

**Terapija bisfosfonatima**

Sve donedavno, terapija OI je bila fokusirana na kiruršku korekciju deformacija i rehabilitacijske programe. Sva tadašnja medikamentozna terapija upotrebljavana za olakšanje bolova je bila potpuno nedjelotvorna na tijek bolesti, a uključivala je fluoride, magnezijev oksid i anaboličke steroide. Kasnije, cikličkim intravenoznim tretmanom sa pomidronatom (3-amino-1-hidroksipropiliden-bisfosfonat), dokazana je djelotvornost preparata na težim oblicima bolesti. Uočeno je znatno povećanje mineralizacije kostiju i fizičke aktivnosti kod tih pacijenata, te znatno smanjenje pojave frakturna. Pamidronat je druga generacija bisfosfonata sa kemijskom strukturon analognom pirofosfonatu, jednom od prirodnih inhibitora koštane resorpcije. Učinkovitost je dokazana na djeci, dok objavljenih studija o primjeni na odraslima još uvijek nema. Nestanak koštanih boli i smanjen broj frakturna uvjetuju izvrsnu pokret-

ljivost pacijenata. Razmatra se primjena ove terapije i na polju drugih osteopeničnih poremećaja u djece.

**Genska terapija u OI**

Kako bisfosfonati ne mogu ukloniti primarni uzrok OI, te je njihova dugotrajna upotreba i efikasnost još uvijek neizvjesna, iznešene su mogućnosti otklanjanja podloge genske mutacije kod ljudi i miševa. Osnova svega je spoznaja da se poguban efekt OI stanica može neutralizirati prisutnošću normalnih stanica. Za postizanje cilja potrebno je endogene OI stanice uzgojiti in vitro kako bi se omogućila korekcija primarnog defekta u produkciji kolagena tipa I, a zatim se takve stanice vraćaju u organizam domaćina i brzo naseljavaju kost. Takve modificirane stanice imaju normalnu proliferaciju i proizvode normalan koštani matriks. Nije upitno kako će, kada bude u potpunosti razvijena, ova metoda omogućiti bolje prognoze u terapiji OI.

**LITERATURA:**

1. Dragan Primorac, David W. Rowe, Monica Mottes, Ingoborg Barišić, Darko Antičević, Stefania Mirandola, Macarena Gomez Lira, Ivo Kalajžić, Vesna Kušec, Francis H. Glorieux

(2001), *Osteogenesis Imperfecta of the Beginning of Bone and Joint Decade*, Croat Med J 2001; 42: 393-415

2. C. Brocheriu, A. C. Baglin, M. Wassef: *Atlas of pathology*

# IDENTIFIKACIJA LJUDSKIH OSTATAKA

*Dragana Gabrić*

Izvor su rezultati istraživanja i nove metode u forenzičkim znanostima predstavljene na Svjetskom kongresu genetičara krajem rujna prošle godine u Dubrovniku, kao i postojeća literatura o forenzičkim znanostima. Na dostupnosti materijalu, suradnji i strpljenju zahvaljujem svom mentoru dr. sc. Dragunu Primoru.

Identifikacija je proces utvrđivanja istinitosti osoba, dijelova tijela, tragova i predmeta u cilju otkrivanja obilježja koja omogućavaju nesumnjivo i nesporno prepoznavanje. Temelji se na dva osnovna postupka: traženje i bilježenje karakterističnih osobina, te uspoređivanje ustanovljenih značajki s već ranije poznatim podacima o objektu za koji se identitet pretpostavlja. Pojam identifikacije osobe je čin iza kojeg стоји cijeli niz pravnih radnji. Utvrđivanje identiteta živih osoba rijetko predstavlja veći problem, dok identifikacija mrtvih može biti vrlo težak i dugotrajan posao, što ovisi o stanju u kojem se tijela nalaze i još nizu drugih okolnosti. U slučajevima velikog broja mrtvih tijela, kao pri masovnim prometnim nesrećama (pad aviona, potapanje broda, sudar vlakova) i prirodnim katastrofama (potresi, poplave, požari), identifikacija je znatno otežana zbog pojave dodatnog problema u obliku izmijenjenih tijela, bilo zbog utjecaja vanjskih čimbenika ili *post mortem* promjena (zapaljena, iznakažena, raskomadana i trula tijela). Najsloženiji problem identifikacije nastaje u ratnim situacijama zbog mnoštva neizbjježnih pojava, kao što su znatne migracije civilnog stanovništva i vojna pokretljivost, prekid evidencije stanovništva, istovjetna vojna odjeća i obuća, namjerno uništavanje osobnih dokumenata, veliki broj mrtvih u masovnim grobnicama, dugo razdoblje od trenutka smrti do iskapanja, nepouzdanost i neupotrebljivost identifikacijskih pokazatelja zbog truležne izmijenosti tijela, postojanje samo dijelova tijela ili samo fragmenata kostiju, te nepostojanje *pre mortem* podataka.

