides a rich source of DNA (25).

It should be noted that several factors affect the ability to obtain a DNA profile from biological samples: quantity of DNA, sample degradation and sample purity. The quantity and quality (purity and degradation) of DNA that can be extracted from biological sources are different and can vary



as they are strongly influenced by the time after death and environmental conditions. The DNA quality really influences on genotyping and polymorphism chain reaction (PCR) amplification. Another common problem is the presence of inhibitors of DNA analysis and PCR amplification (26).

Quantity

In 1993, Decorte and Cassiman published that the conventional DNA typing needs at least 50 to 500 ng of high molecular weight DNA (5). Nowadays, optimal amount of DNA is well defined and typically ranges from 100-200 pg to 2-3ng (1 ng is considered the optimum amount for most commercial kits) (27, 28). The quantity of DNA is different in different biological samples (Table 1). For comparison, total weight of DNA in one single cell is less than 7 pg (1). The amount of DNA in each hair depends on the anatomic place of collection (e.g. head, beard, pubis) and varies between individuals. Also, the hair melanin is significant inhibitor of PCR DNA amplification, and therefore roots are preferable. Hair chemical treatments may furthermore decrease amount of DNA (8).

Degradation

All biological specimens are susceptible to degradation. For example, prolonged exposure of even a large blood stain to the environment can degrade the DNA and make it unsuitable for further analysis (7). Environmental sources of degradation are chemical (acids, bases, strong oxidizing agents), physical (heat and sunlight) and biological (bacteria and fungi) (1, 3). The most common source of degradation is biological in the form of mold and mildew. This is most commonly because moist materials are packed in a tightly sealed nylon bags which contributes to the development of microorganisms (1). In order to prevent DNA degradation, a forensic examiner must correctly select the type of material used for collection and storage (e.g. paper versus plastic bags) and ensure complete drying of the sample prior to packaging (8).

In cadavers, DNA degrades very quickly, which is the consequence of rapid bacterial increase, especially in those that are exposed to hot temperatures. At the same time, DNA in dead cells degrades under the influence of endonucleases and exonucleases (5, 26). The level of degradation also depends on the type of analyzed tissue (29). In comparison to soft tissues, hard tissues are greatly resistant to autolysis and decomposition caused by environmental factors. Therefore, bones, teeth and nails are the only source of DNA in some forensic cases (3, 29). Miloš et al. have shown that femur provided the best success rates while clavicle, ulna, and radius provided the lowest success rates (23). Maciejewska et al. have shown that if human remains are exposed to high temperature, samples of soft tissues of the highest weight (thickness) should be collected for the genetic analysis, because they give the best chance of successful identification (29).

Table 1. Quantity of DNA in different biological samples (1, 7)

Type of sample	Amount of DNA
Liquid blood	30 000 ng/ml
Stain of blood	200 ng/cm ²
Liquid semen	250 000 ng/ml
Postcoital vaginal swab	0-3000 ng/swab
Hair(with root) plucked	1-750 ng/root
Hair (with root) shed	1-12 ng/root
Liquid saliva	5 000 ng/ml
Oral swab	100-1500 ng/swab
Urine	1-20 ng/ml
Bone	3-10 ng/mg
Tissue	50-500 ng/mg

Purity

In biological specimens, besides the human traces, can also be found traces which originated from other organisms (plants and microorganisms), but the main sources of contamination originate from people. Contamination with microorganisms primarily depends on the way the samples are kept after collection (11). A distinction should be made between the so-called mixed sample and contaminated sample. Mixed sample contains DNA from two or more contributors, where the mixing occurred during the crime itself, usually with small amounts of DNA from potentially numerous contributors (10, 30). Contaminated sample contains DNA from the person who did not participate in the commission of the criminal offense and his or her DNA is deposited over the biological trace during the collection, storage and analysis. A sample may also be contaminated after it is collected from the crime scene and comes from the investigating officers, laboratory technicians and laboratory plastic ware. The issue of contamination is overcome by forming dedicated, specialized laboratories and by implementing protocols to reduce the risk of intra-laboratory contamination (28).

GENOTYPING

Genotyping has become a basis in the analysis of forensic biological evidence which allows analyses of an extensive choice of biological specimens (27). It is also known as DNA typing or DNA fingerprinting. It is called a "fingerprint" because it is very unlikely that any two people would have exactly the same DNA information, in the same way that it is very unlikely that any two people would have exactly the same physical fingerprint. Unlike clinical genetic research in which the result of DNA analysis itself is an information, in forensic genetics only by comparing DNA profiles obtained from one biological trace with the DNA profile from another biological trace we obtain the necessary information (1). The first method used for DNA fin-



gerprinting is RFLP (restriction fragment length polymorphism), which detects the repeated sequences by defining a specific pattern to the variable number of tandem repeats, which forms the DNA fingerprint of a person. Using a special enzyme, called restriction endonuclease, that acts as a molecular scissors, DNA is cut into fragments on specific restriction sites. The chopped fragments have varying lengths. Gel electrophoresis is done to separate the cut fragments based on their size. A Southern blot (transferring the fragments to a nitrocellulose membrane) is then performed, and a radioactive probe is used to analyze the DNA. This RFLP analysis requires large quantities of DNA and requires long waiting time to obtain results (31). Nowadays DNA fingerprinting is based on PCR (1, 32). The remarkable sensitivity of the DNA typing assays permits even very small quantities of DNA to be genotyped (27). The regions of DNA that have most often been used in forensic analysis are located in non-coding genome regions (they are not genes) (33). The gene that codes for an exacting protein contributes to only 2–5% of DNA, whereas the remaining 95% are non-coding DNA (25). Therefore we mark them as *markers* (19). However, some of these non-coding markers are linked with visible traits (3). In forensic DNA analysis we used a variety of genetic markers and divided them into two large groups: multi-allelic polymorphisms (variable number of tandem repeats - VNTR and short tandem repeats - STR) and bi-allelic (single-nucleotide polymorphisms - SNP) (1, 3).

