

Zersetzungsprodukte. Zbl. Hyg. 1989, 189, 193-204. -3. Madea B., Musshoff F., Homocidal poisoning with halotane. Int. J. Legal Med., 1999, 113, 47-49. -4. Naschelsky M.B., Dix J.D., Adelstein E.H., Homicide facilitated by inhalation of chloroform. J. Forensic Sci. 1995, 40, 134-138. -5. Pufal E., Sykutera M., Bloch-Bogusławska E., Lis G., Śliwka K., Zgon w następstwie odurzenia się Halonem 1211. Arch. Med. Sąd. Krym. 2000, 50, 169-174. -6. Ramsey J.D., Flanagan R.J., Detection and identification of volatile organic compounds in blood by headspace gas chromatography as an aid the diagnosis of solvent abuse. J. Chrom. 1982, 240, 423-444. -7. Smeeton W.M.I., Clark M.S., Sudden Death Resulting from Inhalation of Fire Extinguishers Containing Bromochlorodifluoromethane. Med.Sci.Law 1985, 25, 258-260. -8. Streete P.J., Ruprah M., Ramsey J.D., Flanagan R.J., Detection and Identification of Volatile Substances by Headspace Capillary Gas Chromatography to Aid the Diagnosis of Acute Poisoning. Analyst, 1992, 117, 1111-1127.

Adres pierwszego autora:

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM
85-094 Bydgoszcz
ul. M. Curie-Skłodowskiej 9

Grzegorz Teresiński, Grzegorz Buszewicz, Roman Mądro

Pośmiertna dyfuzja tlenku węgla do mięśni i krwi - badania wstępne

Post mortem diffusion of carbon monoxide to muscles and blood - preliminary examinations

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. R. Mądro

Celem pracy było wyjaśnienie, czy pośmiertna dyfuzja tlenku węgla (CO) może w istotny sposób wpływać na wyniki oznaczeń poziomu hemoglobiny tlenkowej (COHb) oraz mioglobiny tlenkowej (COMb). Użyto preparatów skórno-mięśniowych i mięśniowych pobieranych ze zwłok dorosłych osób. Na preparaty te oddziaływało CO przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. COHb i COMb oznaczono przy użyciu chromatografii gazowej. Stwierdzono, że skóra bardzo ogranicza dyfuzję CO, który przenikał w niewielkim stopniu jedynie do powierzchniowej warstwy pokrytego nią mięśnia, nie wpływając zaś na poziom COHb we krwi znajdującej się pod 4,5-centymetrową warstwą. Dyfuzja CO przez zwęglony powierzchnie i skoagulowany termicznie mięsień nie różniła się przy tym od tej, która obserwowano przez nienaruszone powłoki. Membrana ze skóry pozbawionej całkowicie podściółki tłuszczowej nie stanowiła natomiast bariery dla umiarkowanej dyfuzji do zlokalizowanej pod nią warstwy krwi. W przypadkach zwęglonych zwłok, wyniki oznaczeń COHb i COMb w materiale pobranych spod warstwy zwęglonych i skoagulowanych tkanek pozwalają zatem na ustalenie, czy ofiara żyła w momencie wybuchu pożaru.

The purpose of the study was to determine whether the postmortem diffusion of carbon monoxide (CO) significantly affected the results of carboxyhemoglobin (COHb) and carboxymyoglobin (COMb) determinations. The musculocutaneous and muscular specimens collected from adult cadavers were used. The specimens were treated with CO for 24h at room temperature. COHb and COMb were determined using gas chromatography. It was demonstrated that the skin substantially limited the diffusion of CO which slightly penetrated only the superficial layers of the muscle and did not change the blood level of COHb in the 4.5-cm layer of the muscle located underneath. The CO diffusion through the superficially charred and thermally coagulated muscle did not differ from that observed in the intact integuments. On the other hand, the membrane of the skin completely deprived of the adipose layer was not the barrier to moderate diffusion into the blood layer situated below. Thus, in charred corpses the results of COHb and COMb determinations in the material collected under the layer of charred and coagulated tissues enable us to determine whether the victim was alive at the moment of fire outbreak.

