

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002150

死后角膜褶皱变化与死后经过时间关系的实验性研究

郑吉龙¹, 霍德民¹, 王玖琳², 刘夏¹, 腾月¹, 赵开放¹

(1. 中国刑事警察学院法医学系, 沈阳 110035; 2. 南昌市公安局刑事侦查大队, 南昌 330000)

【摘要】目的:探讨应用数字图像分析技术研究死后角膜褶皱时序性变化规律并筛选合适量化指标。**方法:**兔缢死后随机分为睁眼组和闭眼组, 每组 20 只, 置于 20 °C 暗室内。于死后 72 h 内每隔 1 h, 使用数码相机采集兔角膜图像, 应用 MATLAB 软件分割出角膜瞳孔区域图像, 并提取反映死后角膜褶皱变化的 4 项图像纹理特征参数值(CON、COR、ASM、HOM)。比较死后睁、闭眼对各参数值随死后经过时间(postmortem interval, PMI)的变化趋势影响, 分析各特征参数(y)与 PMI(x)的相关性。**结果:**不论死后睁眼或闭眼, CON 随 PMI 呈上升趋势, COR 呈下降趋势, 但睁眼组 CON、COR 值较闭眼组变化迅速且幅度大; CON、COR 值与 PMI 相关性较好($P<0.05$), 回归方程分别为 $y=0.002\ 4x^2-0.026\ 8x+0.467\ 3$ ($R^2=0.978$, 睁眼组)、 $y=0.000\ 4x^2-0.010\ 6x+0.304\ 4$ ($R^2=0.904$, 闭眼组), $y=-0.000\ 4x^2+0.014\ 2x+3.893\ 8$ ($R^2=0.938$, 睁眼组)、 $y=-3E-05x^2+0.001\ 2x+3.980\ 8$ ($R^2=0.852$, 闭眼组); ASM、HOM 值与 PMI 关系无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**个体死后角膜褶皱发生时序性变化, 纹理特征 CON、COR 与死后经过时间相关性较好。

【关键词】角膜褶皱; 死亡时间; 角膜瞳孔区域; 纹理特征; 数字图像分析

【中图分类号】R89

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-07-02

An experimental study on the association between postmortem corneal fold change and postmortem interval

Zheng Jilong¹, Huo Demin¹, Wang Jiulin², Liu Xia¹, Teng Yue¹, Zhao Kaifang¹

(1. Department of Forensic Medicine, School of China Criminal Investigation Police University;

2. Criminal Investigation Brigade of Nanchang Public Security Bureau)

【Abstract】Objective: To investigate the temporal variation of corneal folds after death using the digital image analysis technique, and to screen out appropriate quantitative indicators. **Methods:** Rabbits were randomly divided into open-eye group and closed-eye group after hanging, with 20 rabbits in each group, and then they were placed in a dark room at a temperature of 20 °C. A digital camera was used to capture rabbit corneal images at a one-hour interval within 72 hours after death. MATLAB software was used to obtain the images of the pupil region of the cornea, and the four parameters of image texture features (CON, COR, ASM, and HOM) which reflected the postmortem change of corneal folds were extracted dynamically. The two groups were compared in terms of the variation trend of each parameter with postmortem interval (PMI), and the correlation between each parameter(y) and postmortem interval(x) was analyzed. **Results:** CON increased with PMI and COR decreased with PMI in both groups, but compared with the closed-eye group, the open-eye group had significantly faster and greater changes. CON and COR were significantly correlated with PMI ($P<0.05$), and the regression equations were $y=0.002\ 4x^2-0.026\ 8x+0.467\ 3$ (CON, $R^2=0.978$ in the open-eye group), $y=0.000\ 4x^2-0.010\ 6x+0.304\ 4$ (CON, $R^2=0.904$ in the closed-eye group), $y=-0.000\ 4x^2+0.014\ 2x+3.893\ 8$ (COR, $R^2=0.938$ in the open-eye group), and $y=-3E-05x^2+0.001\ 2x+3.980\ 8$ (COR, $R^2=0.852$ in the closed-eye group). ASM and HOM had no significant correlation with PMI ($P>0.05$). **Conclusion:** The temporal variation of corneal folds is observed after death, and the texture features of CON and COR are well correlated with PMI.

