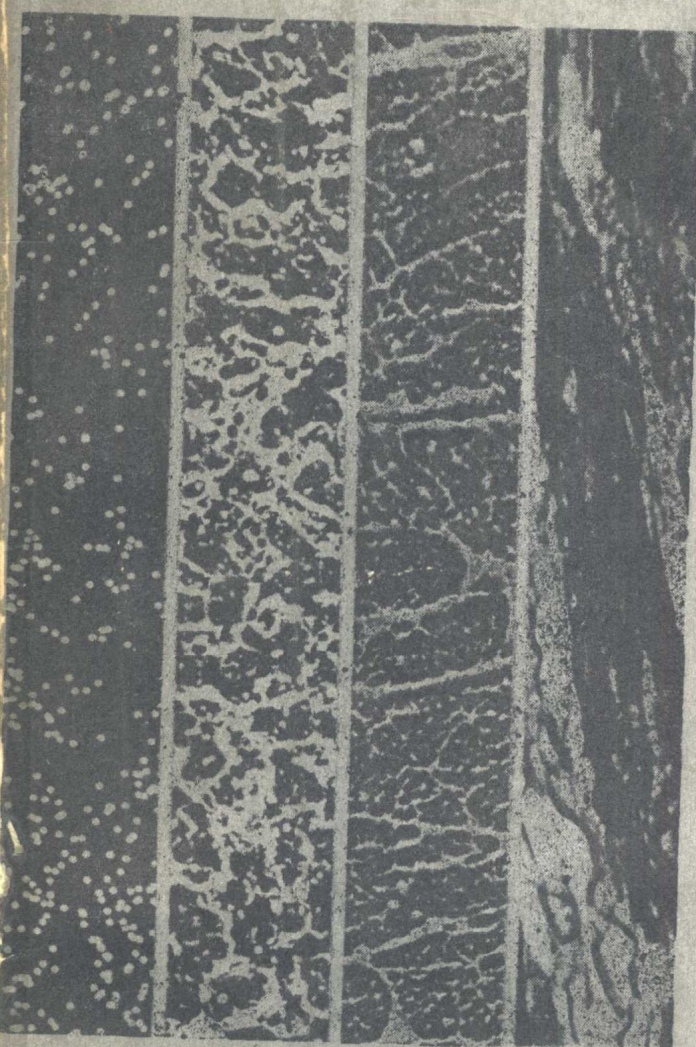




法医 显微病理学 诊断

MICROSCOPIC DIAGNOSIS IN FORENSIC PATHOLOGY

J. A. 珀泊 编
〔美〕 C. H. 韦其特

R891
WJW

人 民 卫 生 出 版 社

99261

法医显微病理学诊断

〔美〕 J. A. PERPER 编
C. H. WECHT
吴家敦 主译

校 者 (按姓氏笔划排列)

吴家敦 吴梅筠 祝家镇

郭景元

译 者 (按姓氏笔划排列)

刘世沧 朱小曼 伍新尧

吕俊苞 杨明光 肖明松

陈国弟 赵嘉言 黄光照

廖志钢

**Microscopic Diagnosis
in Forensic Pathology**

Joshua A. Perper

Cyril H. Wecht

Charles C Thomas • Publisher

1980

法医显微病理学诊断

〔美〕 J. A. PERPER C. H. WECHT 编

吴家敦 主译

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

北京顺义北方印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米16开本 21 $\frac{1}{4}$ 印张 508千字

1985年7月第1版 1985年7月第1版第1次印刷

印数: 00,001—8,400

统一书号: 14048·4922 定价: 4.50元

〔科技新书目95—82〕

序

大多数法医学教科书几未描述法医病理学的显微镜形态,即有亦甚少。就我们所知,在英文医学文献中,这是第一本论述显微法医病理学的专著。我们确信,此书所涉及的内容,在各种情况下皆可为法医病理学家提供正确和有益的指导,包括损伤早期的变化,酶的常规和特殊检测,电流烧伤时皮肤金属化的电子显微镜观察以及其他许多显微镜观察时值得注意的组织学特征。

我们邀请司法科学领域的知名学者撰写此书。他们在书中贡献了他们丰富经验中的无价精华。我们力求本书能以包罗(当然不是全部)司法工作中须采用显微镜检查的各种情况。当然,本书不可能涉及临床病理学中的各种疾病。譬如,我们未论及婴儿急死综合征。因为这一综合征无特征或显示病变本质的显微病理学改变,而是以排除其他疾病来确定诊断的。我们认为,中毒的显微病理学值得单独专门论述。因此,本书仅在有关章节中附带提及,如在药物的毒性一章中述及显微病理的改变。

我们希望此书能以对法医病理学家起到极为迫切的刺激作用,能以促使在法医学检验工作中对显微镜检查给以足够的重视,以及能在法医显微病理学的研究和教学中,触发出新的探求,并获得成果。

吴家驹 译

100/01

目 录

第一章	损伤后经历时间的组织学推断·····	1
第二章	用组织化学和生物化学方法推断损伤后经历的时间·····	10
第三章	心血管系统·····	25
第四章	药物不良反应的组织学变化·····	48
第五章	滥用药物引起的组织学变化·····	115
第六章	溺死·····	155
第七章	硅藻的检验和溺死的诊断·····	159
第八章	栓子的显微镜形态·····	170
第九章	强奸及性犯罪的显微镜检查·····	177
第十章	电流损伤·····	202
第十一章	中枢神经系统外伤性损伤的显微镜检查·····	209
第十二章	枪弹创的组织病理学·····	249
第十三章	毛发和纤维的显微镜检验·····	256
第十四章	备有元素X线衍射分析仪的扫描电子显微镜在法医病理学上的 应用·····	291

