

# 실험교혼조직에서 생물학적 Amines 정량에 의한 수상 후 경과시간 판정에 관한 연구

연세대학교 대학원 치의학과

김 성 욱 · 김 종 열 · 김 윤 수

## — 목 차 —

- I. 서 론
  - II. 연구재료 및 방법
  - III. 연구성적
  - IV. 총괄 및 고찰
  - V. 결 론
- 참고문헌  
영문초록

## I. 서 론

변사체의 검시(檢屍)시에 치훈이나 교혼을 발견하게되는 경우를 종종 볼 수 있으며 상법죄의 민발과 치훈에 대한 홍보효과에 따라 그의 감정 수요가 급증하는 추세를 보이고 있다. 즉 교혼 및 치훈의 개인식별의 법의학 및 법치학분야에서의 비중은 매우 높으며 이미 국내외적으로 널리 응용되고 있으나 최근에 와서는 교혼의 개인식별의 차원을 넘어 교혼손상의 수상 후 경과시간을 추정함으로써, 교혼을 다양하고 보다 그 과학적 가치를 증대시킬 수 있도록 함이 필요한 요구로 등장되고 있다.

고래로 손상의 생전사후감별은 법의학분야의 중요한 과제로서 여러 학자들에 의한 다각적인 연구검토가 있으며 1786년 Plenck<sup>1)</sup>는 이미 사전손상에서의 생체반응을 관찰하고 사후손상과의 감별이 중요함을 지적하였다.

사체의 손상을 육안적으로만 검사하여도 손상의 사전발생여부를 결정할 때 다소 도움이 되며 약 12시간이 경과한 손상은 그 창면부가 갈라지고 종창이 일어나며 염증과 치유의 징후가 나타난다<sup>2)</sup>.

그러나 Fatteh<sup>3)</sup>에 의한 연구에서는 출혈과 충분한 fibrin 형성조차도 손상의 발생시간을 나타내는 확고한 지침으로써 완벽하게 믿을 만한 것은 못

된다고 하였다. 따라서 좀 더 나아가서 조직학적 검사가 필요할 수도 있으며 조직학적검사에는 수상 경과시간을 추정하는 데 있어 대체로 염증세포의 변화를 나타낼 수 있는 4~8시간의 잠복시간이 존재하므로 수상초기의 손상의 경과시간추정에는 응용할 수 없다.

그러나 수상 후 조직 내의 효소변동은 비교적 조기인 1시간후부터 일어나기 때문에 효소변동을 조직화학적으로 분석함으로써 손상의 보다 초기변화를 구명하려는 노력이 시도되어 즉, 최근 수년 동안 Berg<sup>4)</sup>, Fatteh<sup>5)</sup>, Lindner<sup>13)</sup>와 다른 몇몇 연구자들에 의해 사전손상에 대한 초기반응의 존재가 확인되었으며 사후손상에서는 조직 내 효소의 변동은 없다는 것이 확인된 바 있다.

나아가 Viragos-Kis와 Fazekas<sup>22)</sup>는 의사(縊死)시 경부결찰후부에서 free-histamine의 양이 증가하였다는 보고를 하였으며 그 후 Raekallio<sup>23, 24)</sup>에 의하여 histamine과 serotonin은 급성염증에 있어서 초기의 염증에 관여하는 화학적 매개체로서 생화학적 형광분광법에 의해 비교적 용이하게 정량되며 수상 후 수분 내지 수십분 이내에 변동하는 amines 치를 분석함으로써 사망 전 1시간이내에 입은 손상에 대한 수상경과시간을 추정할 수 있음이 밝혀지기에 이르렀다.

한편 高部<sup>25)</sup>, 大野<sup>26)</sup> 및 文<sup>28, 29)</sup>과 崔<sup>40, 41)</sup>에 의한 조직학적방법 및 조직화학적방법에 의한 수상경과시간판정에 관한 연구 등이 있으나 아직 구명해야 할 점이 많다고 하겠으며 특히 교혼손상에 대한 초기경과시간을 생물학적 amines을 정량검출함으로써 추정하는 연구는 국내외적으로 보고된 바 없음에 착안하여 저자는 실험동물을 이용한 실험교혼에서 시간경과에 따른 생물학적 amines의 정량검출을 시도하고 감정실무에서 응용할 수 있는 교혼의 경과시간추정에 대한 연구의 기초가 될 수 있는 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

## II. 연구재료 및 방법

### 가. 실험동물

체중 200g 내외의 자성백서 66마리와 체중 450g 내외의 자성 guinea pig 27마리를 사용하여 백서는 대조군과, 실험교환 후 즉시, 5분, 10분, 30분, 1시간, 4시간, 8시간, 12시간, 24시간, 48시간에 각군 6마리씩을 희생시킨 다음 10분경과 후에 하복부피부조직을  $4 \times 4$  cm씩 절제하여 실험에 사용하였고, guinea pig에서는 동일개체에서 좌측하복부에 실험 교환을 형성시켜 실험군으로, 교환을 가지 않은 우측하복부피부조직을 대조군으로 사용하였으며 실험교환 후 즉시, 5분, 10분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 12시간에 각각 3마리씩을 희생시킨 다음 10분경과 후에 백서와 동일한 방법으로 피부조직을 절제하여 실험에 사용하였다.

교환은 Kelly forceps (Solco제품)으로 40초간 최대교합력을 가하여 형성시켰다.