【Key words】 corneal fold; postmortem interval; corneal-pupil region; texture feature; digital image analysis

死亡时间(postmortem interval, PMI)推断是法

作者介绍: 郑吉龙, Email: lxts412@163.com,

研究方向: 法医病理学方向。

基金项目: 公安部技术研究计划资助项目(编号: 2016JSYJC56); 辽宁网络安全执法协同创新中心资助项目。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190510.1529.064.html>
(2019-05-13)

医学领域亟待解决的难题之一, 准确的 PMI 推断对于命案的成功侦破具有重要意义。角膜位置浅表, 便于观察, 同时死后角膜混浊作为与 PMI 相关的早期尸体现象之一^[1], 引起法医学者们的广泛重视。传统法医实践中, 往往凭借人为经验划分角膜混浊程度大致判断 PMI, 其预测准确性较差^[2]。有学者探索

量化死后角膜组织病理学结构改变^[3-4]及核酸降解改变^[5]等推断 PMI,但由于仪器设备成本高,且需经过专门培训的技术人员实施操作,未能推广应用。近年来,随着数字图像分析技术的飞速发展与应用,有学者探讨死后角膜图像清晰度变化,分析了多项指标如灰度值^[6]、RGB^[7-9]等与 PMI 的关系,取得一定成果。本研究基于 MATLAB 软件实现角膜瞳孔区域图像分割,并提取反映死后角膜褶皱变化的 4 项图像纹理特征 CON、COR、ASM 和 HOM 数值,以量化个体死后角膜褶皱变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年新西兰大白兔 40 只,雌雄不限,体质量 2.3~2.8 kg,购自中国医科大学实验动物中心。所有家兔均未患眼部疾病。在 20℃室温条件下,适应性饲养 1 周后,参照文献^[10]方法构建家兔缢死模型。将家兔死后置于温度 20℃、湿度 30%的暗室内,随机分为睁眼和闭眼 2 组,每组 20 只。睁眼组家兔用止血钳将眼睑固定并拉开,使角膜充分暴露。闭眼组家兔眼睑除采集角膜图像外,全程保持闭合。所有动物实验均按照中国刑事警察学院实验动物护理使用指南进行。

1.2 实验方法

1.2.1 角膜图像采集 参考文献^[9]方法,将数码相机(2416 万像素,分辨率 6 000×4 000,D5 300,日本尼康公司)垂直固定于角膜正上方 8.0 cm 处,LED 线型台灯(14 W,5700 K 色温,中国莱维公司)置于角膜斜上方。于兔死后 72 h 内每隔 1 h 采集角膜图像,每只兔眼各时间点分别采集 3 张。同一时间点的每张照片采集时间差在 5 s 以内。图像采集过程中相机各项拍摄参数(白平衡、感光度、对焦模式、曝光模式)均设置为自动模式,图像以 jpg 格式储存于相机中。

1.2.2 数字图像分析 基于 MATLAB(R2014b, Math Works, USA)软件,设计相关计算机程序代码,采用 Otsu 阈值分割法^[11-13],并加入卷积运算方法^[14-15],以提取兔角膜瞳孔区域图像(图 1)。

采用灰度共生矩阵法^[16-17],获取兔死后角膜瞳孔区域图像的 4 项纹理特征参数值(每个时间点的各项参数值取 3 张

图像检测的平均值)。**①对比度(contrast, CON)**^[18-20]:反映图像纹理清晰度和纹理沟纹深浅程度。图像纹理越清晰、沟纹越深,CON 值越大;反之则越小。

②相关度(correlation, COR)^[19-20]:反映度量空间灰度共生矩阵元素在行列方向上的相似程度。当矩阵元素值均匀相等时,COR 值大;相反,若矩阵元素值相差很大,则 COR 值小。

