

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002568

兔生前骨骼肌钝挫伤死后温度分布场变化的实验性研究

郑吉龙¹, 商庆发¹, 张启翔¹, 李海鹏², 张文骥¹, 王云昕¹

(1. 中国刑事警察学院法医学系法医病理教研室, 沈阳 110035;

2. 包头市公安局九原区公安分局刑事侦查大队技术中队, 包头 014060)

【摘要】目的:探讨利用红外热成像技术于死后早期检测个体骨骼肌钝挫伤热成像变化,以客观量化分析其随死亡时间变化的规律。**方法:**制备兔骨骼肌钝挫伤损伤模型后 6 h,空气栓塞处死家兔,于损伤即刻、死后即刻、死后 6 h、死后 24 h、死后 3 d、死后 6 d 应用红外热成像仪对家兔伤肢及健肢进行红外热成像及组织病理学检查,提取平均温度(average temperature, T_{mean})、最高温度(maximum temperature, T_{max})值,分析图像变化原因。**结果:**损伤即刻钝挫伤中心区红外热成像黄色区域面积增大、轮廓可见;死后即刻损伤区域红外热成像图像呈暗红色;死后 6 h 损伤轮廓呈圆形可辨别;死后 24 h~6 d 损伤区域轮廓不可识别;组内不同时间点红外热数据值有统计学差异($F_{T_{mean}}=1\ 162.040, P_{T_{mean}}=0.000; F_{T_{max}}=1\ 217.042, P_{T_{max}}=0.000$);家兔伤肢组 T_{mean} 、 T_{max} 较健肢组均降低且具有统计学差异($F_{T_{mean}}=51.440, P_{T_{mean}}=0.000; F_{T_{max}}=69.808, P_{T_{max}}=0.000$);检测时间与组别存在交互作用($F_{T_{mean}}=19.040, P_{T_{mean}}=0.000; F_{T_{max}}=15.769, P_{T_{max}}=0.000$);伤肢损伤区域 T_{mean} 、 T_{max} 值于死后 6 h 左右升高达峰值,之后逐渐下降,死后 24 h、3 d、6 d 逐渐趋于稳定。**结论:**个体死后不同经过时间检测生前骨骼肌钝挫伤,其损伤区域红外热成像及温度值参数变化具有一定时间规律性,为死后推断个体骨骼肌钝挫伤经过时间提供了无损的客观、量化检验方法。

【关键词】法医病理学;骨骼肌钝挫伤;红外热成像;损伤经过时间**【中图分类号】**R89**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2019-11-25

Experimental study on changes of postmortem temperature distribution field of skeletal muscle blunt contusion before death in rabbits

Zheng Jilong¹, Shang Qingfa¹, Zhang Qixiang¹, Li Haipeng², Zhang Wenji¹, Wang Yunxin¹

(1. Teaching and Research Section of Forensic Medicine, Criminal Investigation Police University of China;

2. Technical Squadron of Criminal Investigation Brigade, Public Security Subbureau of Jiuyuan District, Public Security Bureau of Baotou)

【Abstract】Objective: To investigate the thermal imaging change of skeletal muscle blunt contusion in the early postmortem stage by using infrared thermal imaging technology, so as to obtain the regularity of its change with the time of death via objective and quantitative analysis. **Methods:** Rabbit models with blunt contusion were established and killed by air embolization after 6 h. the skeletal muscle blunt injury model was prepared. Infrared thermal imaging and histopathology examination of injured and healthy limbs were performed by infrared thermal imager immediately after injury, immediately after death, 6 h after death, 24 h after death, 3 d after death and 6 d after death. Average temperature (T_{mean}) and maximum temperature (T_{max}) were extracted and the reason of image change was analyzed. **Results:** Immediately after the injury, the yellow region of central blunt contusion was increased, with visible outline. Immediately after death, the infrared thermal image of the damaged area turned into dark red. Damage contour at 6h after death was circular and distinguishable. The contour of damaged area was not recognizable during 24 h-6 d. There were significant differences in infrared thermal data values at different time points among groups ($F_{T_{mean}}=1\ 162.040, P_{T_{mean}}=0.000; F_{T_{max}}=1\ 217.042, P_{T_{max}}=0.000$). T_{mean} and T_{max} in the injured limb group were lower than those in the healthy limb group, and there were significant differences ($F_{T_{mean}}=51.440, P_{T_{mean}}=0.000; F_{T_{max}}=69.808, P_{T_{max}}=0.000$). There was an interaction of detection time among groups ($F_{T_{mean}}=19.040, P_{T_{mean}}=0.000; F_{T_{max}}=15.769, P_{T_{max}}=0.000$). T_{mean} and T_{max} value in the injured limb were reached the peak at about 6 h after death, then gradually decreased, and gradually stabilized at 24 h, 3 d and 6 d after death. **Conclusion:** Changes of infrared thermal imaging and temperature value parameter of