第一章 损伤后经历时间的组织学推断

J. Raekallio

引言

法医病理学家检查暴力致死的尸体时，若只限于罗列所发现的创伤和描述其形态，就不能算圆满完成任务。有时重构作案过程甚至比确定死亡原因更为重要，而通过对创伤及其它损伤的细致检查，是可以做到这一点的。举一典型的例子，一个人在死后被一辆卡车碾压，如检查者辨认不出卡车压的损伤是死后发生的，则无辜的被控者可能遭逮捕，甚至判罪。另一方面，检查疏忽也可能让罪犯逍遥法外，例如一具遭谋杀者的尸体可被移置于铁轨上，企图造成自杀或意外事故的假象。因此，这些案例的公正处理，常取决于对创伤的准确观察和解释，其中以推断损伤经历的时间及鉴别生前伤和死后伤最为重要。

尸体上创伤形态的肉眼检查，对确定创伤是否发生在生前可能有些帮助。生前伤流出的血液浸润在受伤组织内。创缘哆开，经12小时左右变得肿胀。小创口约在24小时可有痂皮形成。创口有感染时，36小时后可见到脓液。上皮约在24小时后开始从创缘生长。4~5天后，清洁的小伤口可完全被上皮所覆盖（Gordon, Turner, Price, 1953）。因此，根据创口的肉眼检查，能够判定它是生前伤，特别是出现明显的炎症反应的话。但是情况不总是这样，而且需经12小时这样长的时间才能作出判断，这是不能满足法医学检验的要求的。

机械性暴力所致的皮肤开放性损伤

由于创伤肉眼检查的结果不可靠而且变化多端，故损伤的显微镜检查具有重要意义。这对区别生前伤与死后伤，以及为了重构作案过程而推断生前损伤后经历时间，皆有帮助。

机械性暴力作用于身体，引起组织解剖学连续性的破坏，称为创伤。创伤通常分为切创、刺创及撕裂创。切创是由锋利的致伤物，如小刀、金属制件的尖锐突出部或碎玻璃片所致。刺创是由具有尖头或钝头的细长器械所造成。撕裂创是由外来钝性暴力作用于身体，引起组织撕裂而致。擦伤指皮肤受损，通常仅累及皮肤浅层。

从组织学改变推测损伤后经历的时间，根据的是创伤愈合过程中不同阶段的形态学特征。组织在损伤后所发生的一系列反应常有一定的顺序。Ross (1968) 将组织修复过程分为三期：①炎症期，伤后持续1~3天；②增生期，持续到伤后第10~14天；③机化改建期，该期时间长短不一，至少迁延数月。由于各期之间互相重叠，故无明确的时间分界。

创伤愈合炎症期的特征是：①血管反应，②止血和③细胞反应。血管反应的发展过程取决于损伤的严重程度，而与致伤物的性质关系甚微。血管反应可分为三个不同的阶

段。首先是血管收缩，在伤后数秒钟内发生，并持续约数分钟。继之出现早期血管扩张，伴有对血浆蛋白的通透性升高，至 10 分钟左右达最高峰。第三阶段为延续阶段，约需数小时，其高潮为组织间有白细胞浸润，并伴血液停滞及局部出血。这三个阶段的改变，皆由所释放的血管活性物质引起 (Spector 和 Willoughby, 1965)。实际上，损伤组织中白细胞的浸润是延续性血管反应最重要的组织学特征。

止血意指出血自动停止。凝聚的血小板迅速堵塞所有被切断的大于毛细血管的血管，使出血停止。毛细血管则由红细胞和纤维蛋白凝块堵住。最初出现的是血小板凝块，无纤维蛋白生成；尔后由于纤维蛋白的沉积而形成更大的血凝块，其纤维蛋白网格内杂乱地网罗了血小板、红细胞和白细胞。Lendrum 等 (1962) 曾推荐 MARTIUS 猩红蓝法 (MSB)，看来这是显示纤维蛋白唯一最有用的染色法。在纤维蛋白生成后的头 16 个小时左右，MSB 法可将纤维蛋白染成黄色，形成时间更长的纤维蛋白染成鲜红色 (Pullar, 1973)。MSB 法将在本章附录中介绍。

细胞反应在伤后半小时内开始出现，表现为白细胞靠边并聚集在血管壁上。实际上，一般法医案例中遇到的人体检材，难于确切地检查出这种反应 (Pullar 1973)。早期细胞反应以多形核白细胞为主。损伤刚发生时，多形核白细胞和单核细胞同时游出。但在数量上，多形核白细胞（大部分是中性白细胞）占优势，它与单核细胞的比例为 5:1。嗣后 (16~24 小时)，多形核白细胞从炎症灶游移出去，单核细胞却留下，两者的比例下降到 0.4:1 (Spector, Lykke 和 Willoughby, 1967)。

对出现明显的白细胞浸润的时间仍有争论。据不同作者报道，从伤后 4 小时到 24 小时不等。在豚鼠，成伤后 4 小时有少量多形核白细胞从血管游出。成伤后 8 小时，创创周围多形核白细胞明显增多，但仍未在创口周围形成清晰的区带。伤后 16 小时，组织学上可区分出二个区带 (图 1-1, 1-2)，创缘附近为宽达 500 微米的中央区，其特征