Variable number of tandem repeats - VNTR

In 1985, Alec Jeffreys have shown that highly polymorphic DNA segments (minisatellites or variable number of tandem repeats) are able to generate individual specific DNA fingerprints (34). The VNTRs contain repeated motif of 6–100 bp (3, 10). The number of repeats varies from person to person. Because different alleles consist of different numbers of repeats, VNTR alleles can be identified by their lengths. The VNTR loci chosen for forensic use are on different chromosomes, or sometimes very distant on the same chromosome, so they are separately inherited (33). The VNTR loci are suitable for identification since they have a very large number of alleles, often a hundred or more (1, 3, 33). The great number of alleles means that the number of possible genotypes is huge. For example, one VNTR in humans is a 17 bp sequence of DNA repeated between 70 and 450 times in the genome, so that total number of base pairs at this locus could vary from 1190 to 7650 (2). Another advantage of VNTRs for genotyping is that none of the alleles is very common. Different alleles are much more comparable in frequency than multiple alleles of most genes. This is due to high mutation rate and the fact that most mutations increase or decrease the length of a VNTR by one or a few units (33). Due to high numbers of rare alleles, VNTR loci alone often lead to much higher exclusion (or inclusion) probabilities than single STR loci alone, which often have quite common and widespread al-

les (1, 2). The major limitation of VNTR analysis is that DNA has to be better preserved (1). In the early 1990s, forensic DNA analysis moved from markers which contain large core repeat units and large amplicon size to short tandem repeats (STRs), and the first available commercial kits for typing multiple STRs in a single reaction became available in the early 2000s (10). Nowadays the use of VNTR has been replaced by STR (short tandem repeats).

Short tandem repeats - STR

Today the power of forensic DNA analysis is in polymorphisms at the short tandem repeat (STR) loci and the number of STR loci used (35). STRs, known as microsatellites or simple sequence repeats (SSRs), contain repeated motif from 1–5 for some authors, 2–7 or 2–10 nucleotides in length for others, that are repeated in tandem from approximately a half dozen to several dozen times (25, 36–38). The small amplicon size of STRs (typically ranging from 100 to 500 bps in length) makes them suitable for the analysis of degraded DNA samples (2, 9, 27, 36, 38, 39). The STR loci are currently the most informative genetic markers for identity testing (3, 4, 28, 38). For example, the identity of the murdered Romanov family was confirmed using DNA extracted from bone fragments and amplified for 5 STR loci (HUMTH01, HUMVWA31, HUMF13A1, HUMFES/FPS, and HUMACTPB2), and amelogenin (40). Also forensic applications of STRs has allowed the reopening and solving old and forgotten cases and has also led to the exoneration of prisoners convicted through miscarriages of justice (32).

Limitation of using STRs is the high mutation rate of STR loci (10^{-3} – 10^{-5}), which makes them very informative, but also less stable (3). High mutational rates also lead to extensive polymorphism and increase the probability of isolated populations diverging rapidly at these STR loci, which makes them particularly useful in the study of population genetics (38).

Use of multiple STR loci in a single test enables a high power of discrimination without the use of large amount of DNA (e.g. 1 ng or less). PCR amplification of multiple STR loci at the same time is possible with different colored fluorescent dyes and different sized PCR products (36). This is an ideal technique for genotyping due to the probability that identical alleles in two individuals decrease with the increase in the number of polymorphic loci examined and also can save time and money, but difficulties may happen when coamplifying several loci. Multiplex PCR involves using a number of sets of PCR primers and allows targeting multiple locations throughout the genome. The problem is that primers for one locus can complex with those of other loci and completely inhibit the amplification. This effect may be avoided by leaving a specific STR locus under certain conditions (2).

Severely degraded DNA samples could contain only very short DNA template molecules (under 100 bp) making conventional STR typing (100–500 bp) unsuccessful.



Damaged DNA templates (e.g. old bones, hair shafts) and minute amounts of cells occasionally lead to the elimination of single or, in the worst case, all alleles (2). In this case STR typing can be improved by moving the PCR primers closer to the STR repeat region, which reduces sizes of product while retaining the same information (3, 28, 36, 41). Thus, STR products reduced in lengths are marked as mini STR and if they are smaller than some of the fragmented DNA template molecules, genetic characterization of the sample may then be possible (28, 36). Butler have shown that the utility of these mini-STR assays has been confirmed in studies involving degraded bone samples and aged blood and saliva stains (36). Success rates in recovering information from severely degraded DNA samples are improved with mini-STR systems compared to conventional STR systems (36). Gill et al. described the acceptance of three new mini-STRs (D10S1248, D14S1434, D22S1045) into the European standard Interpol loci which now include 10 STR loci (42). Mulero et al. described the conversion of eight STRs (D7S820, D13S317, D16S539, D21S11, D2S1338, D18S51, CSF1PO, and FGA) into mini-STRs (41). The amplicon range for mini-STRs is 71–250 bp in length. Consequently, mini-STRs could be accommodated into one multiplex analysis. It would be better if all STR kits are reconfigured into mini-STR kits for routine analysis of forensic evidence. Only one attempt would be needed to obtain a DNA profile for limited-quantity samples. More efforts will continue to convert all current forensically relevant STRs into mini-STRs and to incorporate in one multiplex amplification kit (28).