作者介绍: 郑吉龙, Email: lxts412@163.com,

研究方向: 法医病理学。

基金项目: 公安部技术研究计划资助项目(编号: 2016JSYJC56); 大学生创新能力提升资助项目(编号: 201910175075)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200618.1632.046.html>

(2020-06-19)

skeletal muscle blunt contusion in different time after death have certain time regularity, which provides a nondestructive objective and quantitative testing method for predicting the time of skeletal muscle blunt contusion of individual after death.

【Key words】forensic pathology; skeletal muscle blunt contusion; infrared thermal imaging; time of injury

在暴力性伤害致死的案件中,伤后存活时间及死后经过时间(postmortem interval, PMI)的综合推断对确定案发时间和划定侦查范围乃至案件的侦破均具有重要意义^[1-2]。同时,损伤的鉴定和评估对判断死因、死亡方式、案件性质也十分关键^[3-5]。然而,在法医实际工作中,往往不能于个体死后即刻进行尸检,并且某些损伤检测技术也可能会由于死后变化而影响其实际应用价值。本研究旨在动态观察死后不同经过时间对兔生前骨骼肌钝挫伤红外热成像检测的影响,探讨个体死后骨骼肌钝挫伤的红外热温度分布场信息随死亡时间的变化规律,以为法医学检验提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 实验分组和骨骼肌钝挫伤动物模型的制备

健康 6 月龄家兔 30 只(辽宁长生生物公司提供),雌雄不限,体质量 2.1~2.6 kg。将实验分为健肢组和伤肢组,参照 Deane MN 等^[6]报道的方法制备家兔骨骼肌钝挫伤模型:双后肢腓肠肌待打击区剃毛备皮后,兔称重俯卧位固定在兔架上,于耳缘静脉缓慢注射 20% 乌拉坦溶液(5.0 mL/kg),当兔角膜反射减弱,疼痛反射消失时,将兔双侧后小腿置于伸膝、踝背曲 90° 的位置,确定能充分暴露其腓肠肌,用砝码(500 g)垂直击打左后肢腓肠肌的中段区域(中心距跟骨约 8.0 cm)。损伤区域皮肤完整,触之无胫腓骨折。给予各组家兔正常进食水,并于伤后 6 h 经耳缘静脉通过空气栓塞的方式,注射空气处死家兔。置室温 20~22 °C、湿度 70% 的密闭环境保存尸体。于伤后不同经过时间(损伤即刻、死后即刻、死后 6 h、死后 24 h、死后 3 d、死后 6 d)采集健肢(右后肢)及伤肢(左后肢)红外热图像。上述各时间点分别从每组家兔中随机抽取 2 只,待红外热图像采集结束后立即进行损伤区局部解剖。