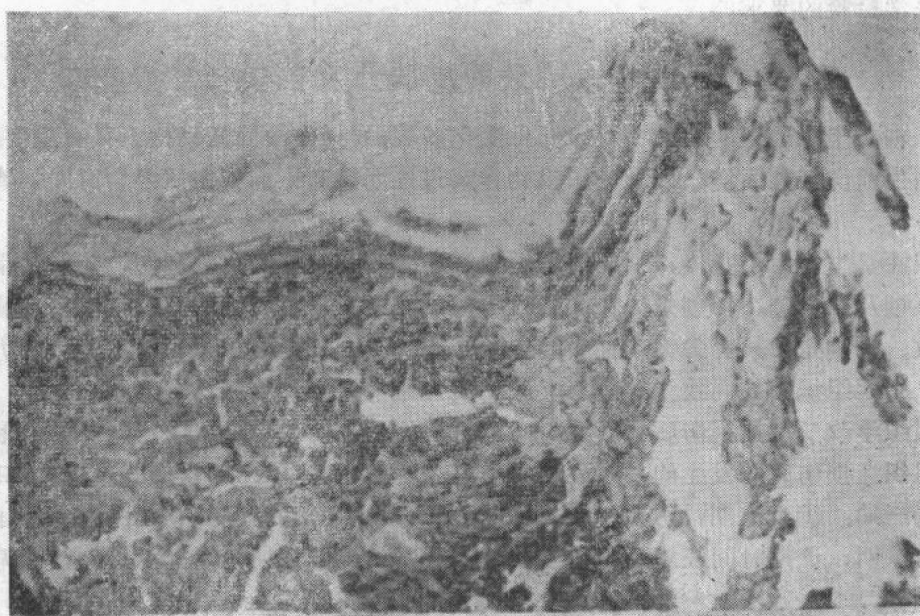


图 1-1 16小时生前伤的组织学观，图示中央带发生坏死，周围带有游走细胞浸润（在图的左侧）

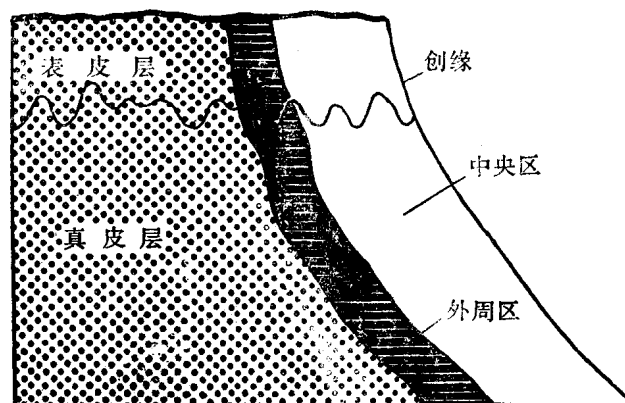


图1-2 显示生前皮肤损伤区带

为变性。结缔组织细胞显示进行性核溶解和核碎裂，上皮细胞仍较好地保持其着色性 (Raekallio, 1961)。至 32 小时左右，结缔组织明显坏死，核几不着色。围绕中央区为一宽 100~200 微米的外周区，除成纤维细胞活跃外，可见大量中性多形核白细胞(其他作者称中性粒细胞)。其数量在第一天达高峰，2~3 天内维持于此水平，然后减少。粒细胞的增加和减少与纤维蛋白量的明显增加和减少相一致 (Ross, 1968)。大单核细胞或巨噬细胞随粒细胞之后于 16~24 小时进入外周区，约在 48 小时其数量达最高峰。大量淋巴细胞出现在较晚阶段，其数量在伤后第 6 天最多 (Ross, 1968)。

创伤中央区退行性变现象称为阴性生活反应，因为在死后伤中见不到此种局部退行性变。与之相适应，伤口外周区的炎症及其它进行性变化，可称为阳性生活反应 (Raekallio, 1961)。

约在伤后 32 小时，中央区坏死明显，细胞核几不着色。外周区真皮内细胞增多，以巨噬细胞为主。结缔组织内偶见分裂象。外周区上皮细胞变大，基底层可见少数散在的分裂象 (Raekallio, 1961)。

伤后 64 小时，中央区坏死进一步发展。在外周区巨噬细胞及活跃的成纤维细胞占优势，真皮层中可见少许核分裂象，但核分裂象在增厚表皮的下层较多 (Raekallio, 1961)。

人身创伤炎症的发展较实验动物的为慢。法医尸检材料中，在伤后 4 小时血管周围出现少许中性粒细胞。伤后 8~10 小时才见到由浸润的粒细胞及活跃的成纤维细胞所组成的明确的外周区 (Raekallio 1965, 1966, 1970; Robertson 和 Hodge, 1972; Pullar, 1973)。可是，根据一些业经证实的案例，需经更长的时间，明显的白细胞浸润才出现 (Pullar, 1973)。

炎性细胞中，中性白细胞为控制创伤部位感染所必需，而且它们能吞噬和消化非微生物类物质 (Schilling, 1968)。伤后头 24 小时可看到大量退变的中性白细胞。中性白细胞溶解时释放出水解酶，这是该种细胞的一项重要功能 (参见第二章)。

具有多种名称的大单核细胞，在急性炎症的晚期起着极重要的作用。macrophage 一词意为“巨大吞食者”，恰如其份地描绘了大吞噬细胞，它既能吞噬细菌，又能吞噬细胞碎片及其裂解产物。一些学者称巨噬细胞为组织细胞或破折细胞 (clasmatocy-

tes)。

形态学上,淋巴细胞可分为小淋巴细胞(直径为7~8微米)和大淋巴细胞(直径约12微米)。众所周知,圆形核是淋巴细胞最突出的形态特征。核周仅有少许胞浆。小淋巴细胞的主要功能是介导免疫反应(Schilling, 1968)。淋巴细胞及其近亲浆细胞形成所谓的“小圆形细胞浸润”,在急性炎症后期占主导地位。浆细胞比淋巴细胞大,胞浆较多,核圆形,偏位,具有粗的、角形、深染的染色质块,有时呈车轮状排列。浆细胞是循环抗体的十分重要的来源。

