

ASIAN ARCHIVES OF PATHOLOGY

THE OFFICIAL JOURNAL OF THE ROYAL COLLEGE OF PATHOLOGISTS OF THAILAND



Volume 7
Number 3
July – September 2025

INDEX  COPENICUS
I N T E R N A T I O N A L

Print ISSN: 1905-9183
Online ISSN: 2673-0499

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep
MD, FRCPath (Thailand), MSc, PhD
Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand

Associate Editors

- Associate Professor Dr Mongkol Kunakorn
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- Associate Professor Dr Theerapong Krajaejun
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- Assistant Professor Dr Arnon Jumlongkul
MD, FRCPath (Thailand)
Mae Fah Luang University, Chiang Rai, Thailand
- Assistant Professor Dr Thirayost Nimmanon
MD, FRCPath (Thailand), MRes, PhD
Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand
- Assistant Professor Dr Wisarn Worasuwannarak
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- Dr Anirut Worawat
MD, FRCPath (Thailand)
Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- Dr Panuwat Chutivongse
MD, FRCPath (Thailand)
Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Editorial Consultant

Professor Dr Vorachai Sirikulchayanonta
MD, FRCPath (Thailand)
Rangsit University, Pathumtani, Thailand

ABOUT THE JOURNAL

Aims and Scope

Asian Archives of Pathology (AAP) is an open access, peer-reviewed journal. The journal was first published in 2002 under the Thai name “วารสารราชวิทยาลัยพยาธิแห่งประเทศไทย” and English name “Journal of the Royal College of Pathologists of Thailand”. The journal is a publication for workers in all disciplines of pathology and forensic medicine. In the first 3 years (volumes), the journal was published every 4 months. Until 2005, the journal has changed its name to be “Asian Archives of Pathology: The Official Journal of the Royal College of Pathologists of Thailand”, published quarterly to expand the collaboration among people in the fields of pathology and forensic medicine in the Asia-Pacific regions and the Western countries.

The full articles of the journal are appeared in either Thai or English. However, the abstracts of all Thai articles are published in both Thai and English languages. The journal features letters to the editor, original articles, review articles, case reports, case illustrations, and technical notes. Diagnostic and research areas covered consist of (1) **Anatomical Pathology** (including cellular pathology, cytopathology, haematopathology, histopathology, immunopathology, and surgical pathology); (2) **Clinical Pathology (Laboratory Medicine)** [including blood banking and transfusion medicine, clinical chemistry (chemical pathology or clinical biochemistry), clinical immunology, clinical microbiology, clinical toxicology, cytogenetics, parasitology, and point-of-care testing]; (3) **Forensic Medicine (Legal Medicine or Medical Jurisprudence)** (including forensic science and forensic pathology); (4) **Molecular Medicine** (including molecular genetics, molecular oncology, and molecular pathology); (5) **Pathobiology**; and (6) **Pathophysiology**.

All issues of our journal have been printed in hard copy since the beginning. Around the late 2014, we developed our website (www.asianarchpath.com) in order to increase our visibility. We would like to acknowledge that our journal has been sponsored by the Royal College of Pathologists of Thailand. We have the policy to disseminate the verified scientific knowledge to the public on a non-profit basis. Hence, we have not charged the authors whose manuscripts have been submitted or accepted for publication in our journal.

On the other hand, if any authors request a printed copy of the journal issue containing the articles, each of the copied journals costs 450 bahts for Thai authors and 30 United States dollars (USD) for international authors.

Publication Frequency

Four issues per year

Disclaimer

The Royal College of Pathologists of Thailand and Editorial Board cannot be held responsible for errors or any consequences arising from the use of information contained in Asian Archives of Pathology. It should also be noted that the views and opinions expressed in this journal do not necessarily reflect those of The Royal College of Pathologists of Thailand and Editorial Board.

MANUSCRIPT REVIEWERS

- **Professor Dr Aileen Wee**
MBBS, FRCPath, FRCPA
National University Hospital, Singapore
- **Professor Dr Eiichi Morii**
MD, PhD
Osaka University Hospital, Osaka, Japan
- **Professor Dr Jasvir Khurana**
MBBS, FCAP
Temple University, Lewis Katz School of Medicine, Pennsylvania, The United States of America
- **Professor Dr Paisit Pauksakon**
MD, FRCPath (Thailand), FCAP
Vanderbilt University School of Medicine, Tennessee, The United States of America
- **Professor Dr Nidhi Chongchitnant**
MD, FRCPath (Thailand)
Bangkok Hospital, Bangkok, Thailand
- **Professor Dr Vorachai Sirikulchayanonta**
MD, FRCPath (Thailand)
Rangsit University, Pathumtani, Thailand
- **Professor Dr Oytip Na-thalang**
PhD
Thammasat University Rangsit Campus, Pathumtani, Thailand
- **Associate Professor Dr Phaibul Punyarit**
MD, FCAP, FRCPath (Thailand)
Bumrungrad International Hospital, Bangkok, Thailand
- **Associate Professor Dr Mongkon Charoenpitakchai**
MD, FRCPath (Thailand)
Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand
- **Assistant Professor Dr Yingluck Visessiri**
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- **Assistant Professor Dr Pasra Arnutti**
PhD
Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand

- **Dr Jutatip Kintarak**
MD, FRCPath (Thailand)
Thammasat University Rangsit Campus, Pathumtani, Thailand
- **Dr Kantang Satayasoontorn**
MD, FRCPath (Thailand)
Army Institute of Pathology, Bangkok, Thailand
- **Dr Sivinee Charoenthammaraksa**
MD, FRCPath (Thailand)
Bumrungrad International Hospital, Bangkok, Thailand
- **Dr Sorranart Muangsomboon**
MD, FRCPath (Thailand)
Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

CONTENTS

About the journal	i
Aims and scope	i
Publication frequency	ii
Disclaimer	ii
Manuscript reviewers	iii
Original Article	2
■ Age estimation from trabecular density of proximal femur using 2	
Hounsfield Unit Values from Computerized Tomography: A postmortem	
study in Thai population	
Inthira Muangnua, Ubolwan Chansingthong, Koravik Meesilpavikkai and	
Pongpon Traithepchanapai	
■ Preliminary Investigation of Mitragynine Storage on 13	
WhatmanTMFTA card	
Nat Tansrisawad, Chitipat Luangviriyayarn and Apinya Tubtimrattana	
■ อุบัติการณ์และกลไกการฉีกขาดของกล้ามเนื้อในการตายเกี่ยวข้องกับความเร็ว..... 19	
กฤตยชญ์ จันทร์หอม, นิตกร โพธิ์สวาณิชย์	
Appendix 1: Information for authors	29
Categories of manuscripts	29
Organisation of manuscripts	31
Proofreading	38
Revised manuscripts	38
Appendix 2: Benefits of publishing with Asian Archives of Pathology	39
Appendix 3: Submission of the manuscripts	40
Appendix 4: Contact the journal	41
Appendix 5: Support the journal	42

ORIGINAL ARTICLE

Age estimation from trabecular density of proximal femur using Hounsfield Unit Values from Computerized Tomography: A postmortem study in Thai population

Inthira Muangnua¹, Ubolwan Chansingthong², Koravik Meesilpavikkai¹
and Pongpon Traithepchanapai^{1*}

1 Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

2 Department of Pathology and Forensic Medicine, Chulabhorn Hospital, Chulabhorn Royal Academy

* Correspondence to: Asst. Prof. Capt. Dr. Pongpon Traithepchanapai, Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, 1873, Rama 4 Road, Pathum Wan, Bangkok, Thailand 10330. Telephone: +66852198666 Email: pongpon.t@chula.ac.th

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

Submitted: 15 June 2023

Accepted: 16 June 2023

Published: 1 September 2025

Abstract

Background: The estimation of the age at death for unidentified remains is part of the biological profile used to narrow the list of potential missing persons before using positive identification methods.

Objective: This study aimed to create a linear regression equation for age estimation from femoral Hounsfield Unit Values using Computed tomography scans of the Thai deceased.

Materials and Methods: 252 abdominopelvic scans of male and female Thai deceased of known age ranging from 20 to 105 years old in the Department of Forensic Medicine, Chulalongkorn University were retrospectively collected. 252 samples of males and females were randomized and subdivided into six subgroups of a decade year of age. The trabecular density of the femur was determined by applying a threshold of -100 to 500 Hounsfield Units to subtract all the cortical bone. The Hounsfield Unit of the region of interest was recorded.

Results: The three resultant age estimation equations for male, female, and unknown sex deceased had R^2 of 0.623 to 0.658 and a standard error of 10.719 to 11.941 years.

Conclusions: This study provides a reliable new equation to estimate age among the Thai population.

Keywords: Age estimation, Forensic anthropology, Hounsfield unit, Computed tomography, Proximal femur

Introduction

The purpose of forensic anthropology is to aid in determining the cause of death, as well as identifying the unknown individual by analyzing biological characteristics, including ancestry, sex, age, and stature before using positive identification methods. However, the estimation of biological characteristics is population specific. And the gold standard for estimating the adult age has not yet been established.^(1, 2, 3)

In medical and legal proceedings, biological profiles of individuals are regularly derived from anthropological examination of defleshed bones. However, the process of removing soft tissue from bone is invasive and can potentially damage underlying bone tissue as well as lead to the loss of key evidence.⁽⁴⁾

For the purposes of age estimation, forensic anthropologists make use of various body components, including the skull, pelvis, ribs, and vertebrae, as well as long bones, such as the femur.^(15, 16, 19, 23, 24, 26, 27) As the longest, heaviest, and strongest bone in the body, the femur is likely to be preserved in mass casualty incidents, and identifiable by its distinctive shape. Hence, it is obvious when discovered in these circumstances, whereas the skull and other parts are sometimes destroyed or remain undiscovered.⁽¹⁾

Multiple detector computed tomography (MDCT) offers the possibility to measure bones in any plane, without the necessity of performing destructive procedures. Documentation of the bones is collected permanently and created as a virtual copy which may be accessed at any time. Considering that the CT scanner is accessible in Thailand and that it is a cost-effective device, the use of CT scanners as a method to investigate unknown individuals and disaster victims is reasonable.^(5, 7, 8)

In 2019, Ford et al. studied age and sex estimation, CT scans of known age adults and the resulting 3D models were used to measure the volume of the proximal femur and its Hounsfield Unit. The regression equations developed for estimating age and sex were created.⁽⁶⁾ The study by Chansingthong et al. aimed to validate the age estimation equation of Ford (2019) in the Thai population to test the accuracy of each method when applied to a Thai sample and found that the equation according to Ford (2019) cannot be used in Thai age prediction, confirming inter-population variation.⁽³⁰⁾

Literature Review

The estimation of the age at death for unidentified skeletal remains is part of the biological profile used to narrow the list of potential missing persons. For presumptive identifications, based on the basis of the consistency between the reported and estimated ages, it would be possible to determine whether the individual should be considered for further consideration or excluded.⁽³⁾

The population variation should be considered when estimating age. Many factors contribute to bone remodeling and growth, including environmental factors, a function of genetics, nutrition, socioeconomic status, and activity level. A comprehensive understanding of the nature, sequence, and timing of skeletal changes across the lifespan is a prerequisite to the estimation of age using the skeleton, as well as understanding the relationship between these processes and chronological measures. Therefore, skeletal age is determined by correlating biological age with chronological age (the length of time a person has been alive).^(1, 3, 9, 10, 18)

Since bone remodeling and growth are affected by factors such as sex, genetics, and environmental factors, growth trajectories differ across populations. Any information regarding ancestry or sex should be considered when estimating age. Due to the variation in populations, A. Schmitt raised the issue of reliability and validity when applying Western age estimation methods to Asian populations.⁽¹⁰⁾ Furthermore, the study by Muñoz et al. and Ruengdit et al. confirmed the existence of interpopulation variation.^(8, 9)

In Thailand, as a result of the country's lack of expertise in forensic anthropology, studies on age estimation are limited. And the specific population data for establishing biological profiles in Thailand is still insufficient. There were several studies that examined the morphology of bones for Thai adult age estimation using the cranial suture closure, the auricular surface of the ilium, the pubic symphysis, and the maxillary obliteration.⁽¹⁴⁾ Anyway, it is essential to note that morphological studies are subjective when different observers evaluate the remains. This leads to the development of a new formula for estimating the age at death using a more objective approach by alternative equipment such as CTs and MRIs.⁽²⁾

CT is based on the same principles as X-rays. The CT beam consists of X-rays that are transmitted to the body and absorbed at different rates based on the density of the material through which they pass. Densities are expressed as grayscale images using the Hounsfield scale.⁽³⁾ ⁸⁾ Hounsfield Units(HU) also known as CT numbers, is a measurement based on the baseline linear attenuation coefficient of an X-ray beam, in which distilled water at standard pressure and temperature (STP 0 degrees Celsius and 105 pascals) is defined as zero HU while air at STP is defined as -1000 HU. The other CT values are calculated using the equation: $HU = 1000 \times (\mu_{\text{tissue}} - \mu_{\text{water}}) / (\mu_{\text{water}} - \mu_{\text{air}})$ in which μ is the CT linear attenuation coefficient.⁽⁸⁾

In addition to its non-destructive nature, CT scanning can preserve the remains from further damage and assist in reducing the process of bone preparation and widely used in the forensic identification process to compare antemortem information with postmortem data, to reconstruct

biological profiles, and to evaluate lesions and disease, the macroscopic bone surface as well as subsurface structures, such as trabecular bone, and facilitate morphometric assessment.^(3, 17)

The decreasing density of bone with increasing age can be visualized using X-rays, as well as the loss of interconnection between trabecular structures.⁽¹⁶⁾ However, there are factors affecting HU value including freezing and thawed specimens, dry bone, and higher BMI (Body mass index).^(20, 21, 22)

CT-based age estimation studies have been performed in many countries using various bone structures, such as the sternum, clavicle, vertebrae, pubis, coxal bone, acetabulum, and femur. However, only a few studies have been published on the Thai population.^(6, 23, 25, 27, 28, 29) The present study aimed to create a linear regression equation for age estimation based on the Thai population.