Słowa kluczowe: zatrucie tlenkiem węgla, hemoglobina tlenkową, mioglobina tlenkową, pośmiertna dyfuzja

Key words: carbon monoxide poisoning, carboxyhemoglobin, carboxymyoglobin, post-mortem diffusion

WSTĘP

Podstawę diagnostyki śmiertelnych zatruc tlenkiem węgla (CO) stanowi oznaczanie stężenia hemoglobiny tlenkowej (COHb) we krwi. W przypadkach znalezienia w zgłiszczach spalonego budynku zwęglonych zwłok ma ono również znaczenie dla ustalenia okoliczności śmierci. Jednym z najważniejszych zadań medyka sądowego jest bowiem wówczas ustalenie, czy ofiara żyła w momencie wybuchu, gdyż spotykane są przypadki podłożenia ognia w celu zatarcia śladów np. zabójstwa.

Fizjologiczny poziom COHb wynosi do ok. 2%, natomiast we krwi palaczy tytoniu stwierdza się do ok. 5-12% COHb (9, 13). Wykazano, że CO powstaje w zwłokach endogennie podczas gnicia, ale wówczas poziom COHb we krwi nie przekracza 10% (8). W płynach z jam ciała może natomiast przekroczyć nawet 80%, zwłaszcza w przypadkach przebywania zwłok w morskiej wodzie (8).

Jeżeli krew nie styka się z powietrzem atmosferycznym, COHb stanowi bardzo trwałe połączenie w temperaturze pokojowej (20, 24). COHb stabilna jest także w zwłokach (17). W podgrzewanych tkankach najpierw dochodzi do koagulacji termicznej wolnej hemoglobiny oraz przekształcenia oksyhemoglobiny w methemoglobinę i jej rozkładu, co może prowadzić do pozornego zwiększenia stężenia COHb w skoagulowanej termicznie krwi (4, 14, 19). Pod wpływem wysokiej temperatury dochodzi jednak także do rozkładu COHb i dyfuzji CO, który może powodować zwiększenie poziomu COHb w ubogich w hemoglobinę płynach ustrojowych z jam ciała. W przypadkach bardzo dużego zwęglenia zwłok i termicznej koagulacji krwi. diagnostyka zatrucia CO jest jednak możliwa przez badanie stężenia mioglobiny tlenkowej (COMb) w wycinkach z głębszych warstw mięśni.

CO jest gazem nieco lżejszym od powietrza i bardzo słabo rozpuszczalnym w wodzie. Znane są liczne przykłady jego łatwej penetracji przez różnego rodzaju bariery architektoniczne (ściany, stropy, warstwy ziemi). Do organizmu jest wchłaniany bardzo szybko przez pęcherzyki płucne, natomiast możliwość przenikania przez powłoki skórne jest najczęściej pomijana. Wielu autorów zalecało jednak i zaleca nadal, by krew ze zwłok do oznaczania COHb była pobierana z jam serca, a nie żył obwodowych - ze względu na ryzyko błędnej diagnostyki w związku z bierną dyfuzją przez powłoki, które przebywały w atmosferze CO (1, 5, 6, 10, 15).

Na problem pośmiertnej dyfuzji CO przez powłoki do tkanek miękkich zwłok jako pierwsi zwrócili uwagę Wachholz i Lemberger (23, 24), którzy umieszczali zwłoki noworodków w naczyniach wypełnionych czystym CO i obserwowali zmianę zabarwienia plam opadowych już po pół godzinnej inkubacji. Według tych autorów nawet po 24-godzinnej ekspozycji narządy wewnętrzne nie wykazywały

obecności COHb, a wykryto ją spektroskopowo (czyli tylko jakościowo !) we krwi z serca dopiero po 7-dniach przetrzymywania ciał w atmosferze CO.