Smrt nije samo kraj biološkog života, već i pravni pojam, kao događaj kojim prestaje pravna sposobnost i pravni su-

bjektivitet fizičke osobe. Društvo ima poseban interes da smrt svake osobe, čiji je identitet utvrđen, upiše u Matičnu knjigu umrlih. Pravilnik o utvrđivanju uzroka smrti obvezuje na određivanje vremena i mjesta smrti, te identifikaciju i uzrok smrti, na temelju čega se ispunjavaju vitalni statistički obrasci (Prijava smrti i Potvrda o smrti), a potom obavlja upis u matičnu knjigu umrlih. U slučajevima sumnje ili očiglednosti da je smrtni slučaj proizašao iz pravno kažnjivog djela, na ovo obvezuje i Zakon o kaznenom postupku.

Situacije koje zahtijevaju sudsko-medicinsku identifikaciju su:

- masovne nesreće uslijed prirodnih katastrofa (potresi, poplave, požari)
- masovne civilne ili vojne prometne nesreće (avionske, automobiličke, brodske, željezničke)
- identifikacija ljudskih ostataka nakon jakih požara ili eksplozija
- identifikacija žrtava rata
- identifikacija pronađenih ljudskih ostataka za koje se pretpostavlja da pripadaju nestalim osobama
- kazneni predmeti gdje je smrtni ishod uzrokovani sakaćenjem ili jakim uništavanjem tijela
- slučajevi u kojima uznapredovale truležne promjene onemogućavaju utvrđivanje identiteta
- slučajevi pronalaska koštanih fragmenata.

Posebno značenje imaju ekshumacije i identifikacije, te sudsko-medicinska obrada žrtava rata. Prema Ženevskim konvencijama za zaštitu žrtava rata, pravo je obitelji saznati za sudbinu njihovih članova, kao i pravo da im se na zahtjev

vrate posmrtni ostaci umrlih osoba i njihove stvari, iz čega proizlazi da se potreba ekshumacija i identifikacija žrtava rata postavlja kao neupitna obveza zajednice.

### Postupak i metode ekshumacija

Ukoliko su otkriveni ljudski ostaci ili se planira arheološko istraživanje, potrebno je kontaktirati policiju i sudske medicinare, odgovorne za procjenu okolnosti i odlučivanje o načinu dalnjeg rada. Prethodno je potrebno prikupiti što više relevantnih podataka o događaju ili osobama čiji su ostaci, pod pretpostavkom, pronađeni. Potom se prilazi lociranju pretpostavljene grobnice, što je moguće otkriti zračnim ili satelitskim fotografiranjem, ali najvažniji izvor informacija su izjave svjedoka. Svjedoci nisu uvek precizni zbog subjektivnih ili objektivnih razloga. Preliminarnom posjetom se utvrđuje moguće postojanje grobnice, označava se mjesto kopanja i potrebno je učiniti probna sondiranja u svrhu otkrivanja postojanja ljudskih ostataka (razgradnja organske materije). U slučaju starijih ili skrivenih grobnica, upotrebljavaju se radari za otkrivanje objekata pod zemljom, detektori metala, metalne sonde i psi za pronalaženje leševa.