Materials and Methods

From a total of 1126 cases, 252 abdominopelvic scans of male and female Thai deceased in the Department of Forensic Medicine, Chulalongkorn University, from February 2021 to September 2022 were retrospectively collected under approval from the Institutional Review Board (IRB) of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University (IRB no. 0533/65).

All scans were captured using GE Revolution Evo multi-detector CT scanner at 120 KV, an automatic tube current (mA) variable with subject size, with a slice thickness of 1.25 mm. The inclusion criteria were male and female Thai deceased over 20 years old. Any scans with Body Mass Index (BMI) ≥ 30 kg/m² and factors that prevented the proper collection of data such as artificial hip implants, fracture of the femoral neck, and other osteopathology of the femur were excluded.

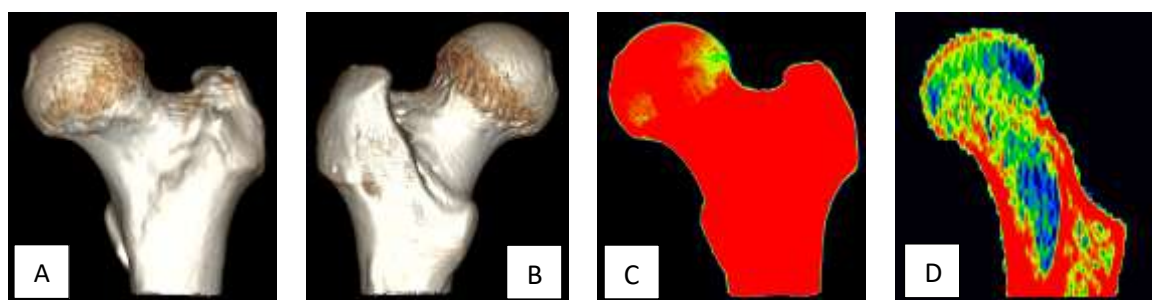
252 samples of males and females were randomized and subdivided into 6 subgroups of a decade year of age based on their chronological age as shown in Table 1.

AW Server 3.2 program was used to analyze CT images and create a 3D reconstruction model. The femoral heads were oriented and segmented manually from the acetabulum. The 3D models of the proximal femur were orientated along the long axis of the femur, then cut 90 degrees to the coronal view under the anatomical landmark of the lesser trochanter in order to maintain the reproducibility of the ROI (region of interest). Since this study uses HU as a representation of the trabecular density as it has been shown that trabecular density decreases with advancing age.

The trabecular density of the femur was determined by applying a threshold of -100 to 500 HU to subtract all the cortical bone. The HU of the ROI was recorded. A diagram of the modeling process was provided in Figure 1.

Table 1 Sample age and sex distribution.

Decade	Female (N = 98)		Male (N = 154)	
	N	Mean±SD	N	Mean±SD
20	9	26.11±2.6	33	23.64±2.4
30	17	34.88±2.7	25	34.56±3.2
40	16	44.63±3.6	26	44.85±2.9
50	21	54.33±2.8	21	55.24±3.0
60	14	63.29±2.6	28	64.68±3.0
70+	21	80.52±7.3	21	80.19±8.4
Total	98	53.67±18.2	154	48.47±19.4

**Figure 1** (A) Cut 3D model of the proximal femur, anterior view.

(B) Cut 3D model of the proximal femur, posterior view.

(C) Resultant colored 3D model of the proximal femur, anterior view.

(D) 2D CT image showing cortical (red) and trabecular (green-blue) bone delineation, sagittal plane.

Statistical analysis

Data collection and modeling processes were carried out by two different collectors (forensic anthropologist and forensic medicine resident). Intraclass correlation analysis (ICC) was used to test for intra- and inter-rater agreement. A pair-t-test was performed on data collected from both sides of the femur in the first 30 cases to assess the degree of symmetry. If there was no significant difference, only the left-side femurs were measured in the next 222 cases. As the left side is non-dominant, it is less physically active, subject to lower stress and prone to fewer degenerative processes.⁽³⁾

An independent t-test was used to determine whether there was a significant difference between males and females. The linear regression analysis was performed on both sex separately as well as the combined population.

All statistics were run on SPSS 28 with a p-value of 0.05 being considered significant.

Results

The intraclass correlation (ICC) results for all measurements showed an excellent level of repeatability, with an intra-rater agreement of 0.997. Also, the inter-rater agreement was excellent, with all measurements having an ICC \geq 0.989. Table 2 displays the descriptive statistics of HU for males and females in each age group.

Table 2 Descriptive statistics of HU in each age group.

Decade	Female			Male		
	N	Mean	SD	N	Mean	SD
20	9	232.86	18.06	33	235.76	19.10
30	17	218.03	21.18	25	221.12	15.34
40	16	204.99	19.27	26	208.19	20.90
50	21	184.64	21.32	21	196.40	23.25
60	14	176.64	24.27	28	183.09	20.76
70+	21	143.89	25.77	21	161.99	27.10
Total	98	188.30	36.09	154	203.72	32.03

The pair-t-test showed no statistical significance for the left and right femur with respect to trabecular bone density (left 217.83 ± 24.64 HU, right 218.99 ± 21.95 HU with $p = 0.516$). While the independent t-test showed statistical significance between males and females with $p = 0.001$, indicating that there was a significant difference between both sex.

Trabecular bone density was used to create three linear models for age estimation: for male, female, and unknown sex groups. All three equations used the left trabecular bone density as a predictor with a Pearson correlation coefficient between age and HU of -0.798. The linear regression models for age estimation are shown in Table 3. The scatterplots for these regression models are displayed in Figure 2 and Figure 3.

Table 3 Linear regression models for age estimation

	Equation	R	R ²	SD
Male	Age = $146 - (0.48 \times \text{HU})$	0.789	0.623	11.941
Female	Age = $131 - (0.41 \times \text{HU})$	0.811	0.658	10.719
Unknown sex	Age = $138 - (0.44 \times \text{HU})$	0.798	0.637	11.521

*HU refers to Hounsfield Units of left trabecular bone density.

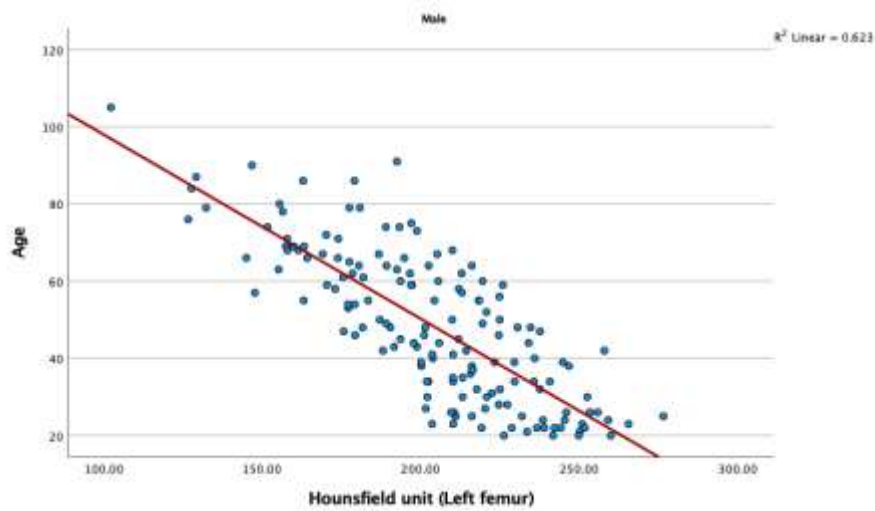
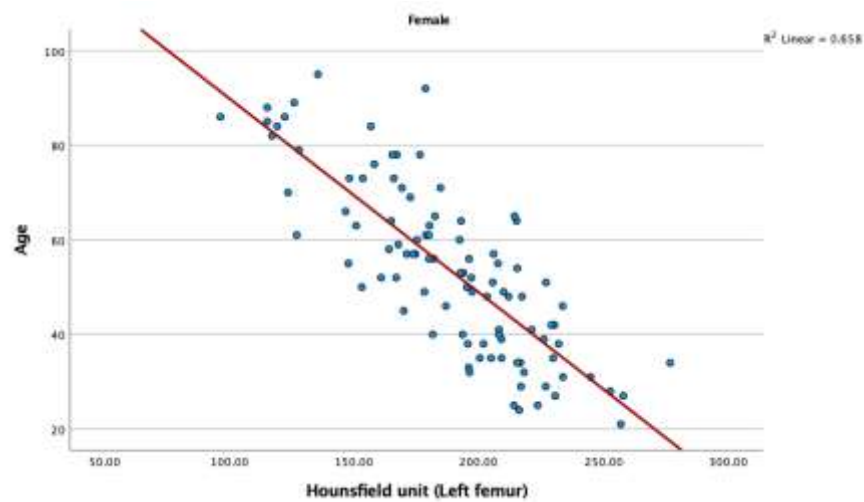


Figure 2: Male linear regression model

(A)



(B)

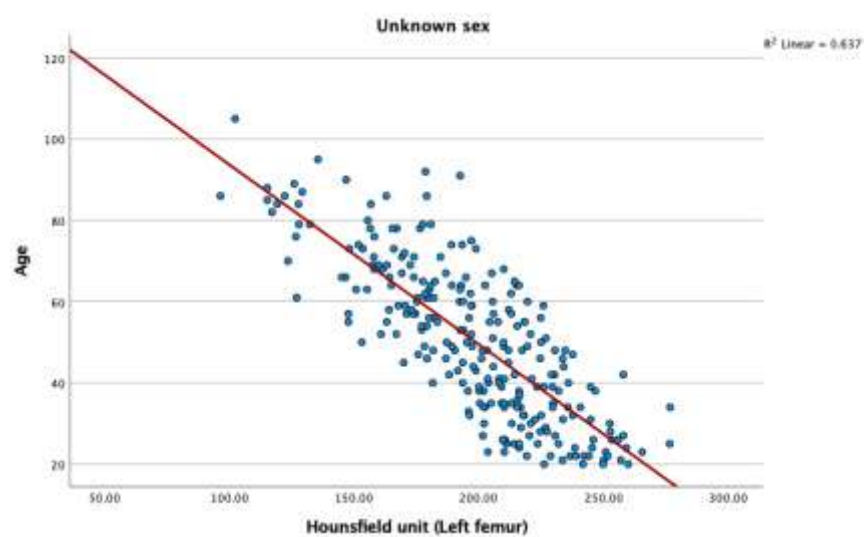


Figure 3: (A) Female linear regression model, (B) Unknown sex linear regression model

Discussion

The study by Chansingthong et al. found that the age equation according to Ford et al. which was studied in the United States of America could not be used in age prediction among the Thai population and suggested that inter-population variation did exist.⁽³⁰⁾ Several studies in many countries have reported on CT-based age estimation using various bone structures.^(6, 23, 25, 27, 28, 29) However, the method using the femur or other bones for age estimation in adult by using CT is not yet established. Therefore, the result of this study could not be compared with other previous studies in Thailand.

In the present study, the resultant realistic 3D images are reflected in the excellent degree of agreement observed in the intra-observer and inter-observer reproducibility. It may result from using the lesser trochanter as a cut point.