Doświadczenia Wachholza i Lembergera potwierdzili Mirto (11), Dominicis (3), Strassmann i Schulz (22) oraz Stoli (21). Ich doświadczenia były jednak przeprowadzane również z użyciem zwłok noworodków oraz niemowląt, a COHb „oznaczano” jedynie metodami jakościowymi. Strassmann i Schulz wykazali zaś, że po 24-godzinnej przebywaniu zwłok w atmosferze gazu świetlnego, wykrycie CO w głębiej leżących tkankach było możliwe tylko przy pomocy bardzo czułej metody palladowej według Fodora, natomiast metody „chemiczne” i widmowe wypadały ujemnie lub niejednoznacznie. Stoli otrzymał podobne wyniki i stwierdził, iż dodatkowo wyniki wymienionych wyżej metod analitycznych we krwi z serca, głębokich naczyń lub organów wewnętrznych dowodzą zazwyczaj o zatruciu CO. Uzasadził to tym, że próg czułości dla metod „chemicznych” wynosi do ok. 5% COHb, a dla metody widmowej nawet 25% COHb.

Także Schwarzscher i Reuter wykazali (16, 18), że po 14 godzinach przebywania zwłok w atmosferze CO gaz ten przenika wyłącznie do powierzchniowych żył i powierzchniowych warstw mięśni, zaś Breitenacker po 48-godzinnej inkubacji w atmosferze CO stwierdził zaledwie 2-5% COHb we krwi z serca i zatok czaszki, natomiast aż około 75% w powierzchniowych żyłach podskórnych (cyt. za 12).

Za uzasadnioną z praktycznego punktu widzenia uznano więc ocenę efektywności przenikania CO przez skórę w głąb tkanek miękkich z zamiarem wyjaśnienia, czy może ono wpływać w sposób istotny na wyniki oznaczeń COHb oraz COMb w zwłokach, które przebywały w atmosferze CO.

MATERIAŁ I METODY

W komorze o przekroju 4 x 4 cm umieszczano prostopadłościennego kształtu preparaty, które pobierano ze zwłok osób dorosłych po upływie 24-72 godzin od zgonu. Brzegi preparatu uszczelniano wzdłuż ścian komory badawczej (od strony przedziału wypełnionego CO) przy pomocy silikonu. Następnie w reakcji kwasu mrówkowego z kwasem siarkowym uzyskiwano prawie 100 % CO, gromadzono go w worku tedlarowym o pojemności 1500 ml połączonym grubościennymi rurkami igielitowymi z komorą w sposób przedstawiony na rycinie 1. Wymuszony przez pompę perystaltyczną obieg CO wynosił 6 ml/min. Ekspozycja na CO każdorazowo trwała 24 godziny. Eksperyment przeprowadzono w temperaturze pokojowej.

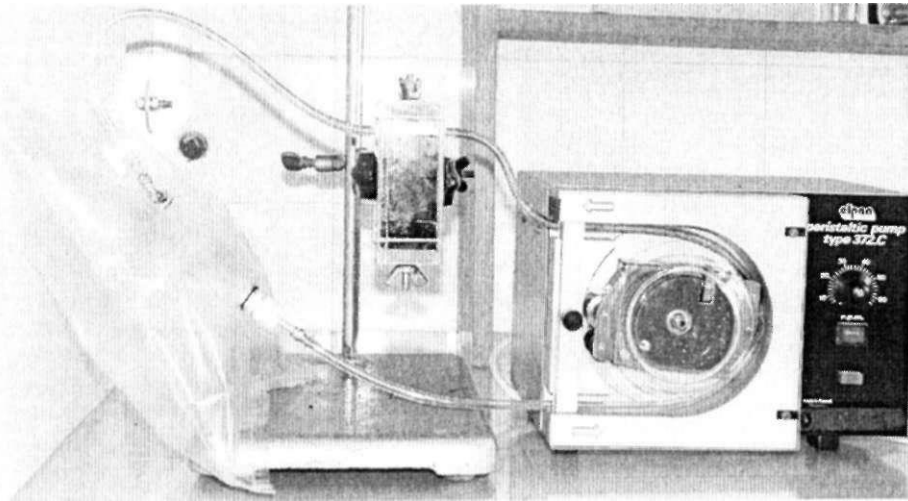
Uwzględniono 4 niżej podane układy badawcze:

- CO - skóra - mięsień¹ - krew²
- CO - skóra (bez tkanki tłuszczowej) - krew²
- CO - mięsień¹ - krew²
- CO - zwęglony powierzchownie mięsień³ - krew²

¹ Blok o wymiarach 4 x 4 x 4,5 cm.