Ekshumacija započinje fotografiranjem područja, čišćenjem površinske vegetacije, obilježavanjem granica pretpostavljene grobnice, te pretraživanjem površine u svrhu pronaalaženja mogućih dokaza. Granice groba je najbolje odrediti kopanjem probnih jama kojima se određuje površina, ali i, što je također važno, sastav zemlje, slojevitost terena, ostaci flore i faune i arheološki uvjeti. Površinski sloj zemlje se uklanja upotrebom teške mašinerije, a nastavlja se pažljivim ručnim kopanjem i na kraju čišćenjem zidarskom lopaticom, četkicom i ostalim malim ručnim alatom do potpunog uklanjanja iznad i uokolo svakog ostatka tijela i predmeta. Važno je locirati svaki pojedinačni grob, kao i cijelo grobno polje, što se može obaviti prostoručnim crtanjem skice, ucrtavanjem unutar pravilne mreže kvadrata ili, što je najtočnije, geodetskim snimanjem u lokalnom ili državnom koordinativnom sustavu. Posmrtni ostaci se označavaju brojevima, fotografiraju, skiciraju u svom položaju, te se bilježi postmortalno stanje tijela i svega što se uz njega nalazi. Zatim se ostaci, zajedno s pripadajućim predmetima, stavlju u obilježenu vreću. Nekoliko centimetara tla koje se nalazilo ispod tijela, ispituje se zbog mogućeg pronaalaženja zaostalih zuba, sitnih kostiju ili dokaznog materijala. Ekshumirani posmrtni ostaci odhose se na sudsco-medicinsku obradu i identifikaciju, na terenu u baze ili u Zavod za sudsку medicinu.

### Postupak i metode identifikacija

Ovisno o slučaju i stanju *post mortem* promjene tijela, koriste se različite metode identifikacija ljudskih ostataka:

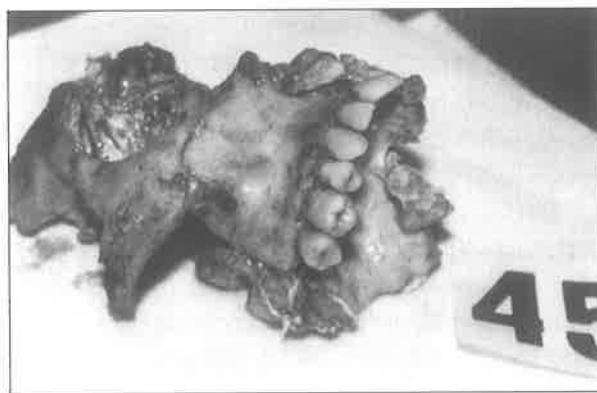
- identifikacija od strane živih osoba koje su poznavale pokojnika direktnim prepoznavanjem lica umrle osobe

- daktiloskopija
- prepoznavanje odjeće, obuće i predmeta
- usporedba zubnog statusa sa zubnim kartonom
- usporedba obduksijskih nalaza s informacijama iz medicinske dokumentacije
- antropološke metode
- radiografske metode
- superimpozicije i rekonstrukcije lica
- određivanje i usporedba genetičkih markera

Identifikacija započinje detaljnim pregledom svih predmeta nađenih uz tijelo i na njemu i upisivanjem u predviđene obrasce. Predmeti, osobni dokumenti i vijedne stvari se obilježavaju, fotografiraju i pakiraju u prozirne najlon vrećice radi arhiviranja, kasnijeg izlaganja i moguće predaje rodbini. Postupak se nastavlja vanjskim i unutrašnjim pregledom i opisom tijela ili posmrtnih ostataka. U slučaju svježih leševa, opisuje ih se na uobičajeni sudsco-medicinski i kriminalistički način. Posebnu pažnju je potrebno posvetiti tjelesnim osobitostima, kao što su madeži, tetovaže, bradavice, pigmentacije kože, ožiljci, prijelomi, anomalije, profesionalna obilježja i trajne promjene na unutarnjim organima. Najsigurnija metoda identifikacije je daktiloskopija - otisci papilarnih linija, ali je neupotrebljiva kod starih leševa zbog truležnih promjena i propadanja papilarnih linija. U analizi skeletnih ostataka se koriste antropološke metode i mjerena na prethodno očišćenim i opranim kostima. Prvo se određuje radi li se o ljudskim kostima, što ponekad predstavlja problem i najvećim stručnjacima, posebno ako se radi o sitnim koštanim fragmentima i kada je izgled kostiju promijenjen uslijed patoloških promjena, kirurških zahvata ili meteoroloških prilika. Dio postupka je i određivanje spola.