The current study introduces a new equation for age estimation based on the Thai population. This can be useful in narrowing down the age of males and females as well as unidentified individuals with a standard deviation of ± 10 to 11 years depending on the linear regression model. As shown in Table 3, the male equation has an R^2 of 0.623 and a standard deviation of ± 11.941 . The female equation has R^2 0.658 and a standard deviation of ± 10.719 . If it is unable to identify the sex of the unknown individuals, the authors suggest using the equation for the unknown sex group with R^2 0.637 and a standard deviation of ± 11.521 .

As compared to the previous study by Ford et al., which examined the American population and developed three age estimation equations with R^2 ranging from 0.412 to 0.512.⁽⁶⁾ In the present study, the new equations based on the Thai population data appear to be more accurate and have a greater R^2 of 0.623 to 0.637. However, it should be noted that the samples in this study are all fleshed deceased. The study by Colman et al. examined the interchangeability of virtual and dry bone measurements on CT scans. In this context, 'clinical' models referred to fully intact cadavers, while 'dry' models referred to their corresponding dry bone counterparts. The authors concluded that the accuracies of ROIs varied greatly depending on the CT model and were greater for 'clinical' CT models than for 'dry' CT models.⁽²¹⁾ As a result of this, the equations provided in this study should not be used in estimating the age of unfleshed or dry remains because any measurement of HU would be artificially lower in dry bone since there would be an absence of HU values. In the case of a high-grade decay of the proximal femur, this method should not be used since it requires an intact proximal femur to provide adequate information.

Since environmental factors, genetic factors, nutrition, socioeconomic status, and physical activity all play a role in bone remodeling and growth. Any data regarded medication, health status, and any intrinsic and extrinsic factors should be considered when applying the method for age estimation.

Conclusion

The equations provided in this study should be used only in fleshed remains. This study involves developing equations for the purpose of estimating age. Further studies concerning age estimation may contribute to validating the validity of these equations. Also, the possibility of establishing age estimation in a high-grade decay should be taken into consideration.

References

- (1). White TD, Folkens PA. The human bone manual. San Diego: CA:Academic Press; 2005.
- (2). Iscan MY, Steyn M. The human skeleton in forensic medicine. 3rd ed. Illinois: Charles C Thomas Publisher; 2013.
- (3). Christensen AM, Passalacqua NV, Bartelink EJ. Forensic anthropology: Current methods and practice. San Diego: CA: Academic Press; 2014.
- (4). Brough AL, Ruttly GN, Black S, et al. Post-mortem computed tomography and 3D imaging: Anthropological applications for juvenile remains. Forensic Science, Medicine, and Pathology. 2012; 8(3): 270–9. doi:10.1007/s12024-012-9344-z
- (5). Ruttly GN, Morgan B, O'Donnell CJ, et al. Letters to the editor. Journal of Trauma: Injury, Infection and Critical Care; Critical Care. 2008; 65(2): 493–4. doi:10.1097/ta.0b013e31817de420
- (6). Ford JM, Kumm TR, Decker SJ. An Analysis of Hounsfield Unit Values and Volumetrics from Computerized Tomography of the Proximal Femur for Sex and Age Estimation. J Forensic Sci. 2020; 65(2): 591-6.
- (7). INTERPOL Disaster Victim Identification Guide [Internet]. Interpol. 2018 [cited 8 March 2021]. Available from: <https://www.interpol.int/How-we-work/Forensics/Disaster-Victim-Identification-DVI>.
- (8). Rowbotham SK, Blau S. The application of medical imaging to the anthropological estimation of sex. Sex Estimation of the Human Skeleton 2020. p. 351-69.
- (9). Age Estimation: A Multidisciplinary Approach: Academic Press; 2019.
- (10). Ubelaker DH, Khosrowshahi H. Estimation of age in forensic anthropology: historical perspective and recent methodological advances. Forensic Sciences Research. 2019; 4(1): 1-9.
- (11). Munoz A, Maestro N, Benito M, et al. Sex and age at death estimation from the sternal end of the fourth rib. Does Iscan's method really work? Leg Med (Tokyo). 2018; 31: 24-9.

- (12). Ruengdit S, Prasitwattanaseree S, Mekjaidee K, et al. Age estimation approaches using cranial suture closure: A validation study on a Thai population. *J Forensic Leg Med.* 2018; 53: 79-86.
- (13). Schmitt A. Age-at-death assessment using the os pubis and the auricular surface of the ilium: a test on an identified Asian sample. *Int J Osteoarchaeol.* 2004; 14(1): 1-6.
- (14). Traithepchanapai P, Mahakkanukrauh P, Kranioti EF. History, research and practice of forensic anthropology in Thailand. *Forensic Sci Int.* 2016; 261:167.e1–6.
- (15). Praneatpolgrang S, Prasitwattanaseree S, Mahakkanukrauh P. Age estimation equations using vertebral osteophyte formation in a Thai population: comparison and modified osteophyte scoring method. *Anat Cell Biol.* 2019; 52(2): 149-60.
- (16). McGivern H, Greenwood C, Marquez-Grant N, et al. Age-Related Trends in the Trabecular Micro-Architecture of the Medial Clavicle: Is It of Use in Forensic Science? *Fronti Bioeng Biotechnol.* 2019; 7: 467.
- (17). Ismail NA, Abdullah N, Mohamad Noor MH, et al. Accuracy and reliability of virtual femur measurement from CT scan. *J Forensic Leg Med.* 2019; 63: 11-7.
- (18). Nawrocki SP. The nature and sources of error in the estimation of age at death from the human skeleton. Latham KE, Finnegan M, editors. Charles C Thomas, Springfield; 2010.
- (19). Mahakkanukrauh P. Age Estimation from Computed Tomography of Cranial Suture Closure in a Thai Population. *Med Health.* 2020; 15(2): 276-89.
- (20). Hale A, Ross A. The Impact of Freezing on Bone Mineral Density: Implications for Forensic Research. *J Forensic Sci.* 2016; 62(2): 399-404.
- (21). Colman K, de Boer H, Dobbe J, et al. Virtual forensic anthropology: The accuracy of osteometric analysis of 3D bone models derived from clinical computed tomography (CT) scans. *Forensic Sci Int.* 2019; 304: 109963.
- (22). Sukumar D, Schlussek Y, Riedt C, et al. Obesity alters cortical and trabecular bone density and geometry in women. *Osteoporos Int.* 2010; 22(2): 635-45.
- (23). Warriar V, Kanchan T, Garg PK, et al. CT-based evaluation of the acetabulum for age estimation in an Indian population. *Int J Leg Med.* 2022; 136(3):785-795. doi:10.1007/s00414-021-02757-y
- (24). Chiba F, Inokuchi G, Hoshioka Y, et al. Age estimation by evaluation of osteophytes in thoracic and lumbar vertebrae using postmortem CT images in a modern Japanese population. *Int J Leg Med.* 2022; 136(1): 261-7. doi: 10.1007/s00414-021-02714-9.

- (25). Chiba F, Makino Y, Motomura A, et al. Age estimation by quantitative features of pubic symphysis using multidetector computed tomography. *Int J Leg Med* 2014; 128(4): 667-73. doi: 10.1007/s00414-014-1010-4.
- (26). Belghith M, Marchand E, Ben Khelil M, et al. Age estimation based on the acetabulum using global illumination rendering with computed tomography. *Int J Leg Med*. 2021; 135(5): 1923-34. doi: 10.1007/s00414-021-02539-6
- (27). Oldrini G, Harter V, Witte Y, et al. Age Estimation in Living Adults using 3D Volume Rendered CT Images of the Sternal Plastron and Lower Chest. *J Forensic Sci*. 2016; 61(1): 127-33. doi: 10.1111/1556-4029.12990.
- (28). Zhang K, Chen XG, Zhao H, et al. Forensic Age Estimation Using Thin-Slice Multidetector CT of the Clavicular Epiphyses Among Adolescent Western Chinese. *J Forensic Sci*. 2015; 60(3): 675-8. doi: 10.1111/1556-4029.12739
- (29). Ferrant O, Rougé-Maillart C, Guittet L, et al. Age at death estimation of adult males using coxal bone and CT scan: a preliminary study. *Forensic Sci Int*. 2009; 186(1-3): 14-21. doi: 10.1016/j.forsciint.2008.12.024.
- (30). Chansingthong U, Khamwan K, Varrathyarom P, et al. Age estimation using Hounsfield unit values from computed tomography of proximal femur trabecular: A validation study in the Thai population. *J Med Biosci [Internet]*. 2022 [cited 2022 Jul 14]; 4(2). Available from: <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/clmb/article/view/257128>

ORIGINAL ARTICLE

Preliminary Investigation of Mitragynine Storage on Whatman™ FTA card

Nat Tansrisawad^{1*}, Chitipat Luangviriyayarn¹ and Apinya Tubtimrattana²

1 Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

2 Department of Forensic Medicine, King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok, Thailand

* Correspondence to: Dr.Nat Tansrisawad, Department of Forensic Medicine, Forensic Medicine Building, 1873 King Chulalongkorn Memorial Hospital, Rama IV Road, Pathumwan, Bangkok 10330 Thailand. Telephone: +66 (0) 2 256 4269, Email: tssnat@hotmail.com

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

Submitted: 11 April 2024

Accepted: 24 April 2024

Published: 1 September 2025

Abstract

Background: Dried blood spot (DBS) serves as an alternative method for specimen collection and storage, involving the application of a small volume of blood onto a paper-based substrate. This approach facilitates easy transportation and requires minimal storage space at room temperature. Recently, there has been a growing focus on the use of the Whatman™ FTA card in forensic toxicology analysis. This interest stems from its capability to effectively inactivate viruses, ensuring safer handling and storage procedures. While numerous drugs and narcotics have been studied using DBS, there remains a notable absence of research on mitragynine. Mitragynine is an active compound found in Kratom which is rapidly gaining global popularity as a new psychoactive substance.

Objective: A preliminary study explores the potential use of the Whatman™ FTA card for the collection and storage of mitragynine.

Materials and Methods: Mitragynine standard was mixed in blood to achieve a concentration of 500 ng/mL. Subsequently, ten microliters of the sample were applied onto the Whatman™ FTA card and allowed to dry at room temperature for three hours. After drying, the sample on the dried blood spot was cut and transferred into a test tube. Extraction with methanol was then conducted, followed by centrifugation of the extraction solution. The resulting supernatant was filtered through a nylon syringe filter. Finally, the filtered supernatant was analyzed using LC/MS-MS.

Results: While methanol extraction demonstrated moderate effectiveness in yielding satisfactory mitragynine recovery from DBS, subsequent storage of the DBS at room temperature for seven days revealed a significant decrease in mitragynine levels of up to 35%.

Conclusions: The storage method for mitragynine as dried blood spots should be revised, considering options such as refrigeration or exploration of alternative card types. Prior to implementation in routine analysis, a validation process must be conducted to ensure the reliability and accuracy of the chosen storage approach.

Keywords: mitragynine; dried blood spot (DBS); Whatman™ FTA

Introduction

The collection and storage of specimens represent critical steps in forensic toxicological analysis. When dealing with liquid samples, it is advisable to employ screw-cap plastic tubes containing appropriate preservative substances ⁽¹⁾. Nevertheless, plastic tubes present certain drawbacks, including space occupation within refrigeration units and challenges during transportation.

The dried blood spot (DBS) method was first introduced in 1963 for neonatal screening to diagnose phenylketonuria. DBS involves the simple application of a small volume of blood onto a paper-based substrate ⁽²⁾. DBS has found wide application in various fields including clinical pharmacology, therapeutic drug monitoring, environmental control, and forensic toxicology. Notably, DBS offers several advantages such as the use of a minimal blood sample volume, ease of transportation, and minimal space requirements for storage at room temperature.

While the Whatman™ 903 card has been commonly utilized in both practice and research, recent attention has been directed towards the Whatman™ FTA card. The Whatman™ FTA card is primarily applied in genetic research due to its ability to lyse cells, denature proteins, and protect nucleic acids for analysis. Additionally, it facilitates the rapid inactivation of viruses. This unique feature of the Whatman™ FTA card ensures safe handling without the risk of infection.

Forensic toxicology studies have investigated benzodiazepines, antidepressants, antipsychotics, cocaine, amphetamine derivatives, ketamine, and methadone using dried blood spot (DBS) analysis ^(2, 3, 4). However, to date, there has been no research conducted on the detection of mitragynine using DBS. Mitragynine is a major psychoactive compound found in Kratom, a narcotic that has gained increasing global popularity as a new psychoactive substance ⁽⁵⁾.

The objective of this study is to conduct preliminary verification of mitragynine on Whatman™ FTA card, focusing on two key aspects: extraction recovery and one-week stability.