急性炎症期间肥大细胞可发生退行性变,并向周围释放组织胺、肝素及水解酶。所释放的组织胺是引起早期炎症水肿的物质(参见血管反应)。肥大细胞的颗粒,作为它的主要形态特征,在HE染色时看不到。用甲苯胺蓝或美蓝染色,低倍镜观察时,肥大细胞为深染椭圆形的大细胞。油镜下胞浆颗粒(直径约0.5微米)往往十分密集,以致深染细胞的细微结构难以窥见。历时一天的创口内,肥大细胞缺如。手术后3~7天,肥大细胞重新出现并脱颗粒(Miller 和 Whitting, 1965)。

正在愈合的创伤中出现的新单核细胞,其来源仍有争论。某些作者推想它们是由原有的成纤维细胞转变而来,另一些作者认为来自血液。

创伤愈合增生期的特征是上皮及结缔组织修复。创缘残存表皮的增厚,是表皮内出现的最早期变化。它是由创伤附近的表皮细胞体积增大所致(Odland 和 Ross, 1968)。实验动物皮肤的清洁切创,24小时内表皮向下长入真皮(Gillman 和 Penn, 1956)。紧靠血凝块的表皮切缘,有明显的胞浆突起伸向血凝块。小的浅表创口内,表皮常对称地从两侧长向创口中央。因此,从侧面观察,再生表皮犹如创口中部彼此相对的一对楔子(Odland 和 Ross, 1968)。有时,创口一侧的细胞,生长移动远超过另一侧,因而取材观察时,似乎只有一侧的表皮长向创口。

人体创伤部的表皮在24~48小时之间开始生长。生长的表皮位于痂皮下面,沿纤维蛋白网构成的平面伸延。纤维蛋白网则为含有炎症细胞的浆液渗出物所包围。伤后2~3天,小创口和擦伤可完全被上皮覆盖。

创口刚闭合时,新生的表皮细胞层数明显增多,较周围正常表皮厚,伤后5~7天,表皮逐渐变薄至接近正常(Odland 和 Ross, 1968)。

清洁的创口内,表皮细胞在其表面干血凝块下生长跨越创口,而获得一期愈合。若创口缺损过大,生长的表皮细胞难以长满创口,肉芽组织逐渐长入并取代干纤维蛋白覆盖物,形成二期愈合。此种情况下,伤后的闭合依赖于表皮生长、肉芽组织的填补及组织收缩。典型的二期愈合见于真皮和表皮都缺损的深创伤,这类损伤与法医检验所遇到的类型关系更加密切。

伤口闭合后,新的再生上皮较周围正常上皮为厚,细胞层数亦多。

成纤维细胞是参与结缔组织修复最活跃的细胞。这类细胞常呈纺锤状,可于创伤后头48~72小时见到(Ross, 1968)。成纤维细胞形态多样,有的细胞和胞核均为长梭形,有的呈卵圆形或不规则形。1867年以来,一直在争论创口成纤维细胞的来源。1965年, Ross 和 Lillywhite 令人信服地证明,创口成纤维细胞是从皮下疏松组织或由小血管外膜中静止的纤维细胞和其它间质细胞演变而来。此两种演变情况都证明成纤维细胞并非从白细胞转变来的,而是来自创口附近的间质细胞。成纤维细胞从附近的结缔

组织每天以 0.19 毫米的速度移行 (Stearns, 1964)。成纤维细胞产生胶原纤维, 最早的胶原纤维约在第 4 天见于细胞间隙。疤痕开始形成的头几周, 胶原纤维的数量及体积继续增加。上述时相的长短, 视组织缺损的多少而异。创口外周区结缔组织的生成较快, 而中央区通常最后愈合, 特别是当创口较大时。

成纤维细胞出现后一两天, 可见其间有大量新生的毛细血管生成以重建血循环。毛细血管芽的长入使创面呈颗粒状。在存活的有血管的边缘部, 有形如合胞体或实性索状的毛细血管芽从原有血管伸出, 这些血管芽以后形成管状。

创伤愈合的机化期或改建期的特征为细胞活动减弱和纤维生成减退。通常在 12 天左右, 上皮及真皮组织的细胞进入一个明确的活动减退期 (Robertson 和 Hodge, 1972)。第 14 天纤维生成达顶峰, 此后创伤处的结缔组织逐渐成熟和收缩。组织学上, 可见到血管逐渐消失, 成纤维细胞的数量与胶原纤维相比迅速减少。有的成纤维细胞, 在完成其纤维的合成任务后, 必然作为静止的纤维细胞存留下来, 其余的成纤维细胞及其它细胞, 如吞噬细胞, 则去向不明。并无明显的坏死或变性征象。从严格的定量概念考察, 组织收缩对表皮覆盖创面起主导作用。收缩开始于成伤后 5~7 天, 约在第 6 周停止。在第 2~3 天, 靠近创伤中央部表层再生上皮细胞的胞质内, 出现透明角质颗粒。此种细胞分化及随后发生的角质化证据, 最初见于靠近原始创缘处的再生上皮周围。此一现象在创口中央则须待整个创口为上皮所覆盖, 并形成复层上皮之后始可窥见 (Odland 和 Ross, 1968)。正常钉突的重建即使经过数星期亦难见到。

真皮损伤后表面总是形成疤痕。疤痕组织通常无毛发与汗腺。疤痕结缔组织的改建和再机化, 以及由创伤内各种力所引起的胶原纤维的定向排列可持续数月, 甚至数年。术后至第 42 天欲使皮肤创口重新裂开所需的力明显的增加。往后四个星期, 增加的速度减慢。三个月时使创口裂开所需的力量几达最大限度。