③二阶矩(angular second moment, ASM)^[21]:灰度共生矩阵元素值的平方和,反映图像灰度分布均匀程度和纹理粗细度。若共生矩阵的所有值均相等,则 ASM 值小;相反,若矩阵各值相差很大,则 ASM 值大。**④平稳度(homogeneity, HOM)**^[22]:反映图像中单纹理的粗糙度。粗纹理的 HOM 值较大,细纹理的 HOM 值较小。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,绘制各参数值随 PMI 变化趋势图,并以 4 项纹理特征 CON、COR、ASM 及 HOM 值(y)为因变量,以 PMI(x)为自变量,分别建立 4 项纹理特征与 PMI 关系的曲线回归方程。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 死后兔角膜瞳孔区域图像褶皱肉眼变化

死后 72 h 内,睁眼组兔角膜瞳孔区域图像褶皱较闭眼组出现早且发展程度快(表 1)。但死后角膜干燥变化过程中的褶皱数量、褶皱纹理粗细及纹理沟深等细节变化,凭肉眼观察难以量化描述。

2.2 4 项纹理特征参数时序性变化趋势分析

死后 72 h 内,睁眼组兔角膜瞳孔区域图像纹理特征 CON 随 PMI 呈上升趋势,死后 20 h 内上升缓慢,20 h 后上升趋势加快(图 2A);COR 随 PMI 呈下降趋势,死后 40 h 内下降不明显,之后下降趋势迅速(图 2B)。ASM、HOM 的各时间点测量值无明显分布规律(图 2C、D)。死后 72 h 内,闭眼组兔角膜瞳孔区域图像 4 项纹理特征参数变化趋势与睁眼组基本一致,区别在于睁眼组 CON、COR 值均较闭眼组随 PMI 变化迅速且幅度大(图 2A、B)。

2.3 4 项纹理特征参数与 PMI 关系的回归分析

表 2 分析结果显示,不论睁眼或闭眼,CON、COR 与 PMI 关系的回归方程判定系数较高,其中 CON 与 PMI 关系的回归方程判定系数最高(睁眼组 $R^2=0.978$,闭眼组 $R^2=0.904$);ASM、HOM 与 PMI 关系无统计学意义($P>0.05$)。

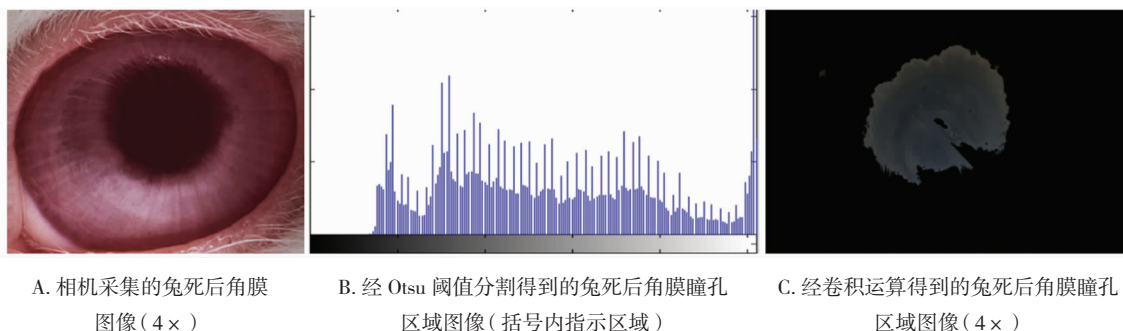


图 1 兔死后角膜瞳孔区域图像分割的处理步骤

表 1 死后 72 h 内兔角膜瞳孔区域图像褶皱变化肉眼观察结果

PMI (h)	睁眼组	闭眼组
0~10	未见褶皱出现	未见褶皱出现
11~14	开始出现细微褶皱	未见褶皱出现
15~25	褶皱数量逐渐增多	至死后 22~25 h, 开始出现细微褶皱
26~40	褶皱数量明显增多、纹理明显加深; 至死后 33~35 h, 出现波浪样改变	褶皱数量逐渐增多、纹理逐渐加深; 至死后 37~40 h, 出现波浪样改变
41~60	褶皱数量变化难以分辨, 褶皱纹理进一步变粗加深	褶皱数量明显增加、纹理明显变粗加深
61~72	肉眼难以分辨褶皱程度变化	肉眼难以分辨褶皱程度变化