Materials and Methods

materials and chemicals

High-performance liquid chromatography grade methanol and acetonitrile were purchased from Merck (Sulpeco) Germany. Ammonium formate solution and formic acid (LC-MS grade) were obtained from Sigma and Fischer Chemical US, respectively.

Mitragynine standard was obtained from Cerilliant (Sigma Aldrich) US.

Syringe filter nylon membrane (13 mm with 0.22 μ m pore size), 2 ml short tread vial (amber 9 mm tread, 11.6 x 32 mm), bonded natural PTFE/white silicone septa, 9 mm blue screw cap (6 mm center hole), and 250 μ l clear insert with no spring vial were purchased from OnePuresci China.

Type I water (18.2 M Ω .cm at 25 °C) was from MicroPure Water Purification system Thermo Scientific, US. Whatman TM FTA card was bought from Sigma Aldrich.

Whole blood was from the Thai Red Cross Society, Thailand. Blood sample was tested for drugs and narcotics by LC-MS/MS and demonstrated no drugs or narcotics.

Instrumentation

A Shimadzu Liquid Chromatography Nexera X2 LC-30AD with triple quadrupole mass spectrometer LC-MS 8060 was from Kyoto, Japan. Shimadzu LabSolutions software version 5.97 was used. The parameter settings of the LC-MS/MS were presented in Table 1. The retention time of mitragynine was observed to be 11.698 minutes, with corresponding mass spectral (m/z) data indicating precursor ion and product ions at m/z 399.05, 173.95, and 159, respectively.

Sample preparation

Spike standard mitragynine into blood to achieve a concentration of 500 ng/mL. Dispense 100 μ l of the blood sample onto the designated circular area of a Whatman™ FTA card, ensuring even distribution within the circle. Allow the blood sample on the card to air-dry at ambient temperature for a duration of 3 hours. Subsequently, excise the circular section of the card and transfer it into a 5 mL microtube. Add 2 mL of methanol into the microtube, followed by vortexing and sonication for a duration of 10 minutes. Proceed to centrifuge the mixture at 9,000 rpm at 4°C for 10 minutes. The resulting supernatant should then be filtered through a nylon syringe filter. Transfer 1 mL of the filtered sample into a 1 mL vial for LC/MS-MS analysis. The entire procedure was performed in triplicate for precision and consistency.

A stability test was conducted by storing dried blood samples on Whatman™ FTA cards at room temperature in sealed envelopes for a duration of 7 days. The extraction and quantification of mitragynine were carried out on samples obtained on day 0 of the study. The test protocol was executed in triplicate to ensure reliability and consistency of results.

Table 1 Parameter, LC condition and MS/MS condition.

<u>Parameter</u>	
Column	Shim- pax Volex SP-C18, 1.8 μ m, 2.1 \times 100 mm column (Shimadzu, Kyoto, Japan).
Mobile Phase	10 mM Ammonium formate in water with 0.1% formic acid (mobile phase A) 10 mM Ammonium formate in methanol with 0.1% formic acid (mobile phase B).
LC Condition	
The flow rate	0.3 mL/min
Gradient of the mobile phase B	0.00–2.00 min: 15%, 2.00-10.00 min: 50%, 10.00–12.00 min: 95%, 12.00–20.00 min: 95%, 20.00–21.00 min: 5%, 21.00-26.00 min: 5%.
LC Stop Time	26 min
Column Oven	40 °C
MS/MS condition	
Mode	positive electrospray ionization (ESI) mode
Interface voltage	4 kV
Nebulizing gas (N2) flow	3 L/min
Heating gas (N2) flow	10 L/ min
Interface temperature	300 °C
Desolvation temperature	250 °C
Heat block temperature	400 °C
Drying gas (N2) flow	10 L/min
Argon	270 kPa

Results and Discussion

Methanol extraction yield a moderate recovery of mitragynine from the dried blood spot on Whatman™ FTA card displayed on Day 0, however, after 7 days storage the amount of mitragynine on the Whatman™ FTA cards reduced up to 35% as data in Table 2.

Table 2 Mitragynine concentrations (ng/ml) from DBS on Day 0 and Day 7

	Day 0	Day 7	% Difference
Sample 1	100.48	78.50	21.86
Sample 2	109.27	70.96	35.06
Sample 3	114.74	81.01	29.40
Mean	108.16	76.82	28.98

Previous studies have indicated varying degrees of mitragynine stability under different storage conditions. Specifically, one study reported a decrease of approximately 20% in mitragynine levels after refrigerated or frozen storage for 1 month ⁽⁶⁾. Another study observed a reduction of about 10% in mitragynine levels after 7 days of storage in a refrigerator ⁽⁷⁾. It's worth noting that extreme pH levels and temperature have been identified as factors that can adversely affect the stability of mitragynine ⁽⁸⁾.

In this study, the observed decrease in mitragynine levels on dried blood spot samples may potentially be attributed to factors such as temperature and pH conditions at the time of application onto the Whatman™ FTA cards. Chemicals present in the Whatman™ FTA card could potentially contribute to the degradation of mitragynine. Thus, a comprehensive validation of this storage method has not been conducted. It is suggested that further investigations be undertaken, including modified storage conditions such as storing the cards in a refrigerator or freezer, as well as exploring alternative extraction method and card types.

Conclusion

The preliminary study demonstrated that methanol could serve as an extraction solvent for retrieving mitragynine from dried blood spots (DBS) on Whatman™ FTA cards. However, storage of the cards at room temperature resulted in a notable reduction of up to 35% in mitragynine levels. Consequently, it is imperative to conduct further investigations involving modified DBS techniques and subsequent validation. These endeavors are aimed at establishing the viability of utilizing DBS as an alternative method for blood storage in test tubes.

References

- (1.) Dinis-Oliveira RJ, Vieira DN, Magalhães T. Guidelines for collection of biological samples for clinical and forensic toxicological analysis. *Forensic Sci Res.* 2017; 1(1): 42-51.
- (2.) Moretti M, Manfredi A, Freni F, et al. A comparison between two different dried blood substrates in determination of psychoactive substances in postmortem samples. *Forensic Toxicol.* 2021; 39(2): 385-93.
- (3.) Lee H, Park Y, Jo J, et al. Analysis of benzodiazepines and their metabolites using DBS cards and LC-MS/MS. *Forensic Sci Int.* 2015; 255: 137-45.
- (4.) Odoardi S, Anzillotti L, Strano-Rossi S. Simplifying sample pretreatment: application of dried blood spot (DBS) method to blood samples, including postmortem, for UHPLC-MS/MS analysis of drugs of abuse. *Forensic Sci Int.* 2014; 243: 61-7.
- (5.) Ramanathan S, McCurdy CR. Kratom (*Mitragyna speciosa*): worldwide issues. *Curr Opin Psychiatry.* 2020; 33(4): 312-8.
- (6.) Vuppala, P.K., Boddu, S.P., Furr, E.B., et al. Simple, sensitive, high-throughput method for the quantification of mitragynine in rat plasma using UPLC–MS and its application to an intravenous pharmacokinetic study. *Chromatographia*, 74, 703–10.
- (7.) Hoonwijit U, Waithum K, Tansrisawad N. Comparison of mitragynine stability in human blood in common blood collection tubes. *Chula Med J.* 2020; 64(4): 439-47.
- (8.) Basiliere S, Kerrigan S. Temperature and pH-Dependent Stability of *Mitragyna* Alkaloids. *J Anal Toxicol.* 2020; 44(4): 314-24.

ORIGINAL ARTICLE

อุบัติการณ์และกลไกการฉีกขาดของกล้ามเนื้อ ในการตายเกี่ยวข้องกับความเร็ว

กฤตยชญ์ จันทร์หอม^{1,2}, นิติกร โปริสวาณิชย์^{1*}

1 ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10700

2 โรงพยาบาลสระบุรี อำเภอมอเมือง จังหวัดสระบุรี 18000

* Correspondence to: นิติกร โปริสวาณิชย์, ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10700, Email: nitikorn.por@mahidol.ac.th

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

ส่งต้นฉบับ: วันที่ 26 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2567

รับลงตีพิมพ์: วันที่ 24 เดือนเมษายน พ.ศ. 2567

ตีพิมพ์เผยแพร่: วันที่ 1 เดือนกันยายน พ.ศ. 2568

บทคัดย่อ

ภูมิหลัง: การบาดเจ็บที่เกิดขึ้นที่กล้ามเนื้อเป็นอันตรายรุนแรงทำให้ทุพพลภาพหรือเสียชีวิต การบาดเจ็บดังกล่าวพบได้มากกรณีกลไกที่เกี่ยวข้องกับความเร็ว ในประเทศไทยพบได้บ่อยว่าเกิดจากอุบัติเหตุจราจร

วัตถุประสงค์: เพื่อรวบรวมกรณีที่เกิดการฉีกขาดของกล้ามเนื้อจากการผ่าศพที่ตายด้วยอุบัติเหตุจราจรและตกที่สูงในช่วงระยะเวลา 5 ปี ที่เกิดขึ้นในเขตเมืองหลวง แล้ววิเคราะห์กลไกการบาดเจ็บที่สำคัญ

วัสดุและวิธีการ: วิเคราะห์ข้อมูลจากรายงาน ภาพถ่าย และสไลด์จุลพยาธิวิทยาของศพที่ตายจากอุบัติเหตุจราจรและตกที่สูง โดยคัดเลือกกรณีที่เกิดการฉีกขาดของกล้ามเนื้อ

ผลการศึกษา: พบว่ามีอุบัติเหตุจราจร 2,299 ศพและตกจากที่สูง 351 ศพ พบการฉีกขาดของกล้ามเนื้อร้อยละ 7.7 และ 2.6 ตามลำดับ โดยสาเหตุที่พบและสันนิษฐานว่าเป็นกลไกของการบาดเจ็บได้แก่ กระตุกสันหลังส่วนคอเคลื่อนหลุดจากกะโหลกศีรษะร้อยละ 2.2 ฐานกะโหลกศีรษะแตกร้อยละ 8 กระตุกสันหลังส่วนคอเคลื่อนหลุดร่วมกับฐานกะโหลกศีรษะแตกร้อยละ 1.6 และคอเคลื่อนที่มากกว่าระยะปกติร้อยละ 2.2 สำหรับกรณีอุบัติเหตุจราจรพบว่ามีกรณีที่เกิดบ่อย 3 อันดับแรกได้แก่ อุบัติเหตุจากจักรยานยนต์ร้อยละ 66.5 จากการเดินถนนร้อยละ 20.5 และจากรถยนต์นั่งส่วนบุคคลร้อยละ 9.1 ซึ่งทั้ง 3 กรณีดังกล่าว พบสาเหตุที่น่าจะเป็นกลไกการบาดเจ็บที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกรณีคนเดินถนนกับผู้ขับขี่จักรยานยนต์ ส่วนความรุนแรงของการฉีกขาด พบว่าไม่มีนัยสำคัญต่อเวลาที่ยังมีชีวิต

สรุป: ทำให้เห็นกลไกที่ทำให้กล้ามเนื้อฉีกขาดจากความเร็วในอันตรายชนิดต่าง ๆ ว่าเป็นความแตกต่างกันอย่างไร และเห็นภาพของการบาดเจ็บในหลายกรณีที่กล้ามเนื้อฉีกขาดแล้วไม่เสียชีวิตในทันที ซึ่งเป็นข้อมูลที่สำคัญต่อการให้ความเห็นทางนิติเวชศาสตร์

คำสำคัญ: กล้ามเนื้อฉีกขาด, อุบัติเหตุจราจร, ตกที่สูง, การตายจากความเร็ว

Incidence and mechanism of pontomedullary laceration in velocity-related injuries

Kritayot Chanhom^{1,2} and Nitikorn Poriswanish^{1*}

*1 Department of Forensic Medicine Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University
Bangkok Thailand 10700*

2 Saraburi Hospital, Ministry of Public Health, Saraburi, Thailand 18000

* Correspondence to: Nitikorn Poriswanish, Department of Forensic Medicine Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University Bangkok Thailand 10700, Email: nitikorn.por@mahidol.ac.th

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

Submitted: 26 March 2024

Accepted: 24 April 2024

Published: 1 September 2025

Abstract

Background: Brainstem injuries are potentially lethal. Most of the events are related to velocity trauma especially in traffic accidents.

Objectives: To collect autopsy data and analyze prevalence of mechanisms leading to pontomedullary lacerations.

Material and methods: Five-year autopsy data including reports, pictures, and histopathological slides were collected and reviewed. One of the inclusion criteria is to focus on cases with pontomedullary laceration exclusively in velocity-related injuries i.e. traffic accident and fall from height.