² 10 ml płynnej krwi ze zwłok.

³ Odpowiednio duży preparat mięśniowy zwęglano na płycie grzejnej do chwili, gdy grubość makroskopowo widocznej koagulacji wynosiła 0,5 cm, po czym przycinano go do wymiarów 4 x 4 x 4,5 cm.



Ryc. 1. Układ doświadczalny złożony z wypełnionego tlenkiem węgla worka tedlarowego, który połączono igielitowymi rurkami za pośrednictwem pompy perystaltycznej ze specjalnie skonstruowaną gazoszczelną komorą, w której umieszczano 4 różne preparaty pobierane ze zwłok ludzkich.

Fig. 1. An experimental model consisting of the tedlar bag filled with carbon monoxide and connected through the peristaltic pump by the PVC tubes with the specially constructed gas-tight chamber in which 4 different specimens collected from human corpses were placed.

Stężenia COHb we krwi oraz COMb w 3 warstwach^{*} mięśni (0-1,5; 1,5-3; 3-4,5 cm) oznaczano metodą chromatografii gazowej przy zastosowaniu techniki head-space (2). Identycznie oznaczono również wyjściowe (właściwe dla zwłok, z których pobrano materiał) stężenia COHb i COMb.

WYNIKI

W trakcie eksperymentu, od strony obmywanej przez CO, obserwowano stopniową zmianę zabarwienia mięśnia na jasnoczerwoną do głębokości max. ok. 1,5 cm. Wyniki procentowe oznaczeń COHb i COMb przedstawia tabela 1.

Rezultaty eksperymentu wykazały zatem, że skóra wraz z niezbyt obfitą tkanką tłuszczową (materiał do badań pobierano bowiem ze zwłok normostenicznych) bardzo dobrze izoluje mięśnie, gdyż nawet przy 24-godzinnej ekspozycji na prawie 100% CO zawartość COMb osiągnęła maksymalnie zaledwie 1,7% i to jedynie w powierzchniowej warstwie. Natomiast właściwości izolacyjne skóry pozbawionej tkanki podskórnej (przez zeszkobanie) były znacznie gorsze, ponieważ w warstwie krwi o objętości 10 ml maksymalnie stwierdzono nawet 28,2% COHb.

* Próbkę do oznaczeń pobierano ze środkowej strefy warstwy.

Tabela 1. Stężenia (w %) hemoglobiny tlenkowej i mioglobiny tlenkowej wykazane w poszczególnych warstwach mięśni oraz we krwi po ich 24-godzinnej ekspozycji na tlenek węgla.

Table 1. Concentrations (%) of carboxyhemoglobin and carboxymyoglobin determined in the individual layers of muscles and blood after the 24h of carbon monoxide exposition.

Nr eksperymentu No. of experiment	krew (kontrola) blood (control)	warstwy modelu eksperymentalnego layers of experimental model					
		skóra skin	mięsień muscle			krew blood	
			0-1,5 cm	1,5-3 cm	3-4,5 cm		
A (N=3)	1 2 3	OJ 7,6 3,1	.	0,4 0,4 1,7	0,2 0,2 0,8	0,0 0,4 0,8	0,1 8,3 2,9
B (N=3)	1 2 3	0,1 6,8 0,9	+	-	-	-	13,6 28,2 4,9
C (N=3)	1 2 3	0,3 1,6 0,5	-	3,7 6,5 7,6	0,0 0,1 0,1	0,0 0,2 0,1	0,3 1,6 0,7
D (N=3)	1 2 3	0,0 0,1 4,4	zwęglony charred	8,2 5,2 1,5	0,0 2,8 0,4	0,0 2,1 0,1	0,0 0,0 4,5

(wyjściowe stężenia COMb były zerowe we wszystkich badanych przypadkach w grupach A, C i D)

(the initial COMb concentrations were negative in all examined cases in the experimental groups A, C and D)