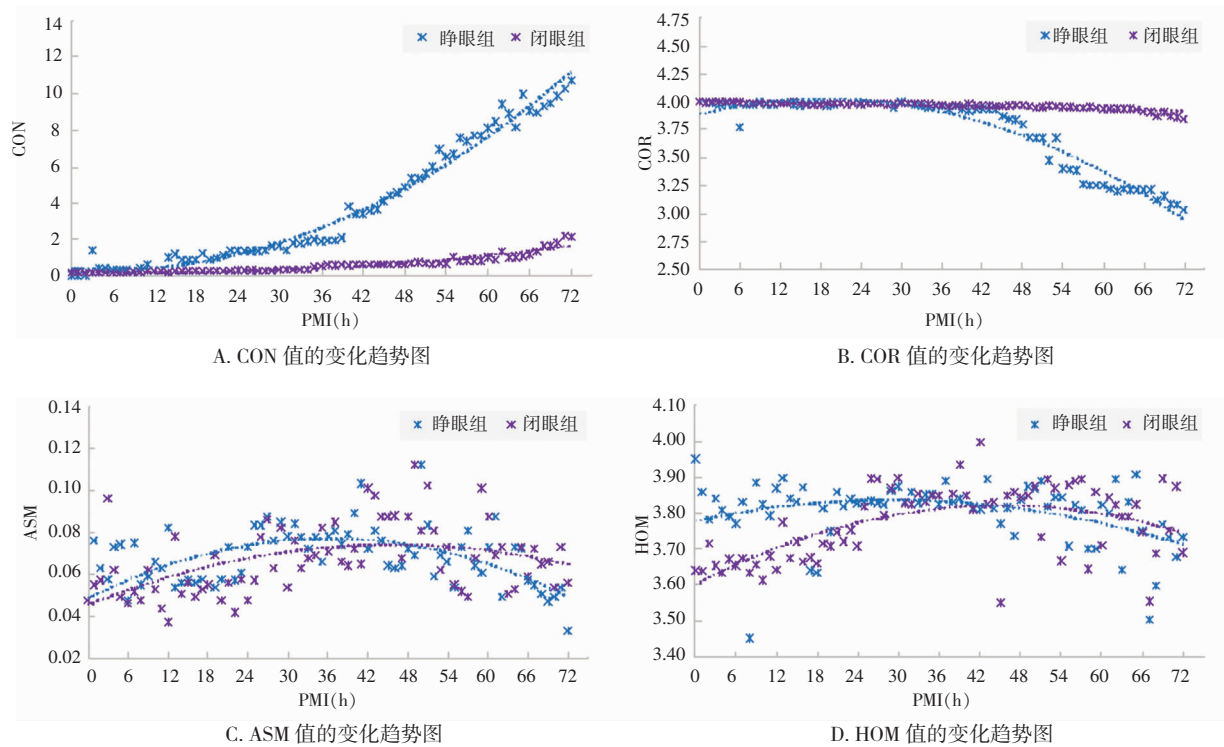


图 2 死后 72 h 内兔角膜瞳孔区域图像 4 项纹理特征参数变化趋势图

表 2 死后 72 h 内兔角膜瞳孔区域图像 4 项纹理特征与 PMI 关系的回归分析结果

参数	睁眼组			闭眼组		
	回归方程	R^2 值	P 值	回归方程	R^2 值	P 值
CON	$y=0.002\ 4x^2-0.026\ 8x+0.467\ 3$	0.978	0.000	$y=0.000\ 4x^2-0.010\ 6x+0.304\ 4$	0.904	0.000
COR	$y=-0.000\ 4x^2+0.014\ 2x+3.893\ 8$	0.938	0.000	$y=-3E-05x^2+0.001\ 2x+3.980\ 8$	0.852	0.000
ASM	$y=-2E-05x^2+0.001\ 6x+0.048\ 7$	0.328	0.235	$y=-1E-05x^2+0.001\ 2x+0.045\ 6$	0.227	0.481
HOM	$y=-7E-05x^2+0.003\ 9x+3.779\ 1$	0.146	0.493	$y=-0.0001x^2+0.009\ 6x+3.603\ 3$	0.293	0.199

