基础研究 文章编号:0253-3626(2009)07-0912-04

家兔急性酸中毒死后玻璃体液化学成分的变化趋势

史文军[1],邓世雄[1],赵新才[2],汪 平[1]

(1.重庆医科大学基础医学院法医学教研室,重庆 400016;2.重庆市公安局交通管理局,重庆 400060)

【摘 要】目的:探讨家兔急性酸中毒死后不同时间眼玻璃体液(Vitreous humor,VH)化学成分的变化。方法:用30%磷酸二氢钠诱导酸中毒动物模型,于死后不同时间观察其眼玻璃体液的离子浓度变化。结果:家兔急性酸中毒死后72 h眼玻璃体液中钾、镁、磷随死后时间的延长呈上升趋势;钙随死后时间的延长趋势降低。钠随死亡时间延长表现不稳定,氯含量变化先下降后升高。钾与死亡时间的相关性好(R^2=0.976 1)。结论:家兔急性酸中毒死后玻璃体液中钾的浓度变化趋势可以作为急性酸中毒死亡推断死亡时间(Postmortem interval,PMI)的指标。

【关键词】死亡时间;玻璃体液;离子浓度;酸中毒

【中国图书分类法分类号】D919.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-01-06

Concentration changes of electrolytes in vitreous humor of acidosis associated with different postmortem interval in rabbits

SHI Wen-jun, et al

(*Department of Forensic Medicine, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the chemical composition changes in vitreous humor of rabbits at different times after the death of acute acidosis. *Methods*: 30% Sodium Dihydrogen Phosphate were used in rabbits to induce the animal model of acute acidosis, and we observed the ionic concentration changes in vitreous humor at different times. *Results*: 72 hours after the death of acute acidosis, the concentration of Potassium, Magnesium, Phosphorus in vitreous humor were gradually increased and Calcium were decreased gradually with the time of death. Sodium performance instability, the change of chlorinity firstly decreased and then increased. Potassium ions was closely related to death time (R^2=0.976 1). *Conclusion*: After the death of acute acidosis, the concentration of Potassium in the vitreous humor of rabbits can be used to infer PMI in the death of acute acidosis.

【Key words】Postmortem interval; Vitreous humor; Ionic concentration; Acidosis

死后玻璃体液(Vitreous humor,VH)离子浓度变化与死亡时间(Postmortem interval,PMI)的关系一直是法医病理学尸体鉴定中研究的热点之一。死后玻璃体液各种生化指标比血液和脑脊液要稳定的多,被认为是尸体化学研究的首选样本[1],20 世纪 50 年代以来,许多学者对其进行了研究,但大多忽略了不同死因可能会对玻璃体液化学成分的变化产生影响,从而可能干扰推断 PMI 的准确性。本实验用 30%磷酸二氢钠诱导酸中毒模型,测定死后 72 h 内眼玻璃体液中离子浓度变化,以探讨酸中毒死后眼玻璃体液离子浓度变化与 PMI 的关系。

作者介绍:史文军(1982-),女,硕士,
研究方向:法医损伤与赔偿。

通讯作者:邓世雄,男,教授,E-mail:dengshixiong1963@163.com。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

仪器:恒温箱、美国 ABBOTT Aeroset2000 全自动生化分析仪等。

1.2 实验动物与方法

健康清洁家兔 16 只(重庆医科大学动物实验中心提供)雌雄不限,体重(1.5 ± 0.3) kg,按随机原则分为 4 组,每组 4 只。

1.2.1 模型制备酸中毒 实验前 12 h 家兔禁食,自由饮水,实验当日用 3%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔内注射麻醉,仰卧位固定于兔台,右侧股动脉插管并连接生物机能实验系统,耳缘静脉注射 30%磷酸二氢钠(6 ml/kg)诱导酸中毒,采用笔式酸度计动态监测 pH 值,pH 值下降到 5.5~6 时,从耳缘静脉空气栓塞处死家兔。