Identifikacija nije sporna u slučaju kada postoji cijeli kostur, ali problemi nastaju kada

je potrebno odrediti spol na temelju nekoliko pronađenih kostiju ili njihovih fragmenata. Određivanje spola kod djece se vrši uspoređivanjem stupnja kalcifikacije zubi sa stupnjem zrelosti skeleta. Kosti muškarca su veće, deblje i masivnije, a najpouzdanoje informacije se dobivaju pregledom zdjelice, lubanje i dugih kostiju, posebno natkoljenične kosti. Slijedi određivanje starosne dobi koje je lakše i preciznije što je osoba mlada. Kod identifikacije mlađih osoba se koriste promjene koje prate rast i razvoj - kalcifikacija i izbijanje zubi, centri okoštavanja, sraštavanje dijelova kostiju i duljina dugih kostiju, dok se kod odraslih koriste analize morfoloških i mikroskopskih promjena na kostima, prvenstveno na spojnoj plohi stidnih kostiju, bočnoj plohi zdjelice, hvatištima rebara za sternum i lubanjskim šavovima. Koriste se također radiološke i dentalne tehnike. Zaživotna visina se određuje mjeranjem duljine kostiju uz korištenje regresivnih formula, a u slučaju postojanja samo dijelova kosti, upotrebljava se metoda mjerena fragmenata. Antropološke analize i koštani pokazatelji zaživotnih trauma i patoloških stanja također su



Slika 1. Uzorak za DNA analizu: dio lubanje sa zubima. Ekshumacija žrtava rata, Kupres 1993. godine

od važnosti u identifikaciji. Korištenje sofisticiranih, skupljih i dugotrajnijih metoda moguće je kada je na raspolaganju čitava lubanja i odgovarajuća zaživotna fotografija, kada je primjenom videosuperimpozicije omogućeno preklapanje fotografije i lubanje uz pomoć računala i videokamere, te usporedba svih anatomske i morfološke značajki kostiju. Usporedba zaživotnih s poslijesmrtnim dentalnim karakteristikama (oblik, veličina, pozicija i abnormalnosti zuba, stanja parodonta, obilježja koštanih struktura i oralne sluznice, protetski radovi) pokazala se nezamjenjivom metodom u određivanju identiteta. Važna je kvaliteta prijesmrtnih zubnih kartona jer potpuniji i precizniji omogućavaju brže i lakše prepoznavanje. DNA analiza predstavlja najtočniju metodu identifikacije, a sam njezin postupak je izuzetno složen i čini posebnu tematiku. U slučaju DNA analize samo se maleni dio populacije može slučajno podudarati.

Osnova je usporedba genomske ili mitohondrijske DNA izolirane iz posmrtnih ostataka tj. iz kosti ili zubi (Slike 1 i 2) s DNA izoliranom iz krvi moguće rodbine. Metoda je ograničena zbog jake truležne degradacije i kontaminacije DNA molekule. Uzorke iz kojih će se izolirati DNA je potrebno pohraniti u zamrzivač do trenutka izvedbe DNA analize. Izolaciji prethodi čišćenje, pranje i sušenje uzorka, nakon čega se dio uzorka izuzeće odgovarajućim izrezivanjem. Podatke dobivene sudsko-medicinskom analizom potrebno je zabilježiti u posebne formulare i zatim usporediti s podacima o nestalim osobama prikupljenih od strane za to kompetentnih osoba (rodbine, poznanika, svjedoka). U Francuskoj je 1989. godine utvrđen novi oblik protokola INTERPOL-DVI (*Disaster-Victim-Identification*)-FORM, koji je omogućio bolju i bržu međudržavnu i međudisciplinarnu suradnju u identifikaciji. Korišten je i u identifikaciji ratnih žrtava u Republici Hrvatskoj. Identifikacija može biti otežana zbog nepodudarnosti s podacima prikupljenih od osoba povezanih sa žrtvom. Dodatni problemi javljaju se u slučaju lažno pozitivne identifikacije od strane obitelji zbog želje za pronalaskom posmrtnih ostataka člana obitelji i u slučaju lažno negativne identifikacije zbog neprihvaćanja smrti. Također je moguća i namjerna pogreška u identifikaciji. Identifikacije ljudskih ostataka su uglavnom vrlo dugotrajni i složeni procesi, a strogo pridržavanje svih faza i određenog redosleda u procesu ekshumacije i identifikacije omogućava uspješnije, lakše i brže prepoznavanje. U slučajevima kada identitet nije potvrđen upotrebo standarnih metoda, poseže se za složenim postupkom DNA analize.