Single nucleotide polymorphisms - SNP

Single nucleotide polymorphisms (SNPs), i.e. single base difference among two different individuals, are another type of genetic markers and have been considered as additional informative markers (2, 4). SNPs are base substitutions or insertions/deletions that occur at single positions in the genome (9). SNPs in humans occur on average every 1/2000 bases (2). They have much smaller amplicons than those of mini-STRs, as short as 50-60 bp (3, 4, 28). This is very important when dealing with highly degraded DNA samples (3, 4, 39).

Budowle and van Daal claim that SNPs are not the same and they categorized SNPs into categories: 1. identity-testing SNPs for individualization, 2. lineage-informative SNPs, sets of tightly-linked SNPs for identifying missing persons through kinship analyses, 3. ancestry-informative SNPs for establishing biogeography ancestry with high probability, 4. phenotype-informative SNPs for establishing phenotypic characteristics such as skin color, hair color, or eye color with high probability and 5. SNPs for pharmacogenetic investigations for determining the cause of death (9, 28). The information contained in the human genome may provide insights into personal characteristics such as ethnicity, physical and physiological characteristics (43). When there is no suspect, SNPs that describe phenotypic

traits (such as pigmentation of skin, facial features, height, hair color and eye color) would enable a genetic prediction of appearance for investigative leads to identify the perpetrator or at a minimum help confirm or refute the more refractory eyewitness description (28, 43-45). Walsh et al. with six eye color-SNPs adjusted prediction of colors of the iris with accuracies of over 90% (46). Lui et al. suggested the used 9 SNPs (rs183671, rs12203592, rs10756819, rs1393350, rs17128291, rs12913832, rs2924567, rs4268748, rs6059655) as suitable markers for DNA prediction of skin color in Europeans and neighboring populations (44). The same phenotype-informative SNPs could be used to facilitate facial reconstructions for identifying missing persons (28). For example, in the 2004 Madrid train bombings source population of the suspects was concluded by using 34 ancestry-informative SNPs (43). In contrast to the personal information contained in STR markers, the resources regarding SNP markers are mostly population-oriented and can provide robust information on biogeographic ancestry that STRs can't provide due to their high global heterozygosity and greater mutation rate (3, 45).

Although SNPs are bi-allelic and consequently less polymorphic than multi-allelic STRs, they have two known advantages over STRs. The first advantage is that SNPs are more stable genetic markers with low mutation rates on the order 10⁻⁸ and so changeless likely over generations which is crucial concerning inheritance cases, missing per-

Table 2. Advantages and disadvantages of VNTR, STR and SNP genetic markers for DNA profiling (1-4, 9, 27, 28, 33, 36, 38, 39)

	Advantages	Disadvantages
VNTR	-Large number of alleles >100 -none of alleles is very common -high number of rare alleles -VNTR loci alone often lead to much higher exclusion (or inclusion) probabilities than single STR loci alone	-because the large amplicon size of VNTRs DNA has to be better preserved
STR	-small amplicon size makes them suitable for for the analysis of degraded DNA samples -high mutation rate lead to extensive polymorphisms which is useful in the study of population genetics -high power of discrimination without the use of large amount of DNA	-high mutation rate makes them less stable
SNP	-smaller amplicon size than sSTRs makes them suitable for highly degraded DNA samples -ancestry and phenotype SNPs can predict ethnicity and phenotypic traits -low mutation rates which is helpful in inheritance cases and missing person cases	-because they are bi-allelic and consequently less polymorphic -individually less informative than STRs -large panels of SNPs (50–100) are need for genotyping



son cases, and situations where no direct reference sample may be available (3, 4, 9, 28, 39). The second advantage is that amplicon's size is less than 60 bp in length (39).

However, SNP analysis also presents some limitations. It is generally accepted that SNPs are individually less informative than STRs (4, 9). The informativity may be increased by analyzing many unlinked SNPs, in order to achieve the level of discrimination typical for the 13 core STR loci, so large panels of SNPs (50–100) need to be genotyped (3, 4, 9, 39). Sanchez et al. have shown that the applied SNP typing multiplex with 52 SNPs in European populations provides a higher statistical power than 15 human identity STRs (39). Another limitation is that SNPs can provide only weak evidence of familial relationships or resolve mixtures of DNA from two or more individuals in a single sample, precisely because they are only bi-allelic (3, 9, 45).

SNP markers offer a useful and important extension to a routine STR-based DNA typing (3, 4). SNPs give an almost unlimited source of human genome diversity for analyzing (3). An advantage of SNPs is that research and development at present is underway to improve analytical capabilities, possibly making large multiplex assays and complete automation possible. Consequently, the large battery of required SNPs can be used and can provide the power of discrimination currently obtained with STR kits. So a battery of SNPs with a high power of discrimination is desired (28). Some scientists go even further, taking into consideration that SNPs will replace STRs in forensic investigation (4).

Table 2 shows comparison of VNTR, STR and SNP genetic markers.