注: y 表示不同纹理特征参数, x 表示 PMI (h)

3 讨论

研究发现,死后 72 h 内兔角膜逐渐混浊且表面出现褶皱,分析与个体死后角膜内皮细胞肿胀或脱落,同时基质不规则增厚及胶原纤维排列紊乱有关^[1-4]。有研究采用数字图像技术分析死后角膜图像清晰度变化以推断 PMI^[6-9],但尚未具体分析死后角

膜褶皱变化与 PMI 关系。本研究应用 MATLAB 软件分割出兔死后角膜瞳孔区域图像,并提取反映死后角膜褶皱变化的 4 项图像纹理特征参数值 (CON、COR、ASM、HOM),以建立死后角膜褶皱变化与 PMI 的量效关系。

考虑虹膜纹理对死后角膜图像纹理特征检测数据真实性的影响,本研究并未直接分析整个角膜区域图像纹理特征参数值,而是基于 MATLAB 软件,

通过 Otsu 阈值分割法^[11-13]获取角膜瞳孔区域图像加以分析。该方法不受图像对比度和亮度变化影响,是阈值自动选取的最优方法之一^[12-13]。同时,结合图像卷积运算方法^[14-15],即通过对阈值分割后的图像与原图像进行相乘求和,使两图像函数的傅里叶变换乘积等于它们卷积后的傅里叶变换,以求降低目标图像的噪点影响,实现对目标区域图像特征加权叠加。研究表明,应用上述图像处理方法取得的目标图像和背景图像分离效果较好,能保证完整提取目标区域图像,避免图像信息丢失。

研究比较了死后睁眼和闭眼对各纹理特征数值随 PMI 变化趋势的影响。结果发现,不论睁眼或闭眼,CON 随 PMI 呈上升趋势而 COR 呈下降趋势,但睁眼组 CON、COR 值变化速度和幅度均显著大于闭眼组。究其原因,一方面,CON 值与图像的纹理清晰程度及纹理沟深程度成正比^[18-20],COR 值与图像的平整程度成反比^[19-20],随 PMI 延长,肉眼可见角膜瞳孔区域褶皱程度加重,反映在图像上表现为 CON 随 PMI 呈上升趋势而 COR 呈下降趋势。另一方面,死后睁眼状态下角膜直接暴露于空气中,其表面水分蒸发速度加快,导致角膜干燥程度较闭眼组显著,反映在图像上表现为睁眼组 CON、COR 值较闭眼组变化速度快且幅度大,这与肉眼观察到睁眼组角膜褶皱发生与发展程度快于闭眼组是一致的。

研究发现,不论睁眼或闭眼,死后 72 h 内角膜瞳孔区域图像纹理特征 CON、COR 与 PMI 相关性较好,ASM、HOM 与 PMI 关系无统计学意义。分析,CON 与 COR 为反映图像整体纹理特征的良好指标^[18-20],而 ASM 与 HOM 主要反映图像单纹理的粗细度或粗糙度^[21-22],可能不适合反映死后角膜瞳孔区域图像的整体褶皱程度变化,故表现为 CON、COR 与 PMI 更具相关性。研究还发现,不论死后睁眼或闭眼,CON 均为与 PMI 相关性最高的指标,提示 CON 更适合用于量化分析死后角膜褶皱时序性变化。

本研究通过数字图像技术分析反映个体死后角膜褶皱程度的 4 项图像纹理特征参数的变化规律,为死后角膜干燥变化过程研究提供了客观方法及量化指标。今后的研究将进一步对比不同图像处理方法对检测结果的影响,并探讨利用死后角膜褶皱变化推断 PMI 的可行性。

参 考 文 献

[1] Madea B. Methods for determining time of death[J]. *Forensic Sci Med Pathol*, 2016, 12(4): 451-485.
[2] 安志远,王 春,谭 勇,等. 死后眼组织变化与死亡时间推断[J]. *中国法医学杂志*, 2016, 31(6): 583-586.