1.2 红外热成像及数字影像定量分析

采用红外热像仪(Y3939W,重庆伟联科技)采集伤肢损伤区域及对侧健肢对应区域红外热图像。采集前调整红外热像仪的摄像头与实验家兔之间的距离,使得距离始终保持 0.5 m;固定红外热像仪探头接收红外光谱方向,使之垂直于肢体方向,温窗宽度设置为自动,色码设置为彩色 0.05;同时保持操作人员和实验动物之间的距离以避免外界热源的影响。分别于损伤即刻、死后即刻、死后 6 h、死后 24 h、死后 3 d、死后 6 d 将家兔转移至密闭室温黑暗的环境中,通过控制红外热像仪的电脑 ATIR M301 红外热成像系统对实验动物双后肢进行图像采集。采集获得的红外热图像以 jpg 格式保存于电脑数据库中。利用 ATIR M301 系统自带的专门温度检测软件,获得实验动物伤肢损伤区域的平均温度(average temperature, T_{mean})、最高温度(maximum temperature, T_{max})作为实验的观测指标,同时监测记录健肢相同区域温度值参数。

1.3 局部解剖及组织病理学检查

于打击中心区域取 1.0 cm × 0.5 cm × 0.5 cm 的腓肠肌,置于福尔马林溶液中固定,再经脱水透明、浸蜡包埋制成石蜡块,进行切片(5 μm)。恒温水浴锅铺片、展片,45 °C 温箱烤片,HE 染色。

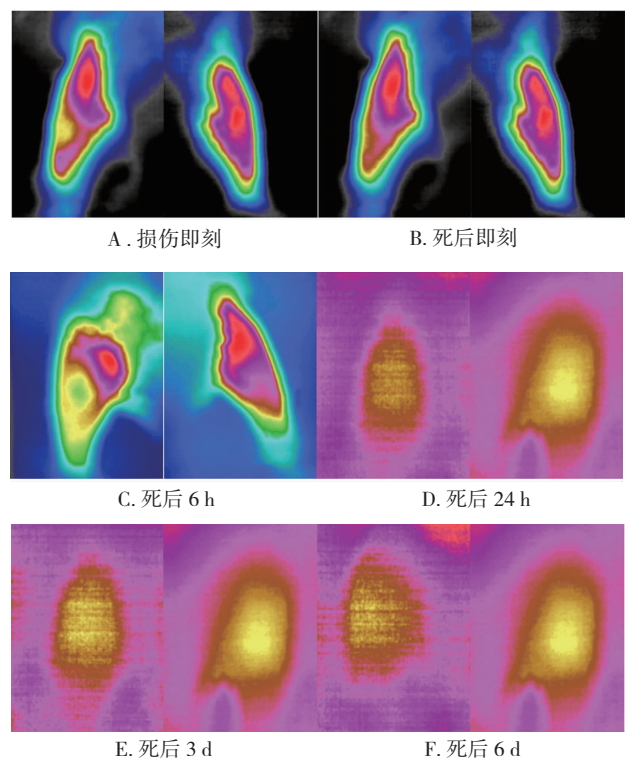
1.4 统计学处理

应用 SPSS 19.0 软件分析兔空气栓塞死后骨骼肌钝挫伤区域 T_{mean} 和 T_{max} 随 PMI 的变化规律, T_{mean} 、 T_{max} 以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)的方式表示,健肢和伤肢在死后经过不同时间的差异采用重复度量方差分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 红外热成像可视化改变

伤肢与对侧健肢相比,损伤即刻钝挫伤中心区黄色区域面积增大,轮廓呈半圆形,红色高温区域消失,紫色区域面积减少,对侧健肢呈红紫色高温区(图 1A);死后即刻(伤后 6 h)损伤区域红外热成像图像变成暗红色,轮廓不清,对侧健肢呈红紫色高温区(图 1B);死后 6 h 损伤区域红外热成像图像变为黄绿色,损伤轮廓呈圆形可辨别,对侧健肢对应区域呈紫色(图 1C);死后 24 h~6 d 损伤区域红外热成像图像呈黄褐色,黄褐色区域面积随死后经过时间延长逐渐增大,损伤区域轮廓不可识别,对侧健肢红外热成像图像呈黄色,图像颜色分布视之无明显变化(图 1D~F)。