MITOCHONDRIAL DNA

Mitochondrial DNA (mtDNA) exists within cytoplasmic mitochondria as a separate small genome and contains a region (control region or D loop) which is composed of two hyper variable segments (2, 5, 47). Two hyper variable segments of the control region, HV1 and HV2, are most variable between individuals and are therefore of special interest for forensic studies (3, 28). The principal advantage of mtDNA is that it is present in 500–2000 copies per cell (3, 5, 43, 47). Nuclear DNA, in spite of its great power of identification, is present only in cells with nucleus and in only two copies per cell (47). Many copies of mtDNA increase the chances that some copies of mtDNA will survive in highly degraded forensic samples and permit typing a great range of samples that would otherwise be unthinkable (2, 3, 47). Such samples are highly degraded stains, bones, teeth, saliva, fingernails, and hair shafts (3, 28, 47). As mentioned before, most of hairs founded at crime scene, are shed hairs and do not contain a root. However, the hair shafts still contain many copies of mtDNA (5). Another characteristic of mtDNA is that it is maternally inherited, so even distant maternal relative can provide a comparative reference sample with an expectation of a match (43,

47, 48). In identifying missing persons it is very important to compare mtDNA of unidentified remains with that of a possible maternal relative (25).

Due to lack of recombination, mtDNA can be analyzed as a single, highly informative multi-allelic locus (haplotype). A big advantage of using mtDNA is high mutation rate in the mitochondrial genome which causes high sequence variation. MtDNA is almost ten times more prone to mutation than nuclear DNA. Limitation of mtDNA is heteroplasmy or the presence of more than one mtDNA type in an individual, which is an uncommon characteristic of the mitochondrial genome and may complicate the interpretation (43).

Y CHROMOSOME

As Y chromosome is passed to the son from his father, analysis of markers on this chromosome helps in the identification of male lineages and inferring paternal genetic ancestry for judicial and investigative purposes (25, 49–51). Whereas these markers are transmitted as haplotypes in the same way as single locus alleles, they have the lack of recombination.

Nowadays there are many commercial kits available for Y-STR haplotyping which are useful in reconstructing paternal relationship (52). Given that Y-STRs markers have relatively low mutation rate of about 10^{-3} per locus per generation, they have proven useful for testing short to medium timescale paternal relationships. Other markers used for Y chromosomes are Y-SNPs and, with an average mutation rate of about 3×10^{-8} per nucleotide per generation, they are suitable for studying distant relationships between male individuals and populations (50). Barra et al. have determined the male fetal Y-STR haplotype in maternal plasma during pregnancy and have estimated if the fetus and alleged father belong to the same paternal lineage (52). The main limitation is that it is only applied for mothers bearing a male fetus and its conclusion will be if alleged father and fetus belong to the same paternal lineage or not. Consequently, the test should not be performed in population with a high rate of endogamy (52).

Y-STRs are also used to resolve the male component of mixed DNA when a high female background is present (e.g. sexual assault cases) (43, 49, 52). The vasectomized or naturally azoospermic rapist leaves no sperm, in such cases, Y-specific profiling is effective, even from samples with 1:4000 male:female DNA ratio (32). In the last few years the number of Y-STR markers for routine use in forensic and population genetics has grown significantly (49).

X CHROMOSOME

The X chromosome is transmitted between both sexes in each generation, transferring different genetic information from uniparental genomes (53). Markers located on this chromosome have a particular inheritance pattern, be-



cause women are dizygous and men are hemizygous (54). The X chromosome markers (X-STRs and X-SNPs) show higher efficiency parameters than autosomes in special kinship investigations (as well as incest cases), involving mainly female offspring (48, 53, 54). The STRs on X chromosome can only be used in kinship analysis involving daughters, because there is no allele inherited by descent in a father-son relationship (54). Therefore, a growing number of scientists researching X markers uses them for studying the genetic structure of human populations, ancestry proportions in admixed populations and for forensic investigations (53).

EXTRACELLULAR DNA AND RNA

In 1978, Stroun et al. reported the presence of an RNA form in a nucleoprotein complex spontaneously released from human blood lymphocyte and frog auricle cultured cell systems (55). Extracellular nuclear acids (NAs) have been detected in a variety of biological specimens, including serum, plasma, saliva, urine, milk, bronchial lavage, cell culture supernatants. It is not defined how NAs are released from cells, whether by active secretion or as a result of apoptosis, or some combination of these mechanisms. Extracellular RNA may be protected from degradation by RNases, because they are being packaged into apoptotic bodies, integrated within nucleoprotein complexes with phospholipids and proteins. Analysis of extracellular mRNA profiling in forensic science has also been investigated (56). In 2003, using standard RT-PCR and gel electrophoresis, Juusola and Ballantyne reported that mRNAs specific for saliva and semen can be detected in stains as old as 10 weeks (15,57). The mRNAs have been used for identification of human body fluids or tissues, which is very useful for forensic investigations to identify the origin of biological samples (3, 58). In 2005, Juusola and Ballantyne demonstrated the distinction of stains originating from different body fluids such as blood, semen, saliva and vaginal secretions (59). But the main part of the RNA preserved in salivary stains is cellular (15).

In 1997, Lo et al. detected "fetal" DNA in the plasma of pregnant women (60). So, the non-invasive prenatal testing is possible by detection of cell-free fetal DNA (cfDNA) in maternal circulation. The cfDNA originates from the placenta cells and apoptosis is the main mechanism of releasing it to the mother's circulation. Length of fetal DNA sequences in maternal plasma is mostly 150 bp and is rarely longer than 250 bp, and their final disappearance from maternal circulation occurred after 1–2 days postpartum. Today, there are many situations where it would be desirable to do the non-invasive prenatal paternity testing by the analysis of the circulating cell-free fetal DNA (e.g. unclear paternity in case of women with more than one sexual partner who are unsure of the actual father) (52). Tumor-specific cell-free DNA has also been found in the circulation in many kinds of tumors. The presence of placental and tumor-specific cell-free RNA in plasma was also found (15).