1.2.2 取材及保存 建模后置于 4℃~7℃恒温箱内,据文献

报道[2],双眼玻璃体液物质含量一致,故采用留置微量重复取样法对家兔双眼交替取样(用无菌的 20 G 留置针,自家兔外眦、角膜缘外约 2 mm处缓慢入针,通过瞳孔,针头位于中央时止,以胶布固定针尾;取样时抽出针心,用 1 ml 注射器缓慢抽吸,每次 50 μl)。右眼于死后 0、6、18、30、42、54 h,左眼于死后 12、24、36、48、72 h 分别取样 50 μl。所有样本用去离子水 1:3 稀释,编号入 EP 管,-25℃冻存。

1.2.3 样本的检测 同日 37℃水浴解冻,美国 ABBOTT Aeroset2000 全自动生化分析仪检测钾、钠、镁、氯、磷、钙离子浓度。

1.3 数据统计分析

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 Excel 和 SPSS12.0 分析软件进行统计分析。玻璃体液离子浓度变化与 PMI 的关系用二项式回归方程分析。

2 结 果

2.1 家兔急性酸中毒死后不同时间玻璃体液中 K^+、Na^+、Mg^{2+}、Cl^-、P^{3+}、Ca^{2+}浓度的检验均值及标准差

见表 1。

2.2 家兔急性酸中毒死后玻璃体液离子浓度变化与 PMI 的二项式关系方程

以 K^+、Na^+、Mg^{2+}、Cl^-、P^{3+}、Ca^{2+}为自变量(X),以 PMI 为因变量(Y),分别进行回归方程拟合,其二项式关系方程见表 2。

2.3 家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液离子浓度变化趋势

家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液钾含量变化趋势见图 1。本试验中家兔急性酸中毒死亡后 72 h 内,K^+的含量随着死亡时间的推移逐渐升高,相关指数为 0.976 1。家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液钠含量变化趋势见图 2。本试验中家兔急性酸中毒死亡后 72 h 内,Na^+的含量随着死亡时间的延长变化不稳定,时高时低,相关指数仅为 0.297 6。家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液镁含量变化趋势见图 3。本试验中家兔急性酸中毒死亡后 72 h 内,Mg^{2+}的含量随着死亡时间的推移呈总体升高的趋势,相关指数为 0.887 7。家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液磷含量变化趋势见图 4。本试验中家兔急性酸中毒死亡后 72 h 内,P^{3+}的含量随着死亡时间的推移逐渐升高,相关指数为 0.986 1。家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液钙含量变化趋势见图 5。本试验中家兔急性酸中毒死亡后 72 h 内 Ca^{2+}的含量随死亡时间延长表现出总体下降趋势,相关指数为 0.837 3。家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液氯含量变化趋势见图 6。本试验中家兔急性酸中毒死亡后 72 h 内,Cl^-的含量随死亡时间延长大致表现为先降低后升高的趋势,波动较大,相关指数也仅为 0.373 7。

3 讨 论

随着法医学者不断对玻璃体液与 PMI 相关性的研究,发现多种可以用于推断死亡时间的指标。但大多数研究都是以空气栓塞急性猝死的动物为

表 1 家兔急性酸中毒死后不同时间玻璃体液[K^+]、[Na^+]、[Mg^{2+}]、[Cl^-]、[P^{3+}]、[Ca^{2+}]的检测结果($\bar{x} \pm s$)