注:每幅图片左侧为伤肢,右侧为健肢

图 1 兔骨骼肌钝挫伤不同经过时间双后肢红外热成像

2.2 钝挫伤区域红外热图像数字影像定量分析

家兔健肢和伤肢的 T_{mean} 、 T_{max} 值随死亡时间变化的统计学分析结果见表 1、表 2、图 2、图 3。组内不同时间点红外热数据值有统计学差异 ($F_{T_{mean}}=1\ 162.040$, $P_{T_{mean}}=0.000$; $F_{T_{max}}=1\ 217.042$, $P_{T_{max}}=0.000$); 家兔伤肢组 T_{mean} 、 T_{max} 较健肢组均降低且具有统计学差异 ($F_{T_{mean}}=51.440$, $P_{T_{mean}}=0.000$; $F_{T_{max}}=69.808$, $P_{T_{max}}=0.000$); 检测时间与组别存在交互作用 ($F_{T_{mean}}=19.040$, $P_{T_{mean}}=0.000$; $F_{T_{max}}=15.769$, $P_{T_{max}}=0.000$)。伤肢损伤区域 T_{mean} 、 T_{max} 值于死后 6 h 左右升高达峰值, 之后逐渐下降, 死后 24 h、3 d、6 d 逐渐趋于稳定; 健肢对应区域 T_{mean} 、 T_{max} 值在死后 24 h 内呈下降趋势, 死后 24 h、3 d、6 d 趋于稳定。

2.3 红外热成像与局部解剖、组织病理学检查所见比对结果

红外热成像与局部解剖、组织病理学检查所见比对结果见表 3。伤侧肢体红外热成像从损伤即刻到死后即刻 T_{mean} 、 T_{max} 降低; 死后即刻至死后 24 h T_{mean} 、 T_{max} 先升高后逐渐下降, 伤侧肢体低于健肢对照肢体。

3 讨论

在虐待儿童、性侵、交通事故等暴力死亡案件中, 死者常发生软组织钝挫伤。作为外力作用的证据, 骨骼肌钝挫伤的检验具有重要意义^[7]。然而, 由于皮肤颜色和损伤程度等因素影响, 肉眼往往不易观察到挫伤的出血情况, 因此国内外法医学者也致力于研究钝挫伤的检测方法及其损伤经过时间的推断方法^[8-10]。值得注意的是, 由于法医学实践中, 尸检往往具有滞后性, 对伤后存活时间及死后经过时间综合分析, 才能提示准确的案发时间。本实验通过红外热成像技术无创伤地动态监测骨骼肌钝挫伤温度分布场的变化, 结合计算机图像分析技术探讨其随死亡时间变化的规律。

表 1 兔骨骼肌钝挫伤不同经过时间红外热成像 T_{mean} 量化分析 ($n=30$, $^{\circ}\text{C}$, $\bar{x} \pm s$)

	损伤即刻	死后即刻	死后 6 h	死后 24 h	死后 3 d	死后 6 d	F 值	P 值
健肢	31.85 ± 0.92	32.22 ± 0.95	31.13 ± 0.99	24.47 ± 1.59	24.64 ± 1.71	24.65 ± 1.55	621.963	0.000
伤肢	29.60 ± 1.27	27.92 ± 1.62	29.84 ± 1.31	22.34 ± 1.08	21.96 ± 1.23	21.92 ± 1.14	561.963	0.000
F 值	组间: 51.440		不同检测时间: 1 162.040		检测时间 × 组别: 19.040			
P 值	0.000		0.000		0.000			

表 2 兔骨骼肌钝挫伤不同经过时间红外热成像 T_{max} 量化分析 ($n=30$, $^{\circ}\text{C}$, $\bar{x} \pm s$)

	损伤即刻	死后即刻	死后 6 h	死后 24 h	死后 3 d	死后 6 d	F 值	P 值
健肢	34.75 ± 1.17	35.01 ± 1.14	32.56 ± 1.15	25.26 ± 1.28	25.10 ± 1.63	24.90 ± 1.52	628.814	0.000
伤肢	32.23 ± 1.25	30.50 ± 1.15	31.32 ± 1.09	23.00 ± 1.05	22.71 ± 1.28	22.80 ± 1.06	602.802	0.000
F 值	组间: 69.808		不同检测时间: 1 217.042		检测时间 × 组别: 15.769			
P 值	0.000		0.000		0.000			