Results: The total number of 2,299 traffic and 351 falling fatalities were collected and pontomedullary laceration were found 7.7 and 2.6 percent, respectively. The most three prevalent modes of injuries were from motorcycle (66.5%), pedestrian (20.5%), and car (9.1%) accidents. Skull-base fractures were found as the highest contributing mechanism of pontomedullary laceration followed by over-movement of the neck as equal to atlanto-occipital dislocation. It is also found that, of three mechanisms, pedestrian and motorcycle injuries show statistical significance. Degree of the laceration plays no significant role in a survival duration.

Conclusion: This study provides a landscape of the mechanisms of pontomedullary laceration in different modes of injuries. Also, the survival duration in each case varies and death does not always occur immediately when brainstem disrupts.

Keywords: Pontomedullary laceration, PML, Velocity-related injuries, Traffic accident, Fall from height

บทนำ

ก้านสมองเป็นทางผ่านของศูนย์รวมกลุ่มเซลล์ประสาทที่ทำหน้าที่สำคัญต่อการมีชีวิตและระดับการรู้สึกตัว โดยเฉพาะศูนย์ควบคุมการทำงานของหัวใจและการหายใจ การบาดเจ็บในส่วนนี้จึงส่งผลให้ผู้ได้รับบาดเจ็บเสียชีวิต ณ ที่เกิดเหตุทันที^[1] มีผู้ที่ได้รับบาดเจ็บบริเวณส่วนของก้านสมองจำนวนเล็กน้อยที่มีสัญญาณชีพจนถึงห้องฉุกเฉินของรพ. ถึงกระนั้นผลของการบาดเจ็บมักจะส่งผลให้ระบบประสาทเสียหายอย่างถาวร^[2-3] นับตั้งแต่ Lindenberg และ Freytag ศึกษาเกี่ยวกับการบาดเจ็บของก้านสมองและพบว่าก้านสมองมีลักษณะการฉีกขาดที่จำเพาะในตำแหน่ง pontomedullary junction เป็นครั้งแรก^[4] ได้มีการศึกษาอื่นเกี่ยวข้องกับการฉีกขาดก้านสมองในตำแหน่งนี้มากขึ้น โดยมักจะพบในกลุ่มผู้เสียชีวิตจากเหตุการณ์ที่มีความเร็วเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยเฉพาะอุบัติเหตุจากรถและการตกจากที่สูง มีการตั้งข้อสังเกตจากตำแหน่งของใบหน้าและศีรษะที่เป็นจุดปะทะ โดยคาดว่ากลไกนั้นเกิดจาก แรงที่ส่งผ่านโดยตรงจากกะโหลกศีรษะ แรงกระชากให้ศีรษะแหงนมาก (hyperextension) หรือแรงเฉื่อยของศีรษะ ณ ขณะปะทะกับวัตถุ^[7-8] นอกจากนี้การศึกษาหลายฉบับพบว่าการบาดเจ็บหลายชนิดที่มีความสัมพันธ์กับการฉีกขาดของก้านสมอง ได้แก่ ฐานกะโหลกศีรษะแตกอ้า (hinge fracture) ฐานกะโหลกศีรษะแตกเป็นวงรอบช่องทางออกของไขสันหลัง (ring fracture) และกระดูกสันหลังส่วนคอข้อที่ 1 หักเคลื่อนจากฐานกะโหลกศีรษะ (atlanto-occipital dislocation: AOD)^[6-9,15]

มีการตั้งข้อสังเกตว่า ผู้เสียชีวิตจำนวนหนึ่งที่ไม่พบการบาดเจ็บที่กะโหลกศีรษะและกระดูกสันหลังส่วนคอ จึงมีผู้เสนอสมมติฐานเกี่ยวกับกลไกการบาดเจ็บดังกล่าวว่า น่าจะเกิดจากการกระแทกบริเวณคาง^[10-13] อย่างไรก็ตาม แม้จะมีการศึกษาเกี่ยวกับการฉีกขาดของก้านสมองในลักษณะนี้ แต่จนถึงปัจจุบันก็ยังไม่มีการศึกษาตัวเลขอุบัติการณ์ของการบาดเจ็บลักษณะดังกล่าว และยังไม่มีข้อสรุปสำหรับทฤษฎีกลไกการบาดเจ็บที่ชัดเจน มีเพียงข้อสังเกตจากความสัมพันธ์ของก้านสมองฉีกขาดกับการบาดเจ็บร่วมอื่น ๆ เท่านั้น

เนื่องจากในประเทศไทยมีผู้เสียชีวิตจากความเร็ว ได้แก่ อุบัติเหตุจากรถและการตกจากที่สูง เป็นจำนวนมาก ประกอบกับมีข้อสังเกตเกี่ยวกับอุบัติการณ์ของการเกิด pontomedullary junction laceration (PML) ซึ่งพบได้ไม่น้อย ดังนั้น ผู้วิจัยเห็นว่า ควรมีการศึกษาที่รวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการฉีกขาดของก้านสมองและกลไกการบาดเจ็บอย่างเป็นระบบ ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการนำไปใช้มาตรการหรือปรับปรุงเครื่องมือป้องกัน รวมทั้งสามารถให้ความเห็นในคดีได้ งานวิจัยชิ้นนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการรวบรวมข้อมูลทางระบาดวิทยาของก้านสมองฉีกขาดในกลุ่มผู้เสียชีวิตจากการบาดเจ็บที่เกี่ยวข้องกับความเร็ว และศึกษากลไกการบาดเจ็บที่พบ

วัสดุและวิธีการ

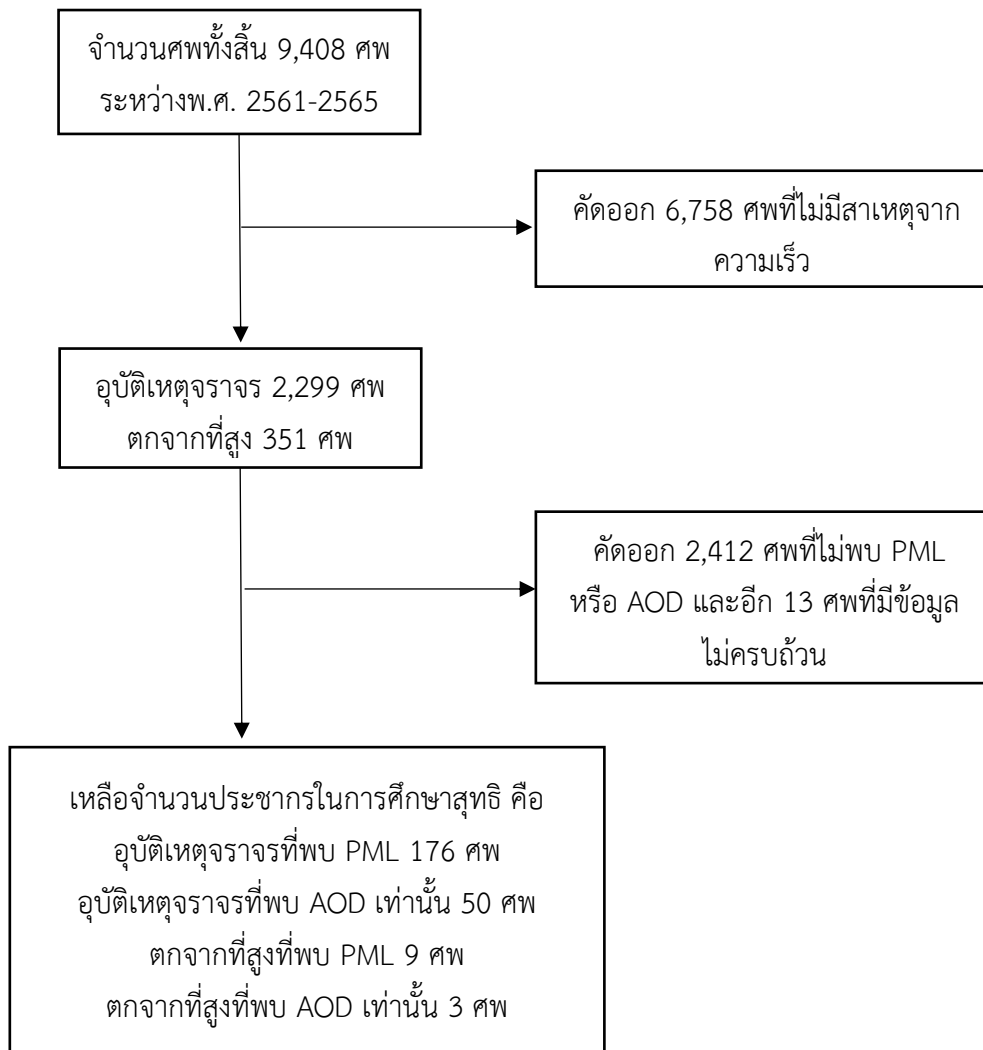
ลักษณะงานวิจัยและประชากรที่ใช้ศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาย้อนหลังเชิงพรรณนา (retrospective descriptive study) ศึกษาข้อมูลจากรายงานการผ่าศพที่ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล รูปถ่ายและสไลด์ชิ้นเนื้อในช่วงเวลา 5 ปี ระหว่าง พ.ศ. 2561 ถึง พ.ศ. 2565 จากศพทั้งสิ้น 9,408 ราย โดยผ่านการรับรองโดยหน่วยจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล (COA 735/2565)

เกณฑ์คัดเลือกข้อมูลในกลุ่มผู้เสียชีวิตจากการบาดเจ็บที่เกี่ยวข้องกับความเร็ว คือ กรณีอุบัติเหตุจากรถทางบก ได้แก่ ผู้ขับขี่และผู้โดยสารรถยนต์ ผู้ขับขี่และผู้โดยสารรถจักรยานยนต์และรถจักรยาน และคนเดินเท้า และกรณีการตกจากที่สูง โดยเก็บข้อมูลจากทุกช่วงอายุและเพศที่ตรวจพบ PML โดยคัดกรณีศพที่พบการบาดเจ็บของศีรษะและก้านสมองรุนแรงจนสามารถไม่คงรูปอยู่ได้ ศพที่เสียชีวิตมานานกว่า 24 ชั่วโมง และ

ศพที่มีข้อมูลไม่สมบูรณ์ออก เมื่อกรองข้อมูลตามเกณฑ์ดังกล่าวแล้ว ได้จำนวนประชากรที่เข้าเกณฑ์ทั้งสิ้น 238 ศพ ตามภาพที่ 1

ภาพที่ 1 แสดงจำนวนศพที่รวบรวมและคัดเลือกเข้ามาใช้เป็นประชากรในการศึกษาตามเกณฑ์ที่กำหนด



การบันทึกข้อมูล

ประชากรที่นำมาศึกษาจะถูกจัดแบ่งตามเพศและช่วงอายุทุก 10 ปี คือ ช่วงอายุ 0-10 ปี, >10-20 ปี, >20-30 ปี, >30-40 ปี, >40-50 ปี, >50-60 ปี, >60-70 ปี, >70-80 ปี, >80-90 ปี และ >90-100 ปี โดยมีการบันทึกข้อมูลความรุนแรงของ PML ซึ่งถูกจัดเป็น 3 ระดับจากความลึกของรอยฉีกขาด ได้แก่ ฉีกแบบสมบูรณ์ ฉีกขาดมากกว่าร้อยละ 50 แต่ไม่ขาดโดยสมบูรณ์ และฉีกขาดน้อยกว่าร้อยละ 50 แล้วเก็บข้อมูลการตรวจพบ AOD การบาดเจ็บของเนื้อเยื่อที่ศีรษะ การแตกของกะโหลกและฐานกะโหลกศีรษะ และลักษณะการบาดเจ็บของสมอง

การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการแจกแจงข้อมูลเชิงพรรณนาจากประเภทของการเกิดการบาดเจ็บและการบาดเจ็บโดยจำแนกร้อยละ หาค่าเฉลี่ย มัธยฐาน และฐานนิยม รวมถึงทำแผนภูมิเส้นและวงกลม ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 2023 นอกจากนี้ ยังวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ Chi-square และ Kaplan-Meier Survival Estimate ด้วยเครื่องมือออนไลน์ (<https://astatsa.com>) โดยถือว่า $p < 0.05$ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