[3] 李晓娜,郑吉龙,胡忠国,等. 兔死后角膜厚度与死亡时间的关系[J]. *法医学杂志*, 2013, 29(4): 241-243.
[4] Emanuele NP, Matteo N, Ernesto D, et al. Postmortem corneal thickness measurements with a portable optical coherence tomography system: a reliability study[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 30428.
[5] 郑吉龙,张晓东,安志远,等. 兔死后角膜内皮细胞核 DNA 降解随死亡时间变化规律[J]. *中国法医学杂志*, 2010, 25(4): 220-222.
[6] 王晓亮,方 超,罗思敏. 猪眼角膜混浊程度变化与 PMI 推断[J]. *广东公安科技*, 2011, 19(2): 14-17.
[7] 郑吉龙,霍德民,王玖琳,等. 兔死后角膜瞳孔区域图像颜色的时序性变化规律[J]. *南方医科大学学报*, 2018, 38(10): 122-125.
[8] Cantürk İ, Çelik S, Sahin MF, et al. Investigation of opacity development in the human eye for estimation of the postmortem interval[J]. *Biocybernetics & Biomedical Engineering*, 2017, 37(3): 559-565.
[9] Kawashima W, Hatake K, Kudo R, et al. Estimating the time after death on the basis of corneal opacity[J]. *J Forensic Res*, 2015, 6(1): 269.
[10] 付稚莹,王泽惠,姜 琦,等. 家兔缢死后不同时间血气分析检测值的变化[J]. *辽宁医学院学报*, 2015, 36(6): 1-2, 7.
[11] Bahadarkhan K, Akhaliq A, Shahid M. A morphological hessian based approach for retinal blood vessels segmentation and denoising using region based otsu thresholding[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0158996.
[12] Chen Q, Zhao L, Lu J, et al. Modified two-dimensional Otsu image segmentation algorithm and fast realisation[J]. *Iet Image Processing*, 2012, 6(4): 426-433.
[13] Renjith A, Manjula P, Mohan Kumar P. Brain tumour classification and abnormality detection using neuro-fuzzy technique and Otsu thresholding[J]. *Journal of Medical Engineering & Technology*, 2015, 39(8): 498-507.
[14] Dong C, Loy CC, He K, et al. Image super-resolution using deep convolutional networks[J]. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, 2016, 38(2): 295-307.
[15] Xu J, Luo X, Wang G, et al. A deep convolutional neural network for segmenting and classifying epithelial and stromal regions in histopathological images[J]. *Neurocomputing*, 2016, 191: 214-223.
[16] 焦蓬蓬,郭依正,刘丽娟,等. 灰度共生矩阵纹理特征提取的 Matlab 实现[J]. *计算机技术与发展*, 2012, 22(11): 169-171, 175.
[17] Shin YG, Yoo J, Kwon HJ, et al. Histogram and gray level co-occurrence matrix on gray-scale ultrasound images for diagnosing lymphocytic thyroiditis[J]. *Computers in Biology and Medicine*, 2016, 75: 257-266.
[18] Zhang X, Gao X, Liu BJ, et al. Effective staging of fibrosis by the selected texture features of liver: which one is better, CT or MR imaging?[J]. *Comput Med Imaging Graph*, 2015, 46: 227-236.
[19] Wei G, Cao H, Ma H, et al. Content-based image retrieval for lung nodule classification using texture features and learned distance metric[J]. *Journal of Medical Systems*, 2018, 42(1): 13.
[20] Yu XT, Rui XP, Fu SX, et al. Matching methods of classic hail echo cores of weather radar[J]. *Natural Hazards*, 2015, 76(1): 215-234.
[21] Zhou J, Rui YG, Sun M, et al. The Effects of GLCM parameters on LAI estimation using texture values from Quickbird Satellite Imagery[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 7366.
[22] Tang KM, Chau KH, Kan CW, et al. Assessing the accumulated stickiness magnitude from fabric-skin friction: effect of wetness level of various fabrics[J]. *R Soc Open Sci*, 2018, 5(8): 180860.

(责任编辑: 冉明会)