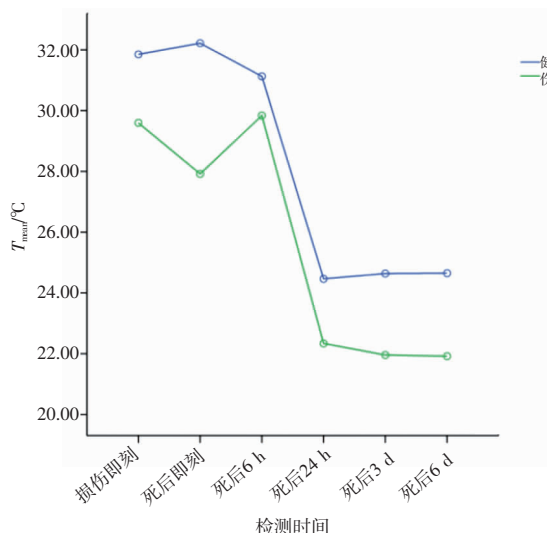
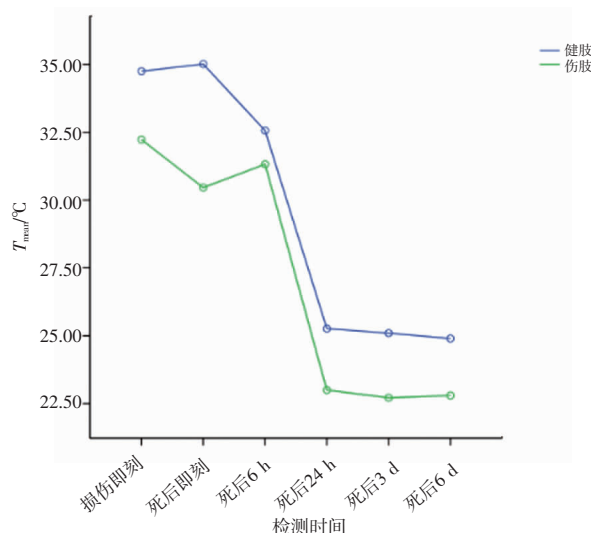
图 2 T_{mean} 的时间因素和分组因素交互效应轮廓图图 3 T_{max} 的时间因素和分组因素交互效应轮廓图

表 3 兔骨骼肌钝挫伤不同经过时间局部解剖、组织病理学检查和红外热所见对比

	局部解剖	组织病理学	红外热成像
损伤即刻	损伤区皮肤皮内出血,解剖见肌肉组织内点片状出血	损伤即刻骨骼肌纤维排列紊乱,部分骨骼肌纤维断裂,可见肌肉组织内出血	损伤即刻温度值 T_{mean} 、 T_{max} 低于健肢对照
死后即刻	损伤区局部肿胀显著,解剖见骨骼肌外膜出血较多,血肿形成,肌肉组织水肿明显	死后即刻骨骼肌肉组织、肌间隙内出血	死后即刻损伤区域 T_{mean} 、 T_{max} 低于健肢对照,低于损伤即刻
死后 6~24 h	肌间隙凝血块形成,凝血块周围肌肉组织血液浸染	骨骼肌细胞逐渐肿胀、碎裂、断裂、溶解、融合,间质结缔组织胶原纤维逐渐肿胀、不规则断裂、溶解	死后 6 h 损伤区域 T_{mean} 、 T_{max} 数值高于死后即刻,低于健肢对照
死后 24 h~3 d	局部皮肤皮革样化,肌肉组织呈暗红色,出血弥漫浸润	肌纤维逐渐融合、肌间隙逐渐减小	死后 24 h 损伤区域 T_{mean} 、 T_{max} 数值低于死后 6 h,低于健肢对照
死后 3~6 d	死后 3 d 局部皮肤皮革样改变,肌肉组织呈黑红色,肌肉组织自溶;死后 6 d 损伤区皮肤尸绿形成,肌肉组织腐败自溶	肌纤维出现大片融合,染色不均	死后 3 d 损伤区域 T_{mean} 、 T_{max} 数值低于死后 24 h,低于健肢对照;死后 6 d 损伤区域 T_{mean} 、 T_{max} 数值低于死后 3 d,低于健肢对照