DNA DATABASE

While the human genome contains thousands and thousands of STR markers, only a small core set of loci has been used in forensic DNA and human identity testing. Millions of STR profiles are formed worldwide every year by private laboratories, university and government performing different forms of human identity testing, including DNA databasing, forensic casework, kinship analysis, missing persons and mass disaster victim identification (36).

Currently, more than 60 countries worldwide have established forensic DNA databases based on STRs, and these databases continue to grow fast. Now, China has more than 27 million entries in its forensic database (43). Since 1997, The Federal Bureau of Investigation (FBI) uses a standard set of 13 specific STR loci, collectively referred to as Combined DNA Index System (CODIS) markers, and the sex-differentiating amelogenin locus AMEL-X/Y (1). The CODIS databank houses the largest number of DNA profiles compared to any other forensic DNA database (10, 28). In this database, the chances that more than one individual shares a 13-loci DNA profile are approximately one in one billion (10). The 13 routinely-used CODIS STR markers are: CSF1PO, FGA, THO1, TPOX, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 and D21S11; and 15 markers are 13 CODIS loci plus D2S1338 and D19S433 (28, 43). Although CODIS is used strictly in the USA and Canada, sometimes it is used to match probability in mass disasters outside USA. Thus, after Madrid terrorist attack in 2004, the CODIS database was used to match probabilities of 220 body remains against 98 reference samples, including 67 samples from relatives, representing 40 family groups and 27 antemortem direct references (2).

The forensic DNA databases of the most countries contain two types of profiles: profiles from convicted offenders and/or arrestee profiles (these profiles are from known sources and forensic profiles obtained from crime scenes (from unknown sources) (3, 61). Then CODIS utilizes computer software to automatically search its two indexes for matching DNA profiles and this technology is authorized by USA law (3).

In order for DNA profile database to be useful at a national or international level, it is essential to standardize the genetic markers used among laboratories (28). So, a number of organizations are currently involved in developing and promoting DNA databases across the European Union (EU). The European DNA Profiling Group (EDNAP) was established in 1988 with the aim of forming systematic procedures for data-sharing across the European community. The Standardization of DNA profiling in the EU (STADNAP) enhances usage of DNA profiling across the EU in order to help better detection of 'mobile serial offenders'. The European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) aims to undertake the standardization of forensic practices in support of policing across the whole



of the EU (2). Recently, EU legislation has made all 28 members of the EU to participate in a network of national DNA databases (62).

To improve the discrimination power and the success in analyzing degraded DNA samples, the ENFSI and the ED-NAP published in 2005 a list of three additional new mini-STR loci: D2S441, D10S1248 and D22S1045 and two additional polymorphic loci, D1S1656 and D12S391 (3). The FBI has suggested adding more autosomal STR loci to its present core set. The additional loci are mostly from those that the European system has chosen to supplement its core loci, assist with international data sharing and also increase discriminating power for missing person identifications. Also, one Y chromosome STR marker (DYS391) was added by the FBI into the new core loci, but the reason was to confirm amelogenin null values sometimes present in DNA typing. Many of Chinese crime laboratories have included Y-STRs in the standard protocol for sexual assault cases. However, because of the limitation in detection technology, only up to 25 to 30 autosomal STR and/or Y-STR loci can be multiplexed in a single kit and analyzed, which apparently indirectly limits the marker capacity of the DNA database to support forensic investigations. In the future, with Massively Parallel Sequencing (MPS) technologies it will be possible to type simultaneously all forensically-relevant autosomal STRs, Y STRs, X STRs, SNP and whole mitochondrial DNA genome sequences, comprising between 400-500 markers and much more (61). Addition of more loci increases discrimination power helps in missing persons' cases and makes a distinction between family members in closely related communities. In addition, with expanded locus overlap between numerous databases, international collaboration and data exchange would be easier. For that reason European and US forensic communities have taken steps toward these goals with proposal of the expanded CODIS core loci and acceptance of the European Standard Set (ESS) (63).

Since the early 1990s in the Western Balkan region, DNA analysis in forensic sciences has significantly increased. A large number of people that were buried in mass graves are identified by DNA typing. Forensic DNA testing in Serbia is performed in 6 laboratories. The use of DNA typing in criminal procedures in Serbia is regulated by the Criminal Procedure Act. This Act enables the district lawyer to order police to collect the buccal swab samples from the suspect, with or without his or her consent and requires the forensic pathologist to collect the DNA samples from unidentified bodies, and to collect and preserve samples of any biological traces obtained during autopsy (62).

DNA profiles are different from fingerprints (which are useful only for identification), because DNA can provide insights into many intimate aspects of a person and their families including predisposition to particular diseases and perhaps predispositions to certain behaviors (2). Expanded forensic DNA database will probably lead to the violation of a number of individual and civil rights (62). To defend individual and civil rights is to forbid the inclusion of genetic susceptibilities information in crime databases (2). For their SNP

panel, Sanchez et al. pragmatically selected SNPs that were located at least 100 kb from any known gene, presumably to minimize the potential for perceived privacy risks (39). So the possible connection to a disease gene might be a criterion to consider about privacy. Prediction of physical traits limited to skin, eye, and hair color and possibly height and facial features is less likely to be considered a privacy matter (9).