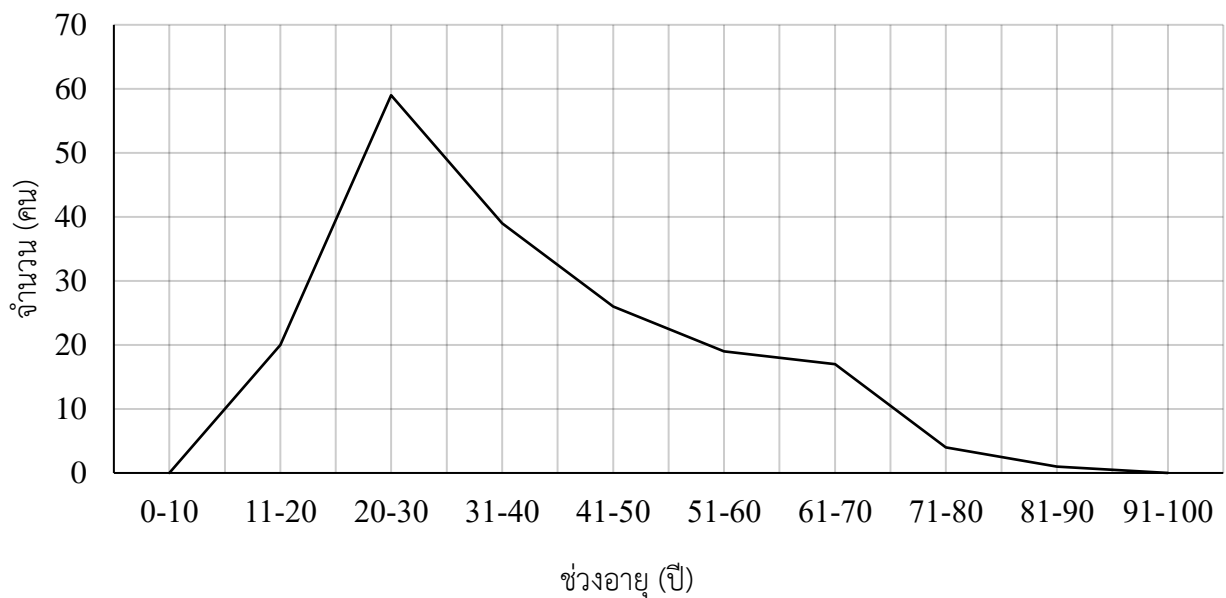
ผลการศึกษา

จากข้อมูลทั้งหมด 9408 ศพ มีสาเหตุจากอุบัติเหตุจราจร 2299 ราย และตกจากที่สูง 351 ราย สาเหตุทั้งสองสามารถแจกแจงส่วนของร่างกายที่ได้รับบาดเจ็บจนเสียชีวิต ตามตารางที่ 1 จากสาเหตุทั้งสองพบว่ามีข้อมูลที่พบ PML ตาม Inclusion criteria ทั้งหมด 185 ราย เกิดจากอุบัติเหตุจราจร 176 ราย (95.14%) และตกจากที่สูง 9 ราย (4.86%) โดยมีการกระจายข้อมูลตามช่วงอายุดังภาพที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงการแจกแจงส่วนของร่างกายที่บาดเจ็บจนเสียชีวิตในอุบัติเหตุจราจรและการตกที่สูง

	ศีรษะและคอ (%)	ทรวงอก (%)	ช่วงท้อง (%)	เชิงกราน (%)	ศีรษะและส่วนอื่น (%)	ส่วนอื่นไม่รวมศีรษะ (%)	ภาวะแทรกซ้อน (%)
อุบัติเหตุจราจร (รวม 2,299)	1,548 (67.33)	417 (18.14)	131 (5.7)	49 (2.13)	56 (2.44)	67 (2.91)	31 (1.35)
ตกจากที่สูง (รวม 351)	280 (79.77)	36 (10.26)	7 (1.99)	5 (1.42)	8 (2.28)	7 (1.99)	8 (2.28)

ภาพที่ 2 แสดงการกระจายข้อมูลตามช่วงอายุ



ในกลุ่ม PML ที่เกิดจากอุบัติเหตุจราจรพบว่ามีสาเหตุการเสียชีวิตจากรถจักรยานยนต์ 117 ราย (66.48%) ตามมาด้วยคนเดินถนน 36 ราย (20.45%) และจากรถยนต์ 16 ราย (9.09%) นอกจากนี้ เป็นกรณีที่พบได้น้อยคือจักรยาน 4 ราย (2.27%) รถจักรยานยนต์ตกจากที่สูง 2 ราย (1.14%) และถูกรถไฟชน 1 ราย (0.57%) เมื่อแจกแจงข้อมูล PML ที่สัมพันธ์กับการบาดเจ็บอันน่าจะเป็นสมมุติฐาน โดยจำแนกตามชนิดของ

ยานพาหนะ รวมกับกรณีที่เกิดที่สูงเป็นไปตามตารางที่ 2 เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างด้วย Fisher exact test ระหว่างชนิดของการเดินทางหรือยานพาหนะ ที่ทำให้เสียชีวิตจาก PML มากที่สุด พบว่าการบาดเจ็บที่น่าจะเป็นสมมุติฐานของ PML เกิดขึ้นจากรถจักรยานยนต์และคนเดินถนนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) สำหรับการบาดเจ็บที่เกิดจากการสะบัดคอ (Over-movement) จำนวนทั้งสิ้น 27 ราย พบว่ามีการกระแทกที่ใบหน้าและคาง 19 ราย (70.37%) กระแทกทางด้านข้างของศีรษะ 3 ราย (11.11%) กระแทกทางด้านหลังของศีรษะ 2 ราย (7.41%) และไม่พบจุดกระแทก 3 ราย (11.11%)

ตารางที่ 2 แสดงการบาดเจ็บที่เป็นสมมุติฐานของ PML

		AOD (%)	SBF (%)	AOD + SBF (%)	AOD + NFx (%)	SBF + Cx (%)	AOD + SBF + NFx (%)	Over movement (%)
อุบัติเหตุจราจร	จักรยานยนต์	7 (5.98)	51 (43.59)	11 (9.4)	9 (7.69)	18 (15.38)	5 (4.27)	16 (13.68)
	คนเดินถนน	8 (22.22)	7 (19.44)	5 (13.89)	4 (11.11)	3 (8.33)	4 (11.11)	5 (13.89)
	รถยนต์	2 (12.5)	5 (31.25)	2 (12.5)	0 (0)	1 (6.25)	1 (6.25)	5 (31.25)
	รถจักรยาน	1 (25)	2 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (25)	0 (0)
	รถโฟเชน	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	จักรยานยนต์ตกที่สูง	0 (0)	1 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (50)
ตกที่สูง		0 (0)	5 (5.55)	1 (11.11)	0 (0)	2 (22.22)	1 (11.11)	0 (0)

หมายเหตุ AOD = Atlanto-occipital dislocation, SBFx = Skull-base fracture, NFx = Cervical spine fracture

เมื่อแบ่งความรุนแรงของ PML เป็น 3 ระดับ แล้วจำแนกข้อมูลตามการบาดเจ็บที่อาจจะเป็นสมมุติฐานของ PML ปรากฏตามตารางที่ 3 แล้วนำข้อมูลมาเปรียบเทียบความแตกต่างด้วย Fisher exact test พบว่าการบาดเจ็บที่เป็นสมมุติฐานของ PML มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการฝึกขาดในระดับ 1 และ 3 เท่านั้น ($p = 0.03$) และนำระยะเวลาที่มีชีวิตอยู่ภายหลังการเกิด PML ทั้งสามลำดับมาวิเคราะห์ ด้วย Kaplan-Meier survival estimate และหาความสำคัญทางสถิติด้วย Chi-square test พบว่าผู้เสียชีวิตส่วนใหญ่ เสียชีวิตภายใน 1 ชั่วโมงแรก โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.94$) นอกจากนี้ ผู้ที่มีชีวิตอยู่เกิน 1 ชั่วโมง จำนวนทั้งสิ้น 6 ราย (3.24%) มีชีวิตอยู่ตั้งแต่มากกว่า 1-14 ชั่วโมง

ตารางที่ 3 แสดงการแจกแจงระดับความรุนแรงของ PML และการบาดเจ็บที่อาจเป็นสมมุติฐานของ PML

ระดับความรุนแรงของ PML	AOD (%)	SBF (%)	AOD +SBF (%)	AOD +Cx (%)	SBF+Cx (%)	All (%)	Over movement (%)
1	6 (6.9)	32 (36.78)	12 (13.79)	4 (4.6)	7 (8.05)	8 (9.2)	18 (20.69)
2	5 (8.33)	21 (35)	5 (8.33)	5 (8.33)	11 (18.33)	4 (6.67)	9 (15)
3	6 (15.70)	18 (47.37)	3 (7.89)	4 (10.53)	5 (13.16)	1 (2.63)	1 (2.63)

หมายเหตุ AOD = Atlanto-occipital dislocation, SBFx = Skull-base fracture, NFx = Cervical spine fracture

อภิปรายผลการศึกษา

สาเหตุของการบาดเจ็บการบาดเจ็บและเสียชีวิตที่สัมพันธ์กับความเร็วในประเทศไทย ส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากอุบัติเหตุจราจร ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าข้อมูลที่สอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมาในอดีต^[16-17] สาเหตุการตายส่วนใหญ่เกิดจากรถจักรยานยนต์ ตามมาด้วยคนเดินถนน และข้อข้อมูดยนต์ ซึ่งสอดคล้องกับความนิยมของสังคมไทย อย่างไรก็ตามส่วนของร่างกายที่ทำให้เสียชีวิตมากที่สุด พบที่ศีรษะและคอ ทำให้เห็นได้ว่า รูปแบบการเดินหรือพาหนะที่ไม่มีโครงสร้างห่อหุ้มอาจก่อให้เกิดการบาดเจ็บต่อศีรษะได้ง่าย^[18] ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยให้ความสำคัญกับสาเหตุการตายที่เกิดจากการบาดเจ็บแม้เพียงเล็กน้อย คือ ก้านสมอง ได้มีงานวิจัยจำนวนมากบ่งชี้ว่าการบาดเจ็บดังกล่าวพบร่วมกับ AOD, ฐานกะโหลกศีรษะแตก, และการเคลื่อนที่หรือสับตัวอย่างรุนแรงของคอ^[4-14] ในการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า ผู้ขับขี่รถจักรยานยนต์และคนเดินถนนมีอุบัติการณ์ของ PML มากกว่าเหตุอื่น^[7, 12, 14]

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยได้นำข้อมูลการบาดเจ็บร่วมที่อาจเป็นสมมุติฐานของ PML ในกรณีการเสียชีวิตจากอุบัติเหตุจราจรที่พบมากที่สุด 3 กรณี มาวิเคราะห์และพบว่าผู้ขับขี่รถจักรยานยนต์และคนเดินถนนมีอุบัติการณ์ของการบาดเจ็บที่เป็นสมมุติฐานของสาเหตุของ PML ที่แตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อพิจารณาลงในรายละเอียดพบว่า คนเดินถนนพบ AOD มากที่สุด ในขณะที่ผู้ขับขี่รถจักรยานยนต์พบการแตกของฐานกะโหลกศีรษะมากที่สุด อุบัติการณ์ที่กล่าวมาทั้งสองอย่างนี้ มีลักษณะที่แตกต่างไปจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Živković และคณะ^[12,14] ความแตกต่างดังกล่าวนี้ผู้วิจัยตั้งสมมุติฐานว่าอุบัติเหตุจราจรในประเทศไทยมีการใช้ความเร็วที่สูง ดังนั้น เมื่อเกิดอุบัติเหตุกับผู้ขับขี่รถจักรยานยนต์ ศีรษะจึงกระแทกกับวัตถุอื่น เช่น ยานพาหนะอื่น เสา หรือพื้นถนน ส่งผลให้กะโหลกและฐานกะโหลกศีรษะแตก แต่ในการศึกษาก่อนหน้าโดย Živković และคณะ^[12] ได้บรรยายลักษณะของการเกิดอุบัติเหตุของรถจักรยานยนต์ที่เกิดขึ้นในยุโรปว่ามีการกระแทกบริเวณคางได้บ่อยกว่า ซึ่งเกิดจากการที่ผู้ขับขี่พุ่งเข้าชนกับวัตถุโดยตรง จุดกระแทกในรายงานดังกล่าวเกิดจากการพุ่งชนทางด้านหน้า ในขณะที่การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ พบศีรษะกระแทกได้หลายทิศทางสำหรับกรณีคนเดินถนนเชื่อว่า การถูกชนทำให้มีการเคลื่อนระหว่างศีรษะและร่างกายส่วนอื่นไม่พร้อมกัน ทำให้เกิดแรงเฉือน (Shearing force) หรือ Over-movement^[19] ดังนั้นอุบัติการณ์ของ AOD จึงพบได้มากกว่าการแตกของกะโหลกศีรษะ ในรายงานวิจัยที่ผ่านมา^[14] อย่างไรก็ตามการเคลื่อนที่หรือการสับตัวอย่างรุนแรงของลำคอ (Over-movement) ในงานวิจัยครั้งนี้ พบว่ามีจุดกระแทกบริเวณใบหน้าและคางเหมือนกับในงานวิจัยที่ผ่านมา^[12-13]