实验结果表明,红外热成像技术于损伤即刻就能发现骨骼肌钝挫伤,损伤即刻骨骼肌钝挫伤区域 T_{mean} 、 T_{max} 值较健肢降低,解剖见肌肉组织内出血,镜下见肌纤维排列紊乱或断裂,说明实验模型制备成功。损伤即刻钝挫伤中心区黄色区域面积增大,轮廓可见,分析与受打击后血管痉挛血运减少有关^[1];死后即刻显示损伤区域红外热成像图像变成暗红色,分析原因为死后血流速度减慢、血流停滞所致;死后 6 h 损伤区域图像变成黄绿色,分析与淤血区血红蛋白吸收红外线光谱变化有关^[2];死后 24 h~6 d 损伤区域呈黄褐色且面积逐渐增大,分析与体表其他影响因素(擦伤、皮革样变、色素沉着)的干扰有关。以往多采用普通摄影技术记录固定尸表的擦伤和浅表的挫伤证据,而本研究采用的红外线对软组织具有一定的穿透能力,在发现更深层的挫伤方面更具优势^[13]。Bernstein M 等^[14]通过红外摄影技术记录了 9 例死者的 28 处钝器损伤以比较损伤的形态特征,结果显示红外线可以用于损伤形态的三维评估,损伤程度不同的红外热图像也不同。近红外线能透过皮肤色素、蛋白质和局部的解剖结构,对皮肤基底的黑色素层也可以完全透过。以往还有国外学者应用红外线光源发射红外光谱来探测皮下淤伤,通过红外线胶片摄影记录损伤处对红外线的吸收和反射情况来检出皮下出血,结果显示皮下淤血在红外线摄影技术下更容易显现^[15]。在死后尸斑等的干扰影响下,皮下出血红外线摄影显示为暗蓝色改变,红

外线图像可以消除尸斑的干扰使挫伤更容易显现。同时,不同肤色(黑色素)也会影响挫伤的观察,红外线可以起到中和作用,消除干扰因素。

尽管红外热成像技术作为一种非侵入性和无辐射的成像技术,可以检测皮肤下的组织异常或特定区域皮肤表面的温度变化,已被用于临床研究^[16],但在法医学尸检中的研究尚不充分。本实验通过红外热成像技术动态监测损伤即刻和死后不同经过时间骨骼肌钝挫伤红外热影像变化,发现其变化规律与解剖和组织病理学检查结果基本一致。实验还发现,伤肢损伤区域在损伤即刻到死后即刻其 T_{mean} 和 T_{max} 下降,分析原因与伤后血液流动状态改变有关^[17];在死后 6 h 左右升高到峰值,之后下降,并且损伤区 T_{mean} 、 T_{max} 值低于健肢对应区域,分析原因认为 T_{mean} 和 T_{max} 值升高与死后腐败组织的比热容有关,随着骨骼肌的自溶、液化, T_{mean} 和 T_{max} 逐渐下降^[18]。

以往损伤时间推断的方法多为有损检验^[19-20]。红外热成像作为一种对机体无创伤的检验手段,对机体损伤部位的温度变化进行记录和检测,辅以计算机图像分析技术,还能实现将探测到的热量温度精确量化,从而对生前骨骼肌钝挫伤死后细微变化过程进行准确识别和客观量化分析^[21-22]。本研究通过红外热成像对兔骨骼肌钝挫伤及未损伤骨骼肌死后变化动态监测,图像及温度参数指标随死亡时间延长呈现出一定的规律性变化,结合组织病理学

检查和解剖检验,为法医在实际检验工作中骨骼肌钝挫伤经过时间推断提供新的方法和参考。今后的研究还应周全考虑不同死因及尸体所处环境因素等对兔骨骼肌钝挫伤死后图像变化的影响,以期早日实现应用红外热成像技术推断损伤时间奠定基础。