CONCLUSION

Biological evidence for DNA studies is nowadays considered the most important evidence for legal proof in courts of law. DNA typing analysis can be performed on a large variety of materials, such as cigarette ends, tissues on a gun muzzle and on bullets, dismembered and decayed body parts, paraffin embedded tumor tissue, dirt and skin under fingernails, epithelia of an offender from the victim's neck after strangling, burned corpses, dried chewing gum, skeletal remains, body parts after mass disasters, skeletonized flood victims and human feces and urine. An inverse relation between the degradation and the length of DNA sequence that can be successfully and reproducibly analyzed influences the choice of DNA profiling technology and markers to be analyzed.

The STR analysis is still the most important and commonly-used genetic technique in forensic science. In complex cases of kinship analysis, severely degraded DNA or prediction of phenotype traits of offender's, SNP, Y-STRs, X-STRs and mtDNA could be used to complement autosomal STR typing. Multiplexing or the ability to simultaneously assess several genetic markers in one analysis is the key to forensic testing. More simultaneously typed markers will reduce consumption of often limited precious forensic evidence.

The success of DNA typing in a police investigation can be greatly enhanced by storing DNA profiles in a central database. It is the quality of DNA database laws that makes DNA an effective investigative tool. Effective DNA databases are being constructed and numerous forensic cases solved today through generating STR profiles with a common set of genetic markers.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by grant (project JP: 05/13) from the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia.

REFERENCES

1. Stojkovic O. (2008) Forenzicka genetika. In D.J. Dunjic I saradnici (Eds.) *Ekspertizna medicina* (pp 293-348). Beograd: Evropski centar za mir I razvoj Univerziteta za mir Ujedinjenih Nacija



2. Bianchi L, Liò P. Forensic DNA and bioinformatics. *Brief Bioinform.* 2007;8(2): 117-28. [DOI: 10.1093/bib/bbm006].
3. Ziętkiewicz E, Witt M, Daca P et al. Current genetic methodologies in the identification of disaster victims and in forensic analysis. *J Appl Genet.* 2012;53(1): 41-60. [DOI: 10.1007/s13353-011-0068-7].
4. Pontes ML, Fondevila M, Laréu MV, Medeiros R. SNP Markers as Additional Information to Resolve Complex Kinship Cases. *Transfus Med Hemother.* 2015;42(6): 385-388. [DOI: 10.1159/000440832].
5. Decorte R, Cassiman JJ. Forensic medicine and the polymerase chain reaction technique. *J Med Genet.* 1993;30(8): 625-633. [PMID:11387627].
6. Li WH, Sadler LA. Low nucleotide diversity in man. *Genetics.* 1991;129(2): 513-23. [PMID:1743489].
7. Lee HC, Ladd C. Preservation and Collection of Biological Evidence. *Croat Med J.* 2001;42(3): 225-8. [PMID:11387627].
8. Magalhães T, Dinis-Oliveira RJ, Silva B, Corte-Real F, Nuno Vieira D. Biological Evidence Management for DNA Analysis in Cases of Sexual Assault. *Scientific World Journal.* 2015;2015: 365674. [DOI: 10.1155/2015/365674].
9. Budowle B, van Daal A. Forensically relevant SNP classes. *Biotechniques.* 2008;44(5): 603-8, 610. [DOI: 10.2144/000112806].
10. Hu N, Cong B, Li S, Ma C, Fu L, Zhang X. Current developments in forensic interpretation of mixed DNA samples. *Biomed Rep.* 2014;2(3): 309-316. [DOI:10.3892/br.2014.232].
11. Hansen TV, Simonsen MK, Nielsen FC, Hundrup YA. Collection of blood, saliva, and buccal cell samples in a pilot study on the Danish nurse cohort: comparison of the response rate and quality of genomic DNA. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16(10): 2072-6. [DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0611].
12. Chaudhary G, Dogra TD, Raina A. Evaluation of blood, buccal swabs, and hair follicles for DNA profiling technique using STR markers. *Croat Med J.* 2015;56(3): 239-45. [DOI:10.3325/cmj.2015.56.511].
13. Li YT, Xie MK, Wu J. DNA profiling in peripheral blood, buccal swabs, hair follicles and semen from a patient following allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. *Biomed Rep.* 2014;2(6): 804-808. [DOI:10.3892/br.2014.332].
14. Schrader C, Schielke A, Ellerbroek L, John R. PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *J Appl Microbiol.* 2012 Nov;113(5):1014-26. [DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x].
15. Zimmermann BG, Park NJ, Wong DT. Genomic targets in saliva. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1098: 184-91. [DOI:10.1196/annals.1384.002].
16. Kermekchiev MB, Kirilova LI, Vail EE, Barnes WM. Mutants of Taq DNA polymerase resistant to PCR inhibitors allow DNA amplification from whole blood and crude soil samples. *Nucleic Acids Res.* 2009 Apr;37(5):e40. [DOI: 10.1093/nar/gkn1055].
17. Al-Soud WA, Jönsson LJ, Rådström P. Identification and characterization of immunoglobulin G in blood as a major inhibitor of diagnostic PCR. *J Clin Microbiol.* 2000 Jan;38(1):345-50. [PMID:10618113].
18. Khare P, Raj V, Chandra S, Agarwal S. Quantitative and qualitative assessment of DNA extracted from saliva for its use in forensic identification. *J Forensic Dent Sci.* 2014;6(2): 81-5. [DOI: 10.4103/0975-1475.132529].
19. Kenna J, Smyth M, McKenna L, Dockery C, McDermott SD. The recovery and persistence of salivary DNA on human skin. *J Forensics Sci.* 2011;56: 170-75. [DOI: 10.1111/j.1556-4029.2010.01520.x].
20. Chávez-Briones ML, Hernández-Cortés R, Jaramillo-Rangel G, Ortega-Martínez M. Relevance of sampling and DNA extraction techniques for the analysis of salivary evidence from bite marks: a case report. *Genet Mol Res.* 2015;14(3): 10165-71. [DOI: 10.4238/2015.August.21.23].
21. Cook O, Dixon L. The prevalence of mixed DNA profiles in fingernail samples taken from individuals in the general population. *Forensic Sci Int Genet.* 2007;1(1): 62-8. [DOI: 10.1016/j.fsigen.2006.10.009].
22. Bourguignon L, Hoste B, Boonen T, Vits K, Hubrecht F. A fluorescent microscopy-screening test for efficient STR-typing of telogen hair roots. *Forensic Sci Int Genet.* 2008;3: 27-31. [DOI: 10.1016/j.fsigen.2008.08.006].
23. Miloš A, Selmanović A, Smajlović L et al. Success rates of nuclear short tandem repeat typing from different skeletal elements. *Croat Med J.* 2007;48(4): 486-93. [PMID:17696303].
24. Higgins D, Rohrlach AB, Kaidonis J, Townsend G, Austin JJ. Differential nuclear and mitochondrial DNA preservation in post-mortem teeth with implications for forensic and ancient DNA studies. *PLoS One.* 2015;10(5): e0126935. [DOI: 10.1371/journal.pone.0126935].
25. Sakari SL, Jimson S, Masthan KM, Jacobina J. Role of DNA profiling in forensic odontology. *J Pharm Bioallied Sci.* 2015;7(1): 138-41. [DOI: 10.4103/0975-7406.155863].
26. Iwamura ES, Soares-Vieira JA, Muñoz DR. Human identification and analysis of DNA in bones. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo.* 2004;59(6): 383-8. [http://dx.doi.org/10.1590/S0041-87812004000600012].
27. Budowle B, Eisenberg AJ, van Daal A. Validity of low copy number typing and applications to forensic science. *Croat Med J.* 2009;50(3): 207-17. [DOI: 10.3325/cmj.2009.50.207].
28. Budowle B, van Daal A. Extracting evidence from forensic DNA analyses: future molecular biology directions. *Biotechniques.* 2009;46(5): 339-40, 342-50. [DOI: 10.2144/000113136].
29. Maciejewska A, Włodarczyk R, Pawłowski R. The influence of high temperature on the possibility of DNA typing in various human tissues. *Folia Histochem Cytobiol.* 2015;53(4): 322-332. [DOI: 10.5603/fhc.a2015.0029].