สำหรับความรุนแรงของ PML เมื่อเปรียบเทียบกับกันแล้วพบว่า สาเหตุที่อาจจะเป็นสมมุติฐานของความรุนแรงในระดับที่ 1 ละ 3 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าในความรุนแรงระดับที่ 3 มีสัดส่วนของ AOD มากกว่าในความรุนแรงระดับที่ 1 อย่างชัดเจน ดังนั้นอาจสรุปเบื้องต้นได้ว่า AOD มีส่วนในการทำให้ความรุนแรงของ PML สูงขึ้น ซึ่งยังไม่ปรากฏว่ามีการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้เคยรายงานมาก่อน สำหรับระยะเวลามีชีวิต พบว่าก้านสมองทำให้เสียชีวิตได้อย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามยังมีส่วนหนึ่งที่มีชีวิตได้เกิน 1 ชั่วโมง กรณีนี้เป็นประเด็นที่น่าสนใจในการให้ความเห็นทางนิติเวชศาสตร์ เนื่องจากการบาดเจ็บที่รุนแรงของก้านสมองส่งผลให้ก้านสมองตาย แต่ไม่ทำให้เสียชีวิตในทันที สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้^[20] ซึ่งรายงานว่าก้านสมองที่ฉีกขาดอย่างสมบูรณ์ ยังมีชีวิตอยู่ได้ด้วยการทำงานของเครื่องพยุงชีพนานถึง 16 เดือน

สรุปผลการศึกษา

สมมุติฐานของการเกิด PML มีปัจจัยร่วมจาก AOD การแตกของฐานกะโหลกศีรษะ และการบาดเจ็บของลำคอที่เกิดจากการสะบัดโดยที่อาจจะมีกระดูกสันหลังส่วนคอหักหรือไม่ได้ ในความเป็นจริงการเสียชีวิตที่สัมพันธ์กับความเร็วมักพบการบาดเจ็บรุนแรงร่วมกันหลายแหล่ง ดังนั้น PML จึงอาจเกิดขึ้นจากสาเหตุปัจจัยดังกล่าวอย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายอย่างร่วมกันก็ได้ การศึกษาครั้งนี้ ทำให้เห็นลักษณะกลไกและสาเหตุที่อาจมีประโยชน์ในการวิเคราะห์ทางนิติเวชศาสตร์มากยิ่งขึ้น ขณะเดียวกันยังพบว่าผู้ที่เสียชีวิตจากก้านสมองที่ได้รับบาดเจ็บรุนแรงส่วนหนึ่งไม่ได้เสียชีวิตโดยทันที ทำให้ต้องระมัดระวังในการให้ความเห็นเป็นพยานกรณีที่พบการบาดเจ็บของก้านสมอง

เอกสารอ้างอิง

- (1.) Basinger H, Hogg JP. Neuroanatomy, Brainstem [Internet]. PubMed. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544297/>
- (2.) Pilz P, Strohecker J, Grobovschek M. Survival after traumatic ponto-medullary tear. J Neurol Neurosurg Psychiatry [Internet]. 1982 [cited 2024 Mar 22]; 45(5): 422–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7086455/>
- (3.) Bhatoe HS. Primary Brainstem Injury: Benign Course and Improved Survival. Acta Neurochir. 1999 May 17; 141(5): 515–9.
- (4.) Lindenberg R, Freytag E. Brainstem lesions characteristic of traumatic hyperextension of the head. Arch Pathol [Internet]. 1970; 90(6): 509–15.
- (5.) Hitosugi M, Fukui K, Takatsu A. 2. Incomplete Decapitation of a Motorcyclist from Hyperextension by Inertia: A Case Report. Med Sci Law. 2001; 41(2): 174–7.
- (6.) Simpson DA, Blumbergs PC, Cooter RD, et al. Pontomedullary tears and other gross brainstem injuries after vehicular accidents. J Trauma [Internet]. 1989 [cited 2024 Mar 22]; 29(11):1519–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2585563/>
- (7.) Kondo T, Saito K, Nishigami J, et al. Fatal injuries of the brain stem and/or upper cervical spinal cord in traffic accidents: nine autopsy cases. Sci Justice. 1995; 35(3): 197–201.

- (8.) Ohshima T, Kondo T. Forensic pathological observations on fatal injuries to the brain stem and/or upper cervical spinal cord in traffic accidents. *J Clin Forensic Med*. 1998; 5(3): 129–34.
- (9.) Gunji H, Mizusawa I, Hiraiwa K. The mechanism underlying the occurrence of traumatic brainstem lesions in victims of traffic accidents. *Leg Med*. 2002; 4(2): 84–9.
- (10.) Živković V, Nikolić S, Babić D, et al. The significance of pontomedullary laceration in car occupants following frontal collisions: A retrospective autopsy study. *Forensic Sci Inter* [Internet]. 2010 [cited 2024 Mar 22]; 202(1-3): 13–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20439142/>
- (11.) Živković V, Nikolić S, Babić D, et al. Pontomedullary lacerations in falls from a height—A retrospective autopsy study. *J Forensic Sci*. 2012; 57(3): 654–7.
- (12.) Živković V, Nikolić S, Strajina V, et al. Pontomedullary lacerations in unhelmeted motorcyclists and bicyclists: A retrospective autopsy study. *Am J Forensic Med Pathol*. 2012; 33(4): 349–53.
- (13.) Živković V, Slobodan Nikolić, Veljko Strajina, et al. Pontomedullary lacerations and concomitant head and neck injuries: their underlying mechanism. A prospective autopsy study. *Forensic Sci Med Pathol*. 2011; 8(3): 237–42.
- (14.) Živković V, Nikolić S, Strajina V, et al. Pontomedullary lacerations in pedestrians: an autopsy study. *Med Sci Law*. 2012; 52(2):107–11.
- (15.) Ji Hwan Jang, Jung Soo Kim. Pontomedullary Laceration, a Fatal Consequence of Skull Base Ring Fracture. *J Korean Neurosurg Soc* [Internet]. 2014 [cited 2024 Mar 22]; 56(6): 534–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4303735/>
- (16.) Rungruangsak K, Poriswanish N. Pathology of fatal diffuse brain injury in severe non-penetrating head trauma. *J Forensic Leg Med* [Internet]. 2021;82(102226):102226. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1752928X21001116>
- (17.) Ruangwinitwong S, Poriswanish N. Motorcycle injuries and characteristics of frontal collision: Western Bangkok perspectives [Internet]. [cited 2024 Mar 22]. Available from: https://doi.nrct.go.th/admin/doc/doc_587418.pdf
- (18.) Solagberu BA. Motorcycle injuries in a developing country and the vulnerability of riders, passengers, and pedestrians. *Injury Prev*. 2006; 12(4): 266–8.
- (19.) Hall GC. Atlanto-occipital dislocation. *World J Orthop*. 2015; 6(2): 236.
- (20.) Gautschi OP, Woodland PR, Zellweger R. Complete medulla/cervical spinal cord transection after atlanto-occipital dislocation: An extraordinary case. *Spinal Cord*. 2007; 45(5): 387–93.

APPENDIX 1

INFORMATION FOR AUTHORS

All authors listed in a paper submitted to Asian Archives of Pathology (AAP) must have contributed substantially to the work. It is the corresponding author who takes responsibility for obtaining permission from all co-authors for the submission. When submitting the paper, the corresponding author is encouraged to indicate the specific contributions of all authors (the author statement, with signatures from all authors and percentage of each contribution can be accepted). Examples of contributions include: designed research, performed research, contributed vital new reagents or analytical tools, analysed data, and wrote the paper. An author may list more than one type of contribution, and more than one author may have contributed to the same aspect of the work.

Authors should take care to exclude overlap and duplication in papers dealing with related materials. See also paragraph on Redundant or Duplicate Publication in “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” at <http://www.icmje.org/index.html>.

The submitted manuscripts will be reviewed by three members of the Editorial Board or three expert reviewers from different institutions. At the discretion of the Editorial Board, the manuscripts may be returned immediately without full review, if deemed not competitive or outside the realm of interests of the majority of the readership of the Journal. The decision (reject, invite revision, and accept) letter will be coming from the Editorial Board who has assumed responsibility for the manuscript’s review. The editor’s decision is based not just on technical merit of the work, but also on other factors such as the priority for publication and the relevance to the Journal’s general readership. All papers are judged in relation to other submissions currently under consideration.

Categories of Manuscripts

1. Letters to the Editor

The letters to the editor are the reactions to any papers published in AAP. These letters will be reviewed by the Editorial Board and sent to the authors of the original paper with an invitation to respond. Letters and eventual responses will be published together, when appropriate.

- *Word Count: 300 – 500 words (excluding references and figure or table legends)*
- *Abstract: Not required*
- *References: Maximum of 10*
- *Figure or Table: Maximum of 1 (if needed)*

2. Original Articles

The original articles are the researches describing the novel understanding of anatomical pathology, clinical pathology (laboratory medicine), forensic medicine (legal medicine or medical jurisprudence), molecular medicine or pathobiology. Systematic reviews, meta-analyses and clinical trials are classified as articles. The articles should be clearly and concisely written in the well-organised form (see ***Organisation of Manuscripts***): abstract; introduction; materials and methods; results; discussion; and conclusions. The manuscripts that have passed an initial screening by the Editorial Board will be reviewed by two or more experts in the field.

- Word Count: 3,000 – 5,000 words (excluding abstract, references, and figure or table legends)
- Structured Abstract (see ***Organisation of Manuscripts***): 150 – 200 words
- References: Maximum of 150
- Figures or Tables: Maximum of 6

3. Review Articles

The review articles are generally invited by the Editor-in-Chief. They should focus on a topic of broad scientific interest and on recent advances. These articles are peer-reviewed before the final decision to accept or reject the manuscript for publication. Therefore, revisions may be required.

- Word Count: 3,000 – 5,000 words (excluding abstract, references, and figure or table legends)
- Unstructured Abstract: 150 – 200 words
- References: Maximum of 150
- Figures or Tables: Maximum of 4

4. Case Reports

AAP limits publication of case reports to those that are truly novel, unexpected or unusual, provide new information about anatomical pathology, clinical pathology (laboratory medicine) or forensic medicine (legal medicine or medical jurisprudence). In addition, they must have educational value for the aforementioned fields. The journal will not consider case reports describing preventive or therapeutic interventions, as these generally require stronger evidence. Case reports that involve a substantial literature review should be submitted as a review article. The submitted case reports will undergo the usual peer-reviewed process.

- Word Count: 1,200 – 2,000 words (excluding abstract, references, and figure or table legends)
- Unstructured Abstract: 150 – 200 words

- *References: Maximum of 20*
- *Figures or Tables: Maximum of 4*

5. Case Illustrations

Case illustrations are aimed to provide education to readers through multidisciplinary clinicopathological discussions of interesting cases. The manuscript consists of a clinical presentation or description, laboratory investigations, discussion, final diagnosis, and up to 5 take-home messages (learning points). Regarding continuous learning through self-assessment, each of the case illustrations will contain 3 – 5 multiple choice questions (MCQs) with 4 – 5 suggested answers for each question. These MCQs are placed after the final diagnosis and the correct answers should be revealed after the references. The questions and take-home messages (learning points) are included in the total word count. The manuscripts that have passed an initial screening by the Editorial Board will be reviewed by two experts in the field.

- *Word Count: 1,000 – 2,000 words (excluding references and figure or table legends)*
- *Abstract: Not required*
- *References: Maximum of 10*
- *Figures: Maximum of 2*
- *Tables: Maximum of 5*

6. Technical Notes

The technical notes are brief descriptions of scientific techniques used in the anatomical pathology, clinical pathology (laboratory medicine), forensic medicine (legal medicine or medical jurisprudence), molecular medicine or pathobiology. The submitted manuscripts are usually peer-reviewed.

- *Word Count: Maximum of 1,000 words (excluding references and figure or table legends)*
- *Abstract: Not required*
- *References: Maximum of 5*
- *Figures or Tables: Maximum of 2*

Organisation of Manuscripts

1. General Format

The manuscripts written in English language are preferable. However, Thai papers are also acceptable, but their title pages, abstracts, and keywords must contain both Thai and English. These English and Thai manuscripts are prepared in A4-sized Microsoft Word documents with leaving 2.54-cm (1-inch) margins on all sides. All documents are required to be aligned left and double-spaced throughout the entire manuscript. The text should be typed in 12-point regular Times New Roman font for English manuscript and 16-point regular TH SarabunPSK font for Thai manuscript.