参 考 文 献

- [1] Wang J,Zheng J,Zhang J,et al. Estimation of postmortem interval using the radiological techniques,computed tomography:a pilot study[J]. J Forensic Sci Med,2017,3:1-8.
- [2] Ishida Y,Kuninaka Y,Furukawa F,et al. Immunohistochemical analysis on aquaporin-1 and aquaporin-3 in skin wounds from the aspects of wound age determination[J]. Int J Legal Med,2018,132(1):237-242.
- [3] 官大威,赵 锐,王林林. 法医学损伤时间推断:过去、现在与未来[J]. 法医学杂志,2019,35(2):131-135.
- [4] 于天水,官大威,刘 力,等. 大鼠骨骼肌损伤后不同时间的病理学变化[J]. 中国法医学杂志,2014,29(5):431-433,436.
- [5] 傅晨钟,祝家镇. 机械性损伤受伤时间推断的法医学研究进展[J]. 中国法医学杂志,1988,3(1):57-61.
- [6] Deane MN,Gregory M,Mars M. The creation of a measurable contusion injury in skeletal muscle[J]. J S Afr Vet Assoc,2014,85(1):1031.
- [7] Wen SH,Tian ZL,Zhang M,et al. Relationship between changes of pericyte number and wound age during repair of skeletal muscle contusion in mice[J]. Fa Yi Xue Za Zhi,2019,35(3):267-272.
- [8] Cluoroe AD. Superficial soft-tissue injury[J]. Am J Forensic Med Pathol,1995,16(2):142-146.
- [9] Langlois NE,Gresham GA. The ageing of bruises:a review and study of the colour changes with time[J]. Forensic Sci Int,1991,50(2):227-238.
- [10] Lombardi M,Canter J,Patrick PA,et al. Is fluorescence under an alternate light source sufficient to accurately diagnose subclinical bruising?[J]. J Forensic Sci,2015,60(2):444-449.
- [11] Karlander LE,Gustavsson U,Lidman D,et al. Severe contusion of the femoral vessels in rats alters tissue oxygenation and microvascular blood flow regulation in the skeletal muscles of the limb[J]. J Trauma,2000,48(2):286-291.
- [12] 古炳阳,殷忠浩,贺 鹏. 近红外线在静脉血管定位领域的探究[J]. 硅谷,2014,13(18):97-98.
- [13] 刘贵明,丁学琴,许国忠,等. 局部阻滞联合直线偏光近红外线照射用于几种常见软组织损伤痛的疗效观察[J]. 中国疼痛医学杂志,2002,8(1):10-12.
- [14] Bernstein M,Nichols G,Blair J. The use of black and white infrared photography for recording blunt force injury[J]. Clin Anat,2013,26(3):339-346.
- [15] Rowan P,Hill M,Gresham GA,et al. The use of infrared aided photography in identification of sites of bruises after evidence of the bruise is absent to the naked eye[J]. J Forensic Leg Med,2010,17(6):293-297.
- [16] Jones D,Covins SF,Miller GE,et al. Infrared thermographic analysis of surface temperature of the hands during exposure to normobaric hypoxia[J]. High Alt Med Biol,2018,19(4):388-393.
- [17] 刘小燕,郭 群,龚军辉,等. 基于面部红外热图的恐惧情绪识别[J]. 电子测量与仪器学报,2017,31(3):353-360.
- [18] 金 超,毕仲圆,盛 磊,等. 基于激光辅助的红外热像的食品腐败检测[J]. 食品科学,2015,36(12):201-204.
- [19] 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.
- [20] 李晓娜,郑吉龙,单 迪,等. 兔死后角膜内皮细胞活性率变化的时间规律性研究[J]. 解剖科学进展,2014,20(2):115-118.
- [21] Ehrenfellner B,Zissler A,Steinbacher P,et al. Are animal models predictive for human postmortem muscle protein degradation?[J]. Int J Legal Med,2017,131(6):1615-1621.
- [22] Vinay J,Harish S,Mangala GSR,et al. A study on postmortem wound dating by gross and histopathological examination of abrasions[J]. Am J Forensic Med Pathol,2017,38(2):167-173.

(责任编辑:冉明会)