PMI(h)	n	K^+	Na^+	Mg^{2+}	Cl^-	P^{3+}	Ca^{2+}
0	16	1.56 ± 0.07	52.90 ± 9.19	0.24 ± 0.16	44.20 ± 20.45	0.13 ± 0.04	0.94 ± 0.10
6	16	2.40 ± 1.15	48.50 ± 5.45	0.16 ± 0.07	30.95 ± 4.04	0.96 ± 0.89	0.75 ± 0.22
12	16	4.45 ± 1.44	51.15 ± 7.43	0.32 ± 0.50	33.75 ± 7.48	3.08 ± 2.05	0.82 ± 0.08
18	16	4.86 ± 2.37	52.05 ± 12.25	0.33 ± 0.14	32.63 ± 8.95	5.07 ± 3.07	0.81 ± 0.19
24	16	5.86 ± 2.12	49.05 ± 10.01	0.37 ± 0.06	33.15 ± 8.89	7.08 ± 0.19	0.68 ± 0.22
30	16	7.01 ± 2.13	50.38 ± 11.13	0.41 ± 0.07	37.90 ± 11.00	8.76 ± 1.26	0.66 ± 0.24
36	16	7.53 ± 2.54	50.05 ± 10.00	0.54 ± 0.06	35.68 ± 11.25	11.49 ± 2.94	0.78 ± 0.29
42	16	8.14 ± 2.50	49.85 ± 14.39	0.55 ± 0.06	34.35 ± 12.04	13.01 ± 3.22	0.56 ± 0.38
48	16	8.80 ± 1.35	47.60 ± 11.24	0.63 ± 0.06	32.45 ± 8.08	14.19 ± 3.32	0.44 ± 0.27
54	16	10.12 ± 1.63	48.40 ± 8.06	0.61 ± 0.07	32.95 ± 7.38	14.63 ± 2.85	0.44 ± 0.26
60	16	8.82 ± 1.21	50.13 ± 10.32	0.57 ± 0.06	40.20 ± 16.45	14.79 ± 2.71	0.52 ± 0.25
66	16	8.78 ± 1.40	50.00 ± 12.15	0.54 ± 0.09	32.35 ± 7.04	15.16 ± 2.61	0.47 ± 0.24
72	16	9.09 ± 0.89	51.70 ± 14.24	0.54 ± 0.16	48.90 ± 33.31	15.61 ± 2.55	0.41 ± 0.23

表 2　玻璃体液中[k^+]、[Na^+]、[Mg^{2+}]、[Cl^-]、[P^{3+}]、[Ca^{2+}]与 PMI 的二项式关系方程

	方程	R^2	F
K^+	$Y=1.315\ 7+0.247\ 2X-0.001\ 9X^2$	0.976 1	204.59
P^{3+}	$Y=-1.118\ 2+0.431\ 7X-0.002\ 7X^2$	0.986 1	356.00
Na^+	$Y=51.996\ 2-0.131\ 4X+0.001\ 6X^2$	0.297 6	2.21
Cl^-	$Y=39.394\ 5-0.417\ 1X+0.006\ 5X^2$	0.373 7	2.98
Mg^{2+}	$Y=0.153\ 2+0.013\ 7X-0.000\ 1X^2$	0.887 7	39.52
Ca^{2+}	$Y=0.898\ 0-0.008\ 4X+0.000\ 02X^2$	0.837 3	25.73