The running titles of English and Thai manuscripts are placed in the top left-hand corner of each page. They cannot exceed 50 characters, including spaces between words and punctuation. For the header of English paper, the running title will be typed in all capital letters. The page number goes on the top right-hand corner.

Footnotes are not used in the manuscripts, but parenthetical statements within text are applied instead and sparingly. Abbreviations should be defined at first mention and thereafter used consistently throughout the article. The standard abbreviations for units of measure must be used in conjunction with numbers.

All studies that involve human subjects should not mention subjects' identifying information (e.g. initials) unless the information is essential for scientific purposes and the patients (or parents or guardians) give written informed consent for publication.

2. Title Page

The title page is the first page of the manuscripts and must contain the following:

- The title of the paper (not more than 150 characters, including spaces between words)
- The full names, institutional addresses, and email addresses for all authors (If authors regard it as essential to indicate that two or more co-authors are equal in status, they may be identified by an asterisk symbol with the caption "These authors contributed equally to this work" immediately under the address list.)
- The name, surname, full postal address, telephone number, facsimile number, and email address of the corresponding author who will take primary responsibility for communication with AAP.
- Conflict of interest statement (If there are no conflicts of interest for any author, the following statement should be inserted: "The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.")

3. Abstract

A structured form of abstract is used in all Original Article manuscripts and must include the following separate sections:

- *Background: The main context of the study*
- *Objective: The main purpose of the study*
- *Materials and Methods: How the study was performed*
- *Results: The main findings*
- *Conclusions: Brief summary and potential implications*
- *Keywords: 3 – 5 words or phrases (listed in alphabetical order) representing the main content of the article*

4. Introduction

The Introduction section should clearly explain the background to the study, its aims, a summary of the existing literature and why this study was necessary or its contribution to the field.

5. Materials and Methods

The Materials and Methods section must be described in sufficient detail to allow the experiments or data collection to be reproduced by others. Common routine methods that have been published in detail elsewhere should not be described in detail. They need only be described in outline with an appropriate reference to a full description. Authors should provide the names of the manufacturers and their locations for any specifically named medical equipment and instruments, and all chemicals and drugs should be identified by their systematic and pharmaceutical names, and by their trivial and trade names if relevant, respectively. Calculations and the statistical methods employed must be described in this section.

All studies involving animal or human subjects must abide by the rules of the appropriate Internal Review Board and the tenets of the recently revised Helsinki protocol. Hence, the manuscripts must include the name of the ethics committee that approved the study and the committee's reference number if appropriate.

6. Results

The Results section should concisely describe the findings of the study including, if appropriate, results of statistical analysis which must be presented either in the text or as tables and figures. It should follow a logical sequence. However, the description of results should not simply repeat the data that appear in tables and figures and, likewise, the same data should not be displayed in both tables and figures. Any chemical equations, structural

formulas or mathematical equations should be placed between successive lines of text. The authors do not discuss the results or draw any conclusions in this section.

7. Discussion

The Discussion section should focus on the interpretation and the significance of the findings against the background of existing knowledge. The discussion should not repeat information in the results. The authors will clearly identify any aspects that are novel. In addition, there is the relation between the results and other work in the area.

8. Conclusion

The Conclusion section should state clearly the main summaries and provide an explanation of the importance and relevance of the study reported. The author will also describe some indication of the direction future research should take.

9. Acknowledgements

The Acknowledgements section should be any brief notes of thanks to the following:

- *Funding sources*
- *A person who provided purely technical help or writing assistance*
- *A department chair who provided only general support*
- *Sources of material (e.g. novel drugs) not available commercially*

Thanks to anonymous reviewers are not allowed. If you do not have anyone to acknowledge, please write “Not applicable” in this section.

10. References

The Vancouver system of referencing should be used in the manuscripts. References should be cited numerically in the order they appear in the text. The authors should identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in parentheses or as superscripts. Please give names of all authors and editors. The references should be numbered and listed in order of appearance in the text. The names of all authors are cited when there are six or fewer. When there are seven or more, only the first three followed by “et al.” should be given. The names of journals should be abbreviated in the style used in Index Medicus (see examples below). Reference to unpublished data and personal communications should not appear in the list but should be cited in the text only (e.g. A Smith, unpubl. Data, 2000).

- *Journal article*

1. Sibai BM. Magnesium sulfate is the ideal anticonvulsant in preeclampsia – eclampsia. Am J Obstet Gynecol 1990; 162: 1141 – 5.

- *Books*
 2. Remington JS, Swartz MN. Current Topics in Infectious Diseases, Vol 21. Boston: Blackwell Science Publication, 2001.
- *Chapter in a book*
 3. Cunningham FG, Hauth JC, Leveno KJ, Gilstrap L III, Bloom SL, Wenstrom KD. Hypertensive disorders in pregnancy. In: Cunningham FG, Hauth JC, Leveno KJ, Gilstrap L III, Brom SL, Wenstrom KD, eds. Williams Obstetrics, 22nd ed. New York: McGraw-Hill, 2005: 761 – 808.

11. Tables

The tables should be self-contained and complement, but without duplication, information contained in the text. They should be numbered consecutively in Arabic numerals (Table 1, Table 2, etc.). Each table should be presented on a separate page with a comprehensive but concise legend above the table. The tables should be double-spaced and vertical lines should not be used to separate the columns. The column headings should be brief, with units of measurement in parentheses. All abbreviations should be defined in footnotes. The tables and their legends and footnotes should be understandable without reference to the text. The authors should ensure that the data in the tables are consistent with those cited in the relevant places in the text, totals add up correctly, and percentages have been calculated correctly.

12. Figure Legends

The legends should be self-explanatory and typed on a separate page titled “Figure Legends”. They should incorporate definitions of any symbols used and all abbreviations and units of measurement should be explained so that the figures and their legends are understandable without reference to the text.

If the tables or figures have been published before, the authors must obtain written permission to reproduce the materials in both print and electronic formats from the copyright owner and submit them with the manuscripts. These also follow for quotes, illustrations, and other materials taken from previously published works not in the public domain. The original resources should be cited in the figure captions or table footnotes.

13. Figures

All illustrations (line drawings and photographs) are classified as figures. The figures should be numbered consecutively in Arabic numerals (Figure 1, Figure 2, etc.). They are submitted electronically along with the manuscripts. These figures should be referred to

specifically in the text of the papers but should not be embedded within the text. The following information must be stated to each microscopic image: staining method, magnification (especially for electron micrograph), and numerical aperture of the objective lens. The authors are encouraged to use digital images (at least 300 d.p.i.) in .jpg or .tif formats. The use of three-dimensional histograms is strongly discouraged when the addition of these histograms gives no extra information.

14. Components

14.1. Letters to the Editor

The Letter to the Editor manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Main Text*
- *References*
- *Table (if needed)*
- *Figure Legend (if needed)*
- *Figure (if needed)*

14.2. Original Articles

The Original Article manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Structured Abstract*
- *Introduction*
- *Materials and Methods*
- *Results*
- *Discussion*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.3. Review Articles

The Review Article manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Unstructured Abstract*
- *Introduction*
- *Main Text*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*

- *References*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.4. Case Reports

The Case Report manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Unstructured Abstract*
- *Introduction*
- *Case Description*
- *Discussion*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.5. Case Illustrations

The Case Illustration manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Clinical Presentation or Description*
- *Laboratory Investigations*
- *Discussion*
- *Final Diagnosis*
- *Multiple Choice Questions (MCQs)*
- *Take-Home Messages (Learning Points)*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Correct Answers to MCQs*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.6. Technical Notes

The Technical Note manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Introduction*
- *Main text*
- *Conclusions*

- *Acknowledgements*
- *References*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

Proofreading

The authors of the accepted manuscripts will receive proofs and are responsible for proofreading and checking the entire article, including tables, figures, and references. These authors should correct only typesetting errors at this stage and may be charged for extensive alterations. Page proofs must be returned within 48 hours to avoid delays in publication.

Revised Manuscripts

In many cases, the authors will be invited to make revisions to their manuscripts. The revised manuscripts must generally be received by the Editorial Board within 3 months of the date on the decision letter or they will be considered a new submission. An extension can sometimes be negotiated with the Editorial Board.

APPENDIX 2

BENEFITS OF PUBLISHING WITH ASIAN ARCHIVES OF PATHOLOGY

Asian Archives of Pathology (AAP) is an open access journal. Open Access makes your works freely available to everyone in the world. It provides a significant boost to the readership of your articles, and has been shown to have an increase in positive influence on citations and reuse. Hence, open-access leads to more recognition for our esteemed authors.

The journal has been sponsored by the Royal College of Pathologists of Thailand. We have the policy to disseminate the verified scientific knowledge to the public on a non-profit basis. Hence, we have not charged the authors whose manuscripts have been submitted or accepted for publication in our journal.

Since AAP is also a peer-reviewed journal, the submitted manuscripts will be reviewed by three members of the Editorial Board or three expert reviewers from different institutions. The decision on these manuscripts is processed very fast without any delay and in shortest possible time. The processing period is 1 – 2 weeks. These decisions of the reviewers are unbiased and the decision (reject, invite revision, and accept) letter coming from the Editorial Board is always conveyed to the authors.

APPENDIX 3

SUBMISSION OF THE MANUSCRIPTS

- Step 1:** Access www.asianarchpath.com
- Step 2:** If you did not register before, please create an account first.
- Step 3:** Login with your username and password.
- Step 4:** Click the “+ New Submission” button on the upper right-hand side of the page.
- Step 5:** Proceed to fill up the Submission Form online and follow the directions given therein.
- Step 6:** Upload your manuscript file (s).
- Step 7:** Re-check the content of your manuscript (s) and the uploaded file (s) more carefully prior to the submission. If you have submitted your manuscript file (s) incorrectly, you must contact Editor-in-Chief of Asian Archives of Pathology immediately. The Editor-in-Chief can clear the incorrect attempt and allow you another submission.
- Step 8:** Click the “Submit Manuscript” button under Important Notice.

If you have any further enquiries, please do not hesitate to contact the Journal.

APPENDIX 4

CONTACT THE JOURNAL

The Editorial Office of Asian Archives of Pathology

Department of Pathology, Floor 6, Her Royal Highness Princess Bejaratana Building
Phramongkutklao College of Medicine
317 Rajavithi Road, Rajadevi, Bangkok 10400 Thailand

Telephone: +66 (0) 90 132 2047

Fax: +66 (0) 2 354 7791

Email: editor@asianarchpath.com

APPENDIX 5

SUPPORT THE JOURNAL

Asian Archives of Pathology (AAP) has a mission of disseminating the unbiased and reliable medical knowledge on a non-profit basis. If you consider that this journal is useful for the public, you can support us by submitting your advertisements via the contact information below.

Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

The Editorial Office of Asian Archives of Pathology

Department of Pathology, Floor 6, Her Royal Highness Princess Bejaratana Building

Phramongkutklao College of Medicine

317 Rajavithi Road, Rajadevi, Bangkok 10400 Thailand

Telephone: +66 (0) 90 132 2047

Fax: +66 (0) 2 354 7791

Email: editor@asianarchpath.com

Every support, small or big, can make a difference.

Thank you



Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

MD, FRCPath (Thailand), MSc, PhD

Editor-in-Chief of Asian Archives of Pathology

ACADEMIC MEETINGS AND CONFERENCES

Announcements of academic meetings and conferences that are of interest to the readers of Asian Archives of Pathology (AAP) should be sent to the Editor-in-Chief at least 3 months before the first day of the month of issue. The contact information is shown below.

Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

The Editorial Office of Asian Archives of Pathology

Department of Pathology, Floor 6, Her Royal Highness Princess Bejaratana Building

Phramongkutklao College of Medicine

317 Rajavithi Road, Rajadevi, Bangkok 10400 Thailand

Telephone: +66 (0) 90 132 2047

Fax: +66 (0) 2 354 7791

Email: editor@asianarchpath.com

WHAT IS INSIDE THIS ISSUE?

Original Article:

Age estimation from trabecular density of proximal femur using Hounsfield Unit Values from Computerized Tomography: A postmortem study in Thai population Inthira Muangnua, Ubolwan Chansingthong, Koravik Meesilpavikkai and Pongpon Traithepchanapa	2
Preliminary Investigation of Mitragynine Storage on WhatmanTMFTA card Nat Tansrisawad, Chitipat Luangviriyayarn and Apinya Tubtimrattana	13
อุบัติการณ์และกลไกการฉีกขาดของกล้ามเนื้อในการตายเกี่ยวข้องกับความเร็ว..... กฤตยชญ์ จันทร์หอม, นิตกร โปริสวาณิชย์	19