Również w przypadkach, gdy ekspozycji poddany był nieosłonięty mięsień, dyfuzja CO była ograniczona, ponieważ stężenie COMb w jego powierzchniowej warstwie wynosiło maksymalnie tylko 7,6% i nie wykazano dyfuzji do warstw głębszych, co dowodzi, że warstwa 1,5 cm mięśnia chroni przez CO warstwy głębsze. Zwęglenie i koagulacja termiczna powierzchniowej warstwy mięśnia nie zmieniała zaś w sposób uchwytany stopnia eksperymentalnego wysycenia przez CO mioglobiny zawartej poniżej skoagulowanej warstwy.

Na szczególne podkreślenie zasługuje zaś to, że we krwi pokrytej 4,5-centymetrową warstwą mięśnia w żadnym z 9 przypadków każdego z 3 eksperymentów (A, C i D) nie stwierdzono istotnego wzrostu COHb ponad jego wyjściowe stężenie.

DYSKUSJA

Kojima i wsp. (9) stwierdzili zaledwie 0,2-2,1% COHb u 2 ofiar zabójstw, których zwłoki zostały spalone. Również Karhunen i wsp. (7) stwierdzili jedynie 4% COHb we krwi z naczyń płucnych w zwęglonych zwłokach wydobytych ze zgliszcz domu (po pożarze wzniesionym dla zatarcia śladów wcześniejszego zabójstwa), aczkolwiek jednocześnie przez przepaloną ścianę klatki piersiowej przeniknęły duże ilości cyjanków (10 mg/l), które powstały z termicznego okładu pochodnych akrylu, a ofiara paliła papierosy.

Wyniki naszych doświadczeń potwierdzają zatem bardzo słabą przenikalność CO przez ludzkie tkanki, gdyż pośmiertna dyfuzja CO do głębiej leżących tkanek jest zbliżona do błędu analitycznego zastosowanej w niniejszej pracy najbardziej czułej chromatograficznej metody oznaczania COHb i COMb. Oznacza to, że nawet w przypadkach zwłok wydobytych z pożaru, pobranie mięśnia lub krwi z głębokości kilku cm od powłok eliminuje błąd wynikający z pośmiertnej dyfuzji i pozwala na rozpoznanie inhalacji CO w tych przypadkach, gdy stwierdzony poziom COHb jest wyższy od możliwego^o zażyciowego. Wbrew panującemu przekonaniu, do oznaczania stężenia COHb nie musi być więc wykorzystywana wyłącznie krew z jam serca. Nie powinno się natomiast pobierać krwi do badań z naczyń leżących bezpośrednio pod skórą.

Wyniki pracy potwierdzają także przydatność oznaczeń COHb w materiale pobranym ze środowiska odizolowanego od wpływów zewnętrznych oraz COMb w głębiej leżących mięśniach nawet wówczas, gdy materiał ten uzyskany zostanie ze zwłok częściowo zwęglonych.

WNIOSKI

Dyfuzja CO w głąb mięśni jest ograniczona zarówno wówczas, gdy okryte są skórą, jak i w tych przypadkach, gdy doszło do powierzchniowego zwęglenia.

Warstwa mięśni o grubości ok. 3 cm gwarantuje odizolowanie warstw głębszych przed oddziaływaniem CO ze środowiska zewnętrznego.

Oznaczenia COHb i COMb w materiale pobranym spod tak grubej warstwy tkanek pozwalają na wnioskowanie odnośnie tego, czy ofiara żyła nawet w przypadku, gdy problem dotyczy zwłok zwęglonych i skoagulowanych termicznie.