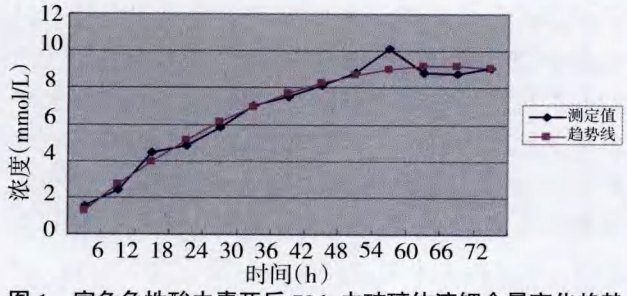


图 1　家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液钾含量变化趋势

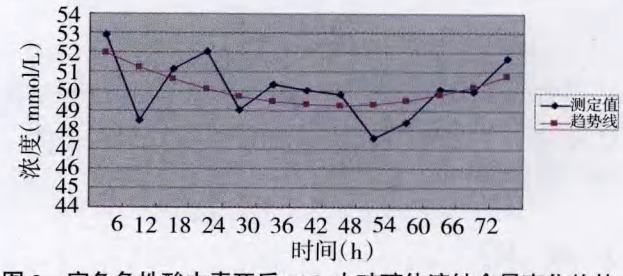


图 2　家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液钠含量变化趋势

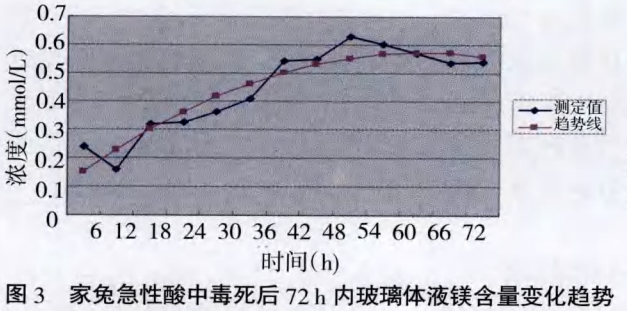


图 3　家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液镁含量变化趋势

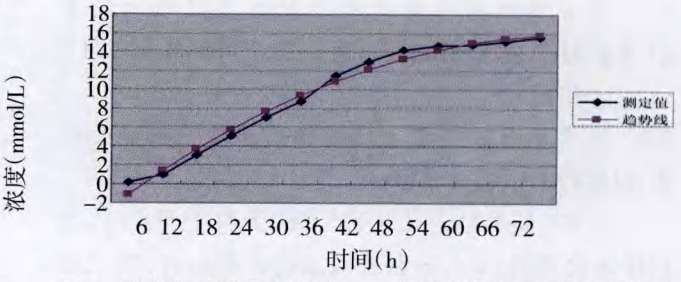


图 4　家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液磷含量变化趋势

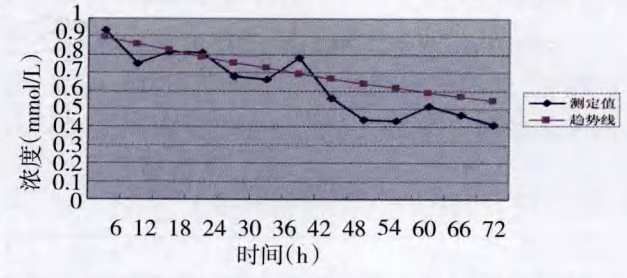


图 5　家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液钙含量变化趋势

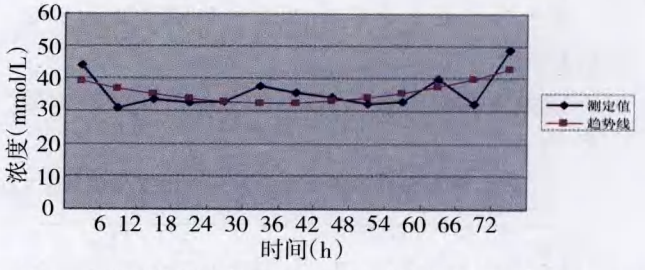


图 6　家兔急性酸中毒死后 72 h 内玻璃体液氯含量变化趋势

模型进行研究。从而忽略了不同死因可能会对玻璃体液成分的影响，这可能会在实际应用中存在误差。国外法医学者就不同死因死后玻璃体液中离子浓度变化于死后时间是否存在相关性一直存在争议。Nowak 等[3]认为心脏病致死及窒息死亡两种模型中玻璃体液中 Ca^{2+}和 Mg^{2+}与死亡时间有相关性，在暴力性致死、意外等其他死因中未发现相关性。Hughes[4]在研究 135 例样本中的 35 例猝死者的玻璃体液时钾离子浓度变化出现显著差异，而 Tagliaro[5]认为在猝死、中毒、化学物质致死以及意外死亡中，玻璃体液的浓度变化没有显著差异。

由电解质紊乱导致的急性酸中毒在日常生活中是很常见的致死原因，本实验结果表明：(1)家兔急性酸中毒死亡后 72 h 内，钾、镁、磷的含量随着死亡时间推移总体呈上升趋势，与文献报道[6,7]的结果基本一致。但磷与文献[7]报道的家兔在空气栓塞致死后 12 h 内磷含量降低的结果有所不同，这可能与注射磷酸二氢钠急性酸中毒后家兔体内和眼玻璃体内磷含量增高有关。(2)氯含量的变化随着死亡时间的延长先下降后上升，离散度大，这也与陶涛[8]在 126 例人尸体玻璃体液中氯含量与 PMI 的相关性研究中的结论大致一致。(3)家兔急性酸中毒死后 72