从组织学推断开放性皮肤创伤及擦伤后 经历时间的提要

为了便于从组织学形态推断开放性皮肤创伤及擦伤后经历的时间, 提出下列提要。必须强调, 提要中所列的时间均系近似值。由于与创伤的形成及愈合有关的因素如此之多, 因此要准确地判定创伤后经历时间是不可能的。下列数据是作者及其他许多专家的经验。Odland 和 Ross (1968), Pullar (1973), Robertson 和 Hodge (1968), Ross (1968) 及 Schilling (1968) 等的论述, 对下述提要的拟定特别有帮助。此外, 提要亦概括了本章前面所述的详细内容。

1. 存活时间 伤后存活少于 4 小时。
 - 组织学上没有明显的炎症变化。
 - 这段时间内, 不能从组织学上区别生前或死后皮肤创伤及擦伤。
2. 存活时间 4~12 小时。
 - 4 小时: 血管周围有中性粒细胞出现。
 - 8~12 小时: 粒细胞、巨噬细胞及活跃成纤维细胞共同形成明显的损伤外周带。
 - 粒细胞数量超过巨噬细胞, 两者比例为 5:1。
 - 中央带组织濒临坏死。

3. 存活时间 12~48 小时。
 - 16~24 小时：巨噬细胞数目相对增加，粒细胞与巨噬细胞之比降为 0.4:1。
 - 16 小时以后：“较老”的纤维蛋白用 Martius 猩红蓝染色呈鲜红色，而在 16 小时前“较新”的纤维蛋白染成黄色。
 - 24 小时：粒细胞数及纤维蛋白量增至最大值（2~3 天内维持于此水平）。
 - 断缘上皮细胞出现胞浆突起。
 - 24~48 小时：表皮自创缘向创口中央移行。
 - 32 小时及以后：创伤中央区明显坏死。
 - 48 小时：外周区巨噬细胞数量达最高峰。
4. 存活时间：2~4 天。
 - 2~4 天：成纤维细胞自附近的结缔组织向创口外周区移行。
 - 第 3 天：小创口和擦伤可被上皮完全覆盖；继后，再生的表皮层数显著增多并较周围正常表皮为厚。
 - 在第 3~4 天：出现毛细血管芽。
5. 存活时间：4~8 天。
 - 第 4 天：可见最早的胶原纤维。
 - 第 4~5 天：大量新生毛细血管向内生长；毛细血管继续增生直至第 8 天。
 - 第 5~7 天：已为上皮所覆盖的小创口，其表皮变薄至接近正常。
 - 第 6 天：伤口外周区，淋巴细胞数达最大值。
6. 存活时间：8~12 天。
 - 第 8~12 天：炎症细胞、成纤维细胞和毛细血管数目减少；胶原纤维数量和体积增加。
7. 存活时间：超过 12 天。
 - 超过 12 天：为表皮和真皮内细胞活跃程度明显减退的阶段。真皮血管减少，胶原纤维恢复，上皮基底膜着色。
 - 第 14 天：纤维增生达高峰；此后创口的结缔组织逐渐收缩和成熟。

挫 伤

挫伤或皮下出血是以血液渗入组织为特征的损伤，常由钝器打击所致，但也可由其他方式形成，例如在扼杀时，手指压迫皮肤亦可造成挫伤。

推断挫伤形成后经历的时间必须谨慎。约经 18 或 24 小时，呈蓝色或蓝灰色的挫伤边缘变浅。整个挫伤区是紫色色调，依次演变为棕红色、绿色、黄色、柠檬色，最后全部消退。在此期间，因重力影响染色范围可扩大或发生移位，在老年人，挫伤所具有的颜色可保持 4~5 周（Simpson, 1965）。

由于死后血液通常失去其凝固性，故早先认为流出的血液发生凝固是生活反应的一个征象。但经 Mueller（1964）证实，甚至在死后 6 小时组织内出血仍可发生凝固。Laiho（1967）断定，标准的纤维蛋白组织学染色法，并不能确证流出的血液中含有纤维蛋白。即使流出的血液无纤维蛋白亦不排除生前伤的可能性。关于死后皮下出血中是否含有纤维蛋白，现已得到的资料在很大程度上取决于标本是在死后病变形成后多久

采取的。死后纤维蛋白与生前纤维蛋白形态上难以确切区分。大多数死后皮下出血后一天，纤维蛋白即可发生溶解。因而，死后2~3天进行尸体解剖，若发现有保存良好的纤维蛋白网，则表明该皮下出血是在生前或濒死期发生的，而非死后形成（Pullar, 1973）。

最早期的白细胞浸润可于挫伤后约4小时在组织内见到（Berg 和 Ebel, 1969）。出血部位在几周内还可见到完整的红细胞。这表明流出的血液对皮下组织并无明显的刺激作用。据 Berg 和 Ebel (1969) 报道，通常伤后90小时才有含铁血黄素出现，而胆红素则偶可见于9天之后。挫伤处肉芽组织形成极为罕见。

烧 伤

烧伤系由火焰、灼热的气体、液体或固体作用于体表所致。

如有明显的炎症反应。凭肉眼检查即可确定是生前烧伤。例如，烧伤引起的水疱中若含有脓液，可认为是生前烧伤。但是，大多数案例皆需作组织学检查。烧伤后4小时，可见少量多形核白细胞游出血管。

烧伤后6小时，其周围有明显的白细胞浸润，多形核白细胞不断增多，烧伤后12~24小时，这些细胞在烧伤周围形成一致密带。烧伤后48~72小时细胞浸润最为显著，除多形核白细胞外，尚有单核细胞和成纤维细胞。

烧伤后12~24小时表皮层始见明确的改变。直接受热的中央区，其表皮细胞有不同程度的变性和坏死。围绕中央区的外周区，表皮细胞变肥大，胞浆有空泡样变。继之这些细胞开始伸展和胞核变长，预示着上皮细胞开始移行。同时可见少许有丝分裂。烧伤后48~72小时，上皮细胞移行明显，屡见核分裂像。