30. Hu N, Cong B, Gao T, Hu R, Chen Y, Tang H. Evaluation of parameters in mixed male DNA profiles for the Identifiler® multiplex system. *Int J Mol Med*. 2014;34(1): 43-52. [DOI: 10.3892/ijmm.2014.1779].
31. Girish K, Rahman FS, Tippu SR. Dental DNA fingerprinting in identification of human remains. *J Forensic Dent Sci*. 2010 Jul;2(2):63-8. [DOI: 10.4103/0975-1475.81284].
32. Jobling MA, Gill P. Encoded evidence: DNA in forensic analysis. *Nat Rev Genet*. 2004 Oct;5(10):739-51. [DOI: 10.1038/nrg1455].
33. National Research Council (US) Committee on DNA Forensic Science: An Update. *The Evaluation of Forensic DNA Evidence*. Washington (DC): National Academies Press (US); 1996: 65-69. [DOI: 10.17226/5141].
34. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. *Nature*. 1985;316(6023): 76-9. [PMID:2989708].
35. Tracey M. Short Tandem Repeat-based Identification of Individuals and Parents. *Croat Med J*. 2001;42(3): 233-8. [PMID: 11387629].
36. John M. Butler. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. *Biotechniques*. 2007;43(4):ii-v. [DOI: 10.2144/000112582].
37. Jovanovich S, Bogdan G, Belcinski R et al. Developmental validation of a fully integrated sample-to-profile rapid human identification system for processing single-source reference buccal samples. *Forensic Sci Int Genet*. 2015;16: 181-94. [DOI: 10.1016/j.fsigen.2014.12.004].
38. Foroughmand AM, Jari M, Kazeminezhad SR, Abdollahi A, Ahmadi L, Heidari M. Genetic analysis of two STR loci (VWA and TPOX) in the Iranian province of Khuzestan. *Iran J Basic Med Sci*. 2014;17(8): 583-7. [PMID:25422751].
39. Sanchez JJ, Phillips C, Børsting C et al. A multiplex assay with 52 single nucleotide polymorphisms for human identification. *Electrophoresis*. 2006;27(9): 1713-24. [DOI: 10.1002/elps.200500671].
40. Gill P, Ivanov PL, Kimpton C et al. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nat Genet*. 1994;6(2): 130-5. [DOI:10.1038/ng0294-130].
41. Mulero JJ, Chang CW, Lagacé RE et al. Development and validation of the AmpFISTR MiniFiler PCR Amplification Kit: a MiniSTR multiplex for the analysis of degraded and/or PCR inhibited DNA. *J Forensic Sci*. 2008;53(4): 838-52. [DOI: 10.1111/j.1556-4029.2008.00760.x].
42. Gill P, Fereday L, Morling N, Schneider PM. The evolution of DNA databases--recommendations for new European STR loci. *Forensic Sci Int*. 2006;156(2-3): 242-4. [DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.05.036>].
43. Yang Y, Xie B, Yan J. Application of Next-generation Sequencing Technology in Forensic Science. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2014;12(5): 190-7. [DOI: 10.1016/j.gpb.2014.09.001].
44. Liu F, Visser M, Duffy DL et al. Genetics of skin color variation in Europeans: genome-wide association studies with functional follow-up. *Hum Genet*. 2015;134(8): 823-35. [DOI: 10.1007/s00439-015-1559-0].
45. Kidd KK, Speed WC. Criteria for selecting microhaplotypes: mixture detection and deconvolution. *Investig Genet*. 2015;6: 1. [DOI: 10.1186/s13323-014-0018-3].
46. Walsh S, Liu F, Ballantyne KN, van Oven M, Lao O, Kayser M. IrisPlex: a sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information. *Forensic Sci Int Genet*. 2011;5(3): 170-80. [DOI: 10.1016/j.fsigen.2010.02.004].
47. Parsons TJ, Coble MD. Increasing the forensic discrimination of mitochondrial DNA testing through analysis of the entire mitochondrial DNA genome. *Croat Med J*. 2001;42(3): 304-9. [PMID:11387644].
48. Li L, Lin Y, Liu Y, Zhu R, Zhao Z, Que T. A case of false mother included with 46 autosomal STR markers. *Investig Genet*. 2015;6: 9. [DOI: 10.1186/s13323-015-0026-y].
49. Westen AA, Kraaijenbrink T, Clarisse L et al. Analysis of 36 Y-STR marker units including a concordance study among 2085 Dutch males. *Forensic Sci Int Genet*. 2015;14: 174-81. [DOI: 10.1016/j.fsigen.2014.10.012].
50. Ballantyne KN, Ralf A, Aboukhalid R et al. Toward male individualization with rapidly mutating y-chromosomal short tandem repeats. *Hum Mutat*. 2014;35(8): 1021-32. [DOI: 10.1002/humu.22599].
51. Vieira TC, Gigonzac MA, Silva DM, Rodvalho RG, Santos GS, da Cruz AD. Y-STR haplotype diversity and population data for Central Brazil: implications for environmental forensics and paternity testing. *Genet Mol Res*. 2014;13(2): 3404-10. [DOI: 10.4238/2014.April.30.1].
52. Barra GB, Santa Rita TH, Chianca CF et al. Fetal male lineage determination by analysis of Y-chromosome STR haplotype in maternal plasma. *Forensic Sci Int Genet*. 2015;15: 105-10. [DOI: 10.1016/j.fsigen.2014.11.006].
53. Zhang S, Bian Y, Li L et al. Population genetic study of 34 X-Chromosome markers in 5 main ethnic groups of China. *Sci Rep*. 2015;5: 17711. [DOI: 10.1038/srep17711].
54. Trindade-Filho A, Ferreira S, Oliveira SF. Impact of a chromosome X STR Decaplex in deficiency paternity cases. *Genet Mol Biol*. 2013;36(4): 507-10. [DOI: 10.1590/S1415-47572013000400008].
55. Stroun M, Anker P, Beljanski M et al. Presence of RNA in the nucleoprotein complex spontaneously released by human lymphocytes and frog auricles in culture. *Cancer res*. 1978;38: 3546-54. [PMID: 688240].
56. O'Driscoll L. Extracellular nucleic acids and their potential as diagnostic, prognostic and predictive biomarkers. *Anticancer Res*. 2007;27(3A): 1257-65. [PMID:17593617].