### Primjena DNA analize u identifikaciji žrtve putem roditelja ili djece

Razvoj novih tehnologija analize genomske i mitohondrijske DNA pružio je forenzičarima novo oruđe za identifikaciju. Originalnost i vrijednost metode analize DNA usporeduje se s analizom otiska prsta ("finger-printing"), jer je i ovo jedin-

stveni, genetički otisak specifičan za svakoga od nas. Osnovna je funkcija svih forenzičkih testova, bez obzira radi li se o dokazivanju roditeljstva ili o identifikaciji, isključiti što je moguće veći broj pojedinaca. DNA molekula se izolira iz koštanih ili zubnih ostataka, pri čemu je pravilna metoda izolacije preduvjet za uspješnu identifikaciju. Analiza mitohondrijske DNA (mtDNA) koristi se u analizi materijala koji ne sadrži dostatnu jezgrinu DNA i najbolji je izbor u slučaju visoko degradiranog materijala. U slučaju korištenja izmijenjenih standarnih postupaka izolacije DNA, te pročišćavanja izolirane DNA (*repurification*) sa NaOH, uspješnost identifikacije putem genomske DNA raste i do 85%. Analize zubnih ostataka u usporedbi s rezultatima analiza dugačkih kostiju daju bolje rezultate u 20-30% svih analiziranih slučajeva.

U identifikaciji žrtve putem roditelja, umjesto utvrđivanja učestalosti jednog obvezatnog alela u populaciji mogućih očeva i majki (RMNE-random man not excluded ili neisključenost slučajne osobe u općoj populaciji, te RFNE-random female not excluded ili neisključenost sručajno odabrane žene iz opće populacije) kao kod dokazivanja roditeljstva, neophodno je odrediti učestalost jednog zajedničkog alela kod svakog od ro-

ditelja. U praksi se prikupe RMNE/RFNE za svaki pojedini alel, te se pomnoži s određenim RMNE za prvi alel pomnoženim s RFNE za drugi alel kako bi se dobila vjerojatnost za dva roditelja koji imaju te iste alele. Ova se metoda naziva neisključenost slučajno odabranih osoba iz opće populacije (RPNE-random parents not excluded). Množenjem svih RPNE neke osobe stvaraju se kombinirani RPNE ili CRPNE (*combined parents not excluded*) generirajući tako relativnu učestalost ili postotak populacije mogućih roditelja.

Identifikacija žrtve putem djece izvodi se po istom postupku metode neisključivanja, a mnogo je pogodnije kada je uz djecu dostupan i supružnik osobe koja se identificira. U tablici je prikazana usporedba rezultata utvrđivanja roditeljstva i forenzičke identifikacije na lokusu D13S1358.

	RMNE* (očinstvo)	Forenzički dokazi
Alel	15; 17	15; 17
Učestalost	(p+q) <sup>2</sup> +2(p+q)(1-p-q)	2pq
	0.6751	0.0909

\*RMNE (neisključenost slučajno odabrane osobe iz opće populacije) = udjel populacije koja nosi sve obvezatne alele, te stoga ne može biti isključena; p = učestalost alela 15; q = učestalost alela 17.

Individualizacija označava stajalište u kojem genetička informacija predstavlja određenu osobu, a u identifikaciji se iskazuje putem otiska prstiju, gdje se točno može tvrditi da pojedini otisak pripada nekoj osobi. Čak ni jednojajčani blizanci, koji nose istu gensku informaciju, nemaju identične otiske prstiju. Moguće je postići bilo koji stupanj individuali-



Slika 2. Uzorak za DNA analizu: zubi.  
Ekshumacija žrtava rata, 1999. godine.

zacijske. Stručnjaci FBI-a nedavno su naglasili da se može tvrditi da biološki dokaz potječe od određenog pojedinca ili jednojajčanog blizanca ako stupanj individualizacije

prelazi 360 milijardi. Stupanj individualizacije potreban za identifikaciju, ukoliko ne postoji međunarodna suglasnost, mora se odrediti na lokalnoj razini.

#### LITERATURA:

1. Dragan Primorac i suradnici: *Primjena analize DNA u sudskoj medicini i pravosuđu*; NZMH, Zagreb, 2001.  
2. Antonio Alonso, Šimun Andelinović, Pablo Martin, Davorka Sutlović, Ivana Erceg, Edwin Huffine, Lourdes Fernandez de Simon, Cristina Albarran, Marija Definis-Gojanović,

- Amparo Fernandez-Rodriguez, Pilar Garcia, Irena Drmić, Boja Režić, Sendi Kuret, Manuel Sancho, Dragan Primorac (2001); *DNA Typing from Skeletal Remains*. Croat Med J:42:260-266  
3. Promega; *Profiles in DNA*/July 2001

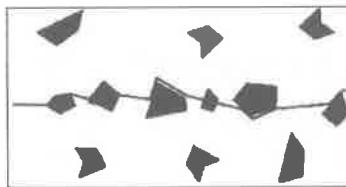
# OSNOVNI MEHANIZMI POJAČANJA DENTALNE KERAMIKE

Ivan Galić, dr. stom.