真皮附件的上皮细胞，如毛囊上皮细胞，其改变与表皮细胞相同。随着愈合过程的发展，上皮及结缔组织成分增生加剧，但只有在烧伤后72小时或更久，此种改变才显著（Malik, 1971）。

电 流 损 伤

电是一种能，在一定条件下可引起机体的损伤和死亡。电击死有两类：(1)接触电导体致死；(2)遭雷电击致死。两者的病理学改变基本相同。

电流斑是在电流入口及出口处形成的特殊病变。皮肤的电阻是阻碍电流通过身体的主要因素。在皮肤上部分电能转变成所谓的焦耳热。组织学检查难以鉴别电流斑与普通烧伤（Schäffner, 1965）。细胞核变长并非电流斑的特殊变化，因为在冻伤时亦可见同样的改变。由于皮肤与金属导体接触及焦耳热的作用，多数电流斑中可查见金属微粒。

骨 折

骨和软骨的骨折相当常见。骨折可由直接暴力、间接暴力或肌肉收缩所致。近年来为检查“虐婴”综合征，骨损伤的组织学检查变得十分重要。为了排除骨损伤是由原有的自然疾病所引起的可能性，必须作显微镜检查。骨损伤常为多发性，因此也一定要估计骨折的期限，及其与软组织和身体其他部位损伤的可能时间关系（Pullar, 1973）。

骨折的愈合与身体其它部位损伤的愈合基本相似。炎症期持续约3天。损伤当时发

生出血。接着形成的血肿通常位于骨折灶周围，而不在其内。经数小时有纤维蛋白网形成。过两天在中央区的骨折线周围，用常规染色可见到坏死。伤后数小时出现急性炎症改变并持续数天。损伤4小时后，渗出物中有大量中性多形核白细胞。伤后1~2天内，多形核白细胞游出，以后巨噬细胞也游出。

在增生期，伤后4天一般可见成骨性肉芽组织生成。骨外膜有核分裂象，并出现新生的毛细血管及单核细胞。至第7天，可见大量发育良好的成纤维细胞(Pullar, 1973)。此时，骨外膜常有成骨细胞的增生和浸润，特别是在位于远离骨折线200~500微米的外周区内。到第10天，形成一个细胞套，其中含有成骨细胞。一周内，在血管周围可见不规则和相互交织的小片新生骨生成。有大量类似成纤维细胞的梭形细胞。“交织”骨由骨外膜细胞、骨内膜细胞及骨髓网状细胞生成。“交织”骨的生成表示暂时性修复，与在30天左右形成的一期骨痂联合相符。

在机化期或改建期，“交织”骨的骨小梁逐渐被吸收而由骨板所取代。骨板呈平行片状，其走向与骨的受力线相一致。这个向成熟板层骨硬化的阶段可能长达一年。

附录：Martius-scarlet-blue 纤维蛋白染色法

Lendrum 等(1962)发展了此一方法。先用甲醛生理盐水液固定，以不超过5小时为限。然后移入5%氯化汞水溶液中。甲醛生理盐水液有保存红细胞的作用。

技术操作：

1. 用氧氮杂苣(oxazine)及苏木素明矾(hemalum)试剂染核，用流水冲洗。

染液配法：2.5克铁明矾(iron alum)在室温下溶于50毫升蒸馏水，放置过夜；然后加入0.25克氧氮杂苣染料(例如英国I. C. I. 公司出品的Solochrome Prune AS®)，煮沸3分钟，冷却。过滤后装入染色瓶中，加入7毫升甘油。染液可保存数月。用此染液染色5分钟，流水冲洗；将Mayer苏木素液过滤滴在切片上染5分钟，水洗。

2. 在0.25%盐酸酒精(70%酒精)中分色。

3. 充分水洗。

4. 95%酒精洗，马休黄染液染2分钟(martius yellow 0.5克，磷钨酸2克，95%乙醇100毫升)。

5. 水洗。1%亮晶猩红(brilliant crystal scarlet) 6®(acid red 44, 英国Huddersfield的Messrs, L. B. Holliday公司出品)的醋酸液(2.5%醋酸)染色10分钟。