57. Juusola J, Ballantyne J. Messenger RNA profiling: a prototype method to supplant conventional methods for body fluid identification. *Forensic Sci Int.* 2003;135(2): 85-96. [DOI:http://dx.doi.org/10.1016/S0379-0738(03)00197-X].
58. Xu Y, Xie J, Cao Y et al. Development of highly sensitive and specific mRNA multiplex system (XCYR1) for forensic human body fluids and tissues identification. *PLoS One.* 2014;9(7): e100123. [DOI: 10.1371/journal.pone.0100123].
59. Juusola J, Ballantyne J. Multiplex mRNA profiling for the identification of body fluids. *Forensic Sci Int.* 2005;152(1): 1-12. [DOI:http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.02.020].
60. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet.* 1997;350(9076): 485-7. [DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)02174-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(97)02174-0)].
61. Hu N, Cong B, Li S, Ma C, Fu L, Zhang X. Current developments in forensic interpretation of mixed DNA samples. *Biomed Rep.* 2014;2(3): 309-316. [DOI:10.3892/br.2014.232].
62. Marjanović D, Konjhodžić R, Butorac SS et al. Forensic DNA databases in Western Balkan region: retrospectives, perspectives, and initiatives. *Croat Med J.* 2011;52(3): 235-44. [DOI:10.3325/cmj.2011.52.235].
63. Oostdik K, Lenz K, Nye J et al. Developmental validation of the PowerPlex(*) Fusion System for analysis of casework and reference samples: A 24-locus multiplex for new database standards. *Forensic Sci Int Genet.* 2014;12: 69-76. [DOI: 10.1016/j.fsi-gen.2014.04.013].