PIŚMIENICTWO

1. Breitenecker L: Der Wert der quantitativen CO-Bestimmung für die Kriminalistik und Klinik der CO-Vergiftung, Wiener klin. Wochenschr. 1939, 21, 486-489. -2. Buszewicz G., Mądro R.: Determination of carboxymyoglobin in

cardiac and femoral muscles by means of headspace gas chromatography, Z Zagadnień Nauk Sądowych, 2000, 44, 76-84. -3. De Dominicis: Giornale di medicina legale 1903, 180 (cyt. za 25). -4. Ekblom-Lindholm K.: Effect of heating of blood on the quantitative determination of carbon monoxide haemoglobin, Dtsch. Z. gerichtl. Med. 1968, 63, 114-117. -5. Glaister J.: Medical jurisprudence and toxicology, E. & S. Livingstone Ltd., London 1953, s. 586. -6. Hofmann E.: Atlas und Grundriss der gerichtlichen Medizin, J.F. Lehmann's Verlag, München 1908, s. 413. -7. Karhunen P.J., Lukari I., Vuori E.: High cyanide level in a homicide victim burned after death: evidence of post-mortem diffusion, Forensic Sci. Int. 1991, 49, 179-183. -8. Kojima T., Okamoto I., Yashiki M., Miyazaki T., Chikasue F., Degawa K., Oshida S., Sagisaka K.: Production of carbon monoxide in cadavers, Forensic Sci. Int. 1986, 32, 67-77. -9. Kojima T., Yashiki M., Chikasue F., Miyazaki T.: Analysis of inflammable substances to determine whether death has occurred before or after burning, Z. Rechtsmed. 1990, 103, 613-619. -10. Manczarski S.: Medycyna sądowa w zarysie, PZWL, Warszawa 1957, s. 230.

11. Mirto: Sull' importanza della diffusione dell' ossido di carbone nei tessuti del cadavere per la diagnosi di avvelenamento reale od apparente, Atti della R. Accademia delle scienze mediche, Palermo 1902 (cyt. za 25). -12. Mueller B.: Gerichtliche Medizin, Springer Verlag, Berlin 1953, p. 603. -13. Neuhaus G.A.: Kohlenoxyd, in: Moeschlin S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen, Goerg Thieme Verlag, Stuttgart 1986, s. 276. -14. Oritani S., Nagai K., Zhu B.L., Maeda H.: Estimation of carboxyhemoglobin in thermo-coagulated blood on a CO-oximeter system: an experimental study, Forensic Sci. Int. 1996, 83, 211-218. -15. Reimann W., Prokop O.: Vademecum Gerichtsmedizin, VEB Verlag Volk, Berlin 1973, s. 254. -16. Reuter: Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Berlin 1938, Abt. IV, Teil 12, 1. Hälfte, Bd. 2, s. 1123 (cyt. za 12). -17. Schretzmann: Mumifikation durch Leuchtgas, Dtsch. Z. gerichtl. Med. 1942, 36, 45-48. -18. Schwarzbacher W.: Die Anwendung der spektrophotometrischen Blutuntersuchung in der gerichtlichen Medizin, Dtsch. Z. gerichtl. Med. 1923, 2, 411-422. -19. Seto Y., Kataoka M., Tsuge K.: Stability of blood carbon monoxide and hemoglobins during heating, Forensic Sci. Int. 2001, 121, 144-150. -20. Smith S. (ed.): Taylor's principles and practice of medical jurisprudence, J. & A. Churchill Ltd., 11th edn, London 1957, s. 409.

21. Stoli: Untersuchungen über postmortales Eindringen von Kohlenoxyd in den Körper, Vjschr. gerichtl. Med. 1909, 38, 46-50. -22. Strassmann F., Schulz: Untersuchungen zur Kohlenoxydvergiftung, Berlin, klin. Wochenschr. 1904, 48, 1233 (cyt. za 25). -23. Wachholz L., Lemberger I.: Experimentelles zur Lehre von der Kohlenoxydvergiftung, Vjschr. gerichtl. Med. 1902, 23, 223-230. -24. Wachholz L., Lemberger I.: Przyczynki doświadczenia do nauki o otruciu tlenkiem węgla, Nowiny lekarskie 1902, 14, 149-153. -25. Wachholz L.: Doświadczenia nad rozmieszczeniem tlenku węgla u zaczadzonych, Przegląd Lekarski 1913, 52, 613-616.

Adres pierwszego autora:
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM
ul. Jaczewskiego 8
20-090 Lublin

^o tj. takiego, jaki może powodować palenie papierosów lub przebywanie w towarzystwie palących