6. 水洗。用1%磷钨酸水处理5分钟。

7. 水洗。用1%醋酸配制的5%可溶性蓝(acid blue 93)溶液中染色10分钟。

8. 水洗。吸干水分，直接用无水乙醇流注脱水。然后用二甲苯透明。用丁基酚酞苯乙烯胶(butyl phthalate styrene)封固。

吕俊苞 译 祝家镇 校

参 考 文 献

- Berg, S. and Ebel, R.: Altersbestimmung Subcutaner Blutungen. *Münch Med Wochenschr*, 111:1185-1190, 1969.
- Gillman, T. and Penn, J.: Studies on the Repair of Cutaneous Wounds. *Med Proc.* (South Africa) 2:121-186, 1956.
- Cordon, I., Turner, R., and Price, T. W.: *Medical Jurisprudence*, 3rd Ed. Edinburgh and London, E. & S. Livingstone, Ltd., 1953.
- Laiho, K.: Immunohistochemical studies on fibrin in vital and postmortem subcutaneous haemorrhages. *Ann Acad Sci Fenn [Med]*, 128:1-85, 1967.
- Lendrum, A. C., Fraser, D. S., Sliddes, W., and Henderson, R.: Studies on the character and staining of fibrin, *J Clin Path*, 15:401-413, 1962.
- Malik, M. O. A.: Enzyme changes in the early phase of healing skin burns in guinea pigs. *Br J Exp Pathol*, 52:345-352, 1971.
- Miller, L. and Whitting, H. W.: Mast cells and wound healing of the skin in the rat. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 65:597-606, 1965.
- Mueller, B.: Zur Frage der Unterscheidung von Vitalen Bzw. Agonalen und Postmortalen Blutungen. *Acta Med Leg Soc (Liege)*, 17:43-46, 1964.
- Odland, G. and Ross, R.: Human wound repair i. epidermal regeneration. *J Cell Biol*, 39:135-151, 1968.
- Pullar, P.: The histopathology of wounds, In Mant, A. Keith (Ed.): *Modern Trends in Forensic Medicine* 3. London, Butterworths, 1973.
- Raekallio, J.: *Die Altersbestimmung Mechanisch Bedingter Hautwunden mit Enzymhistochemischen Methoden*. Lübeck, Verlag Max Schmidt-Römhild, 1965.
- Raekallio, J.: Applications of Histochemistry to Forensic Medicine. *Med Sci Law*, 6:142-146, 1966.
- Raekallio, J.: *Enzyme Histochemistry of Wound Healing*. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1970.
- Ross, R.: The fibroblast and wound repair. *Biol Rev*, 43:51-96, 1968.
- Ross, R. and Lillywhite, J. W.: The fate of buffy coat cells grown in subcutaneously implanted diffusion chambers. A light and electron microscopical study. *Lab Invest*, 14:1568-1585, 1965.
- Schäffner, M.: Untersuchungen über Histologie und Metallisation nach Elektrischen Einwirkungen auf die Haut. *Zentralbl Gesamte Rechtsmed*, 56:269-280, 1965.
- Schilling, J. A.: Wound healing. *Physiol Rev*, 48:374-423, 1968.
- Sieracki, J. C. and Rebuck, J. W. In Rebuck, J. W. (Ed.): *The Lymphocyte and Lymphocytic Tissue*. New York, Hoeber, 1960, p. 71.
- Simpson, K.: *Taylor's Principles and Practice of Medical Jurisprudence*, 12th ed., Vol. 1. London, J. & A. Churchill, 1965.
- Spector, W. G., Lykke, A. W. J., and Willoughby, D. A.: A quantitative study of leukocyte emigration in chronic inflammatory granulomata. *J Path Bact*, 93:101-107, 1967.
- Spector, W. G. and Willoughby, D. A.: Chemical mediators. II. In Zweifach, B. W., Grant, L., and McCluskey, R. T. (Eds.): *The Inflammatory Process*. New York, Acad Pr, 1965, pp. 427-448.
- Stearns, M. L.: Studies on the development of connective tissue in transparent chambers in the rabbit's ear, I. *Am J Anat*, 66:133-176, 1940.

第二章 用组织化学和生物化学方法推断损伤后经历的时间

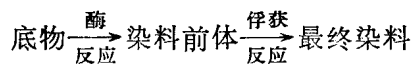
J. Raekallio

引言

组织学研究对推断损伤后经历的时间具有重大价值。出现明显的白细胞渗出，是鉴别生前伤和死后伤最可靠的组织学诊断标准。但不利的是伤后 8~10 小时以内，无明显可见的白细胞带 (Pullar, 1973) 形成。这一过长的潜伏期，难以满足法医检验的实际要求，因在大部分法医检验研究的案件，受害人被伤后存活时间皆短于 8~10 小时。

现已知道，功能的变化总先于形态学的改变，并经常与酶的作用相关连 (Raekallio 1960, 1970)。因此可以预期，检测引起重要变化的酶和其他物质，能比观察由它们所引起的形态学 (组织学) 变化，出现更早的反应。在对损伤发生炎症反应中起重要作用的酶及其他物质，能用组织化学和生物化学的方法证明。

显微组织化学的基础是将化学试验用于供显微镜观察的组织切片上，使之产生在显微镜下可见的反应。例如，用组织化学法显示一种酶，取决于该酶对特定底物的作用。在适当条件下，底物受酶的活性作用，在其作用部位生成反应产物，它是一种不溶性沉着物。这种沉着物若系无色，可依下列程序，应用适当的化学方法，使其显现：



例如，采用一种金属盐的方法证明碱性磷酸酶的存在，组织切片孵育于含有底物 (甘油磷酸钠) 和钙离子的缓冲液中。由于酶活性使底物释放出的邻-磷酸，与钙离子结合生成沉淀物。磷酸钙沉淀物再经氯化钴处理、和硫化铵中漂洗，转变成可见的反应产物。在这个过程中，磷酸钙变成磷酸钴，又经硫化铵处理后，成为可见的黑色硫化钴。简言之，酶活性增高时着色深浓，活性减低则着色减褪。

进行酶生物化学研究，常在组织中加适当的缓冲剂后制成匀浆，然后离心。上清液用比色法、分光光度法、荧光分光光度分析法或同样性质的其他适当的方法来测定酶活性。对于组织胺和 5-羟色胺等物质则是从组织标本中浸取，例如用稀盐酸，最后用荧光分光光度分析法测定其所产生的荧光。

应用于确定损伤时间最重要的组织化学和生物化学方法，详见本章末。

机械暴力引起的开放性皮肤损伤

曾有人用组织化学方法研究创口及其他损伤中糖类及核酸的变化，以推断受伤后经过的时间。Raekallio (1961), Lindner (1962) 及 Nevelös 和 Gee (1970) 均证明死前 32 小时创口中央区酸性葡萄糖胺葡聚糖 (acid glycosaminoglycans, 从前称酸性粘多糖) 减少 (参看图 1-2)。这种减少可称为阴性生活反应 (Raekallio, 1961)。

损伤后 64 小时在创口中央区, 用组织化学方法已显示不出酸性葡萄糖胺葡聚糖 (Raekallio, 1961); 在创口外周区则见酸性葡萄糖胺葡聚糖增加, 其增加大致与中央区内的减少同时发生 (32 小时)。在死后伤内, 这种物质不增加 (Raekallio, 1961)。