h 内钙含量随死亡时间延长表现出下降趋势，与龚志强[7]的实验中的结论一致。(4)钠含量表现不稳定，龚志强[7]的实验结果认为钠含量随 PMI 延长而下降，这与本实验结论有较大差别。作者认为，这可能是由于注射磷酸二氢钠后导致血液中钠离子含量升高有关。龚志强等[9,10]认为 $R^2 > 0.9$ 的离子，其方程可用于 PMI 的推断。因此认为钾含量的变化可以用于急性酸中毒死亡后 72 h 内 PMI 推断指标；本实验中注射药品中含有磷元素是否会对酸中毒死后的玻璃体液磷离子浓度存在影响尚不能确定；而钠、镁、钙和氯含量的变化趋势与 PMI 相关性不大。比较以往实验结果，作者发现在本实验检测指标中钠和磷含量变化趋势与以往有较大差别。初步分析原因可能为：注射磷酸二氢钠导致家兔血液中钠和磷含量大增，血-玻璃体屏障和血-视网膜屏障功能受损，血液中高浓度的钠和磷就会通过这两道屏障进入玻璃体内，从而导致家兔玻璃体内钠和磷的浓度升高。而其他检测指标变化不大，和以往研究结论基本一致。

通过本实验的研究，进一步确认了玻璃体液中钾离子与 PMI 的相关性，也为急性酸中毒死亡案例中推断死亡时间提供了理论基础。但有关死后玻璃体液中离子变化出现的机制有待进一步进行相关实验研究，而且动物尸体与人尸体毕竟存在差异，希望以后能进行急性酸中毒死亡尸体的相关研究，以了解更确切的变化规律，并用于法医实践。

参 考 文 献

[1] Gagajewski A, Murakami M M, Kloss J, et al. Measurement of chemical analytes in vitreous humor: stability and precision studies [J]. Forensic Sci, 2004, 49(2): 371-374.

[2] 汪 岚，站玉祝，刘 茜，等. 家兔死后玻璃体液离子浓度的微量重复取样法[J]. 中国法医学杂志，2006，21(3)：133-135.

[3] Nowak R, Balabanova S. Determination of calcium and magnesium in postmortem human vitreous humor as a test to ascertain the cause and time of death[J]. International Journal of Legal Medicine, 1989, 102(2-3): 179-183.

[4] Hughes W M. Levels of potassium in the vitreous humour after death [J]. Med Sci Law, 1965, 5(3): 150-156.

[5] Tagliaro F, Manetto G, Cittadini F, et al. Capillary zone electrophoresis of potassium in human vitreous humour: validation of a new method[J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1999, 733(1): 273-279.

[6] James R A, Hoadley P A, Sampson B G. Determination of postmortem interval by sampling vitreous humour[J]. Am J Forensic Med Pathol, 1997, 18(2): 158-162.

[7] 龚志强，曾宪彬，孙跃刚，等. 家兔眼玻璃体液 21 种元素含量与 PMI 关系的研究[J]. 法医学杂志，2002，18(2)：67-69.

[8] 陶 涛，胥 劲，罗通行，等. 人体死后不同时间玻璃体液化学成分的变化趋势[J]. 四川大学学报(医学版)，2006，37(6)：898-900.

[9] 余松林. 医学统计学(七年制全国规划教材)[M]. 第 1 版. 北京：人民卫生出版社，2002. 179-201.

[10] 龚志强，许小明，曾宪斌，等. 家兔死后眼玻璃体液锌、镍含量与 PMI 关系的研究[J]. 法医学杂志，2005，17(3)：129-131.

（责任编辑：冉明会）

校 对 须 知

为保证作者文稿刊出准确无误，本编辑部将排版后的校样一律交作者校对，请作者务必在校样上按以下要求校对：

1. 对正文(包括外文字母及大小写)、标点符号、数据、图表、计量单位、参考文献等认真细致逐一校对(诵读)，毋需重新打字。不能增加图表或成句的文字。

2. 若发现错误，请用红笔将正确的字符书写清楚(避免使用不规范汉字)；必须改动的字符，宜在样稿的空白处写出(毋需重描编辑已改过的字符)，所增删的字数最好相等。

3. 样稿中编者提出的问题(有“?”处)请予改正或作出解释，参考文献的缺项的内容，按本学报规定格式补充。务请作者认真核实所引用的文献是否正确，并核查文内角码是否与文末参考文献序号相对应

4. 请核实(或补充)作者介绍，包括出生年、性别、职称等信息。

5. 请用规范药名(不用商品名)及医学名词；认真核查法定计量单位及药物剂量。

6. 若特殊情况需要样稿，请作者自行复印留底。

7. 若不能在规定时间内校回，本编辑部只能将文稿延期出版。

本刊编辑部