Proučavajući fizikalna svojstva dentalne keramike, znanstvenici su pronašli i usavršili veći broj mehanizama poboljšanja potrebnih svojstava i umanjenja negativnih.

#### Pojačanje preusmjeravanjem napuknuća

Ovo je najpovoljniji postupak za dentalnu keramiku, gdje se radi o utjecaju uloženih kristala leucita. Naime, uloženi kristali trebaju preusmjeriti napuknuća i tako ga produžiti. Učinak pojačanja se sastoji u otežanju napredovanja napuknuća ako mu se kristali nađu na putu širenja (1). Naprezanja u okolini kristala neadekvatnog oblika i veličine mogu uzrokovati slaba mjesta gdje može doći do napuknuća ili loma keramike. U matrici kad nastane pukotina dolazi do napredovanja i širenja napuknuća. Za lomnu žilavost je nevažno, da li npr. kod metal-keramike nastaju leucitni kristali tijekom sinteriranja ili naknadno u procesu keramiziranja. Postignuta lomna žilavost je u oba slučaja slična (Sl.1).

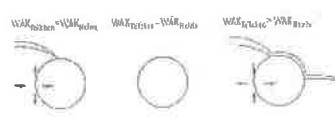


Slika 1.  
Leucitima pojačana keramika.  
Uloženi kristali preusmjeravaju  
napuknuće.

raspoloviti česticu, ostaje visjeti ili će u dalnjem koraku obuhvatiti česticu. Ove mogućnosti otežavaju napredovanje napuknuća a time raste lomna žilavost.

**TIP II** - Ako je termičko naprezanje čestica veće od onog matrice, tada matrica slabije kontrahira nego čestice, a napuknuće će zbog djelovanja radijalnog vlačnog i tangencionalnog tlačnog naprezanja teći u matrici u blizini čestica, uzduž graničnih površina između čestica i matrice i eventualno će kod slijedeće čestice skrenuti. Proces koji zaustavlja

napuknuće sastoji se u potrebi stvaranja što veće površine napuknuća ali istodobno i u njegovu rasipanju, koje je potrebno da ponovno dođe do oslobađanja napuknuća od granične površine iza čestice (Sl.2).

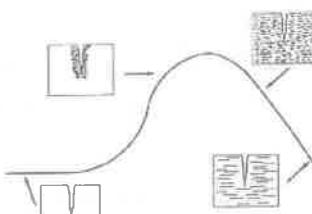


Slika 2.  
Misfit naprezanje između uloženih  
prikladnih čestica i staklene matrice

**TIP III** - Ako su TKR oba dijela ista, ne nastaje termičko misfit naprezanje. Granična površina može preusmjeriti napuknuće ako čestice i matrica imaju različite ME. Metoda kojom se pokušava postići određena plastičnost keramike, analogno metalu, sastoji se u proizvodnji mikronapuknuća u keramici. Ulaganjem prikladnih čestica može se izazvati takvo unutarnje naprezanje između čestica i

matrice (Sl.3) koje djeluje kao polje naprezanja od ruba napuknuća na graničnoj površini između uloženih čestica i matrice ili mikronapuknuća, koja su duboka oko 10-100 μm, djeluju samo u matrici. Ova napuknuća umanjuju

efektivni modul elastičnosti keramike i tako povećavaju podatnost (mekocu) u području ruba napuknuća. Dakle, keramika poprima lokalno metalu slična plastična svojstva s posljedicom boljeg zaobljenja napuknuća. Kritično je ako nastane polje naprezanja koje uzrokuje adekvatnu dubinu napuknuća. Dok mikronapuknuća ostvaruju visoku lomnu žilavost, preduroke pukotine bi mogle jako smanjiti lomnu žilavost. To je inače pitanje optimizira-



Slika 3.  
Mikronapuknuća veličine  
10-100 μm umanjuju efektivni  
modul elastičnosti keramike.