用组织化学方法显示酸性葡萄糖胺葡聚糖的这种改变 (用奥新蓝和甲苯胺蓝染色和透明质酸酶抽提), 只有在受伤和死亡之间相隔较久时才可显现。这就是它不能用于法医学检验以区别生前伤或死后伤的理由。相反, 酸性葡萄糖胺葡聚糖的组织化学检查法, 可在愈合过程后期用来推测损伤后经历的时间, 例如在虐婴综合症的死亡案例时。

再活跃的上皮中, 可见到核糖核酸 (RNA)、糖原及巯基反应等增高。这些改变只是与伴随细胞迅速生长及一定程度的失分化时发生的组织学特点相互平行。上述各种成分分布的研究, 对于法医学损伤检验判断时间, 并无任何实际帮助 (Pullar, 1973)。

过去 15 年中, 酶组织化学的研究, 已应用于推断损伤后经历的时间 (Raekallio, 1960, 1965, 1970, 1972, 1973; Lindner, 1962; Fatteh, 1966; Berg, 1969, 1970; Pullar, 1973), 概括起来 (Raekallio 1961, 1970), 围绕生前创口有两个区带 (图 2-1 和图 2-2), 紧靠创缘附近为中央区, 深约 200~500 微米, 该区内酶活性进行性丧失。

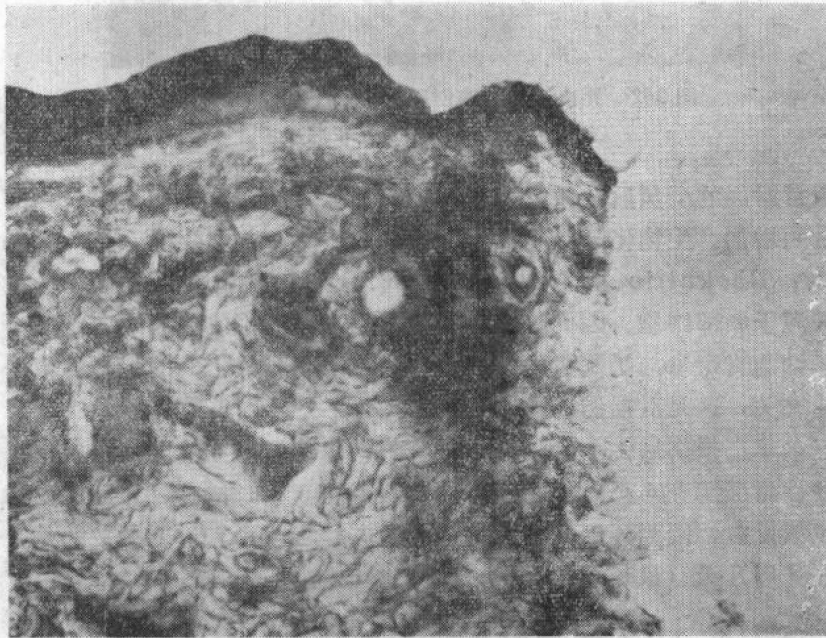


图 2-1 死前 4 小时的创口中的酸性磷酸酶活性。图中右侧为中央区

伤后只需经过 1~4 小时, 用组织化学方法已可证明染色能力减退, 此为临近坏死的先兆。用常规的组织学技术, 要在伤后 8~32 小时, 才能看出创口中央区的进行性坏死。中央区的退变现象称为阴性生活反应, 因在死后形成的创口中见不到此种局部酶活性的降低。中央区内的结缔组织细胞生活能力的减弱, 主要是由于 (1) 损伤的机械性伤害; (2) 局部血管破损导致血液供给减少; 及 (3) 感染 (Raekallio, 1961, 1970)。垂死的细胞发生不可逆转的破坏, 不再能发生诸如酶活性增高那样的反应。

围绕中央正在坏死的区域, 有一外周区, 深 100~200 微米。该区显示酶活性增高 (图 2-1 及图 2-2), 损伤似乎对外周区内遭受可逆性伤害的结缔组织细胞起着一种刺激



图 2-2 死前16小时的创口中的碱性磷酸酶活性。
真皮层酶反应在外周区非常强

作用，经过短暂时间的动员后，激发它们的防御力量。酶活性的增高不仅指酶的激活，亦包括酶含量的增加。生物化学已经证明至少氨基肽酶有此类改变 (Mäkinen 及 Raekallio, 1967; Raekallio 和 Mäkinen, 1967)，创口组织中所出现的过量的酶，在相当程度上来源于局部细胞。因此这些酶并不单是来自血浆或浸润的白细胞，虽然具有酶活性的浸润细胞肯定参与了酶量的增加。一些水解酶和氧化酶的积累，似乎与酶蛋白的再合成加速有关，这是对损伤的酶反应。

在外周区，早在损伤后 1 小时，磷酸腺苷酶和酯酶的活性就已增高，氨基肽酶在 2 小时增高，酸性磷酸酶在 4 小时增高，碱性磷酸酶在 8 小时增高。外周区内酶活性增高可称为阳性生活反应，因为死后伤没有这样的反应。实践中有重要意义的是，组织化学性生活反应在死后几天（最长可达 5 天）尚可以检查出。

表 2-1 人皮肤死前创中酶组织化学性生活反应的出现时间

所查酶活性	外周区增加		中央区减少	
	小 从	时 到	小 从	时 到
三磷酸腺苷酶	1	2	1	2
酯酶	1	2	1	4
氨基肽酶	2	4	2	8
酸性磷酸酶	4	6	4	8
碱性磷酸酶	8	12	4	8