### 나. 복부수상 후 시간경과에 따른 백서 및 guinea pig피부조직 내 histamine농도 변동에 관한 실험

각 실험동물의 하복부를 전기면도기로 삭모시킨 48시간 후에 전술한 방법으로 교환을 형성시켜 각군의 해당시간에 실험동물을 희생시키고 10분 후 조직을 절제하여 다음과 같은 방법으로 histamine을 정량분석 하였다.

#### 1. 정량방법<sup>10, 22</sup>

##### (가) 시료용액 준비

백서 및 guinea pig의 피부조직 0.5g을 20ml의 Tyrode용액에 넣고 잘게 조각낸 후 16~18 시간동안 4℃ 냉장고에 보관한 후 Whatman No. 2. 여과지로 여과하여 백서의 경우는 여과액 1.6ml에 Tyrode 용액 6.4ml을 가하여 8ml로 희석하였으며, guinea-pig는 여과액 8ml를 각각 shaking tube에 옮긴 다음 5N NaOH 1ml, NaCl 3g, n-butanol 20ml를 가하고 교반기 (Clay-Adams 사제품, U. S. A.)로 분당 285회 교반하도록 조정하여 5분간 교반시킨 후 2500 RPM에서 원침 (General Electric사 제품, U. S. A.)시켜 이 용액을 organic phase와 aqueous phase로 분리시켰다.

이 organic phase에서 15ml를 취하여 salt satur-

ated 0.1N NaOH 10ml를 넣고 1분간 교반시킨 다음 다시 organic phase와 aqueous phase가 분리되도록 실온에서 방치하였다.

이 과정에서 얻은 organic phase 13ml를 0.1N HCl 17ml, n-heptane 30ml를 교반용시험관에 옮긴 후 1분간 교반시킨 다음 실온에서 방치하여 상층액과 하층액으로 분리시킨 후 하층액에서 2.5ml를 취하여 시험관에 옮기고 1N NaOH 0.5ml를 가한 즉시 Vortex mixer로 진탕한 후 O-phthalaldehyde 125 $\mu$ l를 다시 가하여 Vortex mixer로 진탕시킨 후 4분간 실온에서 방치하였다. 그 후 3N HCl 250 $\mu$ l를 가하여 Vortex mixer로 진탕시켜 반응을 정지시킨 다음 Turner fluorometer model III를 이용하여 365nm (primary filter, 7-60)에서 시료를 excitation시키고, 485nm (secondary filter, 8)에서 emission되는 형광강도를 측정하여 표준곡선과 비교하여 농도를 계산정량하였다.

시료맹검 (sample blank)은 O-phthalaldehyde용액 125 $\mu$ l 대신 3N HCl 250 $\mu$ l를 넣은 후 4분 후에 O-phthalaldehyde 용액 125 $\mu$ l를 가한 뒤 소정의 방법으로 형광강도를 측정하여 그 값을 시료에서 나타나는 형광강도에서 감하였다.

##### (나) 표준용액 준비

표준용액은 histamine을 ml당 30 $\mu$ g씩 0.1N HCl에 녹인 다음 이 용액을 0.1N HCl로 500배 희석하여 농도를 0.06 $\mu$ g/ml로 조정한 후 다음과 같은 방법으로 histamine양을 희석하였다.

	Histamine sol.	0.1N HCl
Blank	-	2.5 ml
0.0075 $\mu$ g/ml	0.313 ml	2.187 ml
0.015 $\mu$ g/ml	0.625 ml	1.875 ml
0.03 $\mu$ g/ml	1.25 ml	1.25 ml
0.06 $\mu$ g/ml	2.5 ml	

이 용액 (2.5ml)에 1N NaOH 0.5ml를 가한 후 즉시 Vortex mixer로 진탕시킨 뒤 소정의 방법으로 준 정량곡선을 구하였으며 표준용액에 대한 맹검은 3N HCl 250 $\mu$ l를 먼저 넣고 진탕시킨 후 4분 뒤에 O-phthalaldehyde용액 125 $\mu$ l를 가하여 형광강도를 측정하였다.

## 2. 시약 제조

### Tyrode I 용액과 Tyrode II 용액

Tyrode I 용액은 NaCl 100g, KCl 2.5g, CaCl<sub>2</sub> 2.5g 과 MgCl<sub>2</sub> 1.25g을 재증류수에 녹여 volumetric flask를 이용하여 500ml 까지 채웠으며 실온에 보관하였다.

Tyrode II 용액은 NaHCO<sub>3</sub> 25g과 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.5g을 재증류수에 녹여 Volumetric flask를 이용하여 500 ml까지 채운 후 실온에 보관하였다.

Histamine을 정량할 때는 Tyrode I 용액 40ml와 Tyrode II 용액 20ml를 혼합한 후 재증류수로 1l이 되도록 희석하여 실험에 사용하였다.

### 5N NaOH

NaOH 200g을 재증류수에 녹여 1l로 만들었다.

### N-butanol

### 0.1N NaOH saturated with NaCl

0.1N NaOH 용액에 NaCl이 녹지 않을 때까지 NaCl을 넣어 만들었다.

### N-heptane

### 1 N NaOH

### 1% O-phthalaldehyde 용액

Absolute methanol 10ml에 O-phthalaldehyde 100mg을 넣고 충분히 녹여 사용하였으며 이 용액은 실험 직전에 만들었다.

### 3N HCl

### Histamine saturated in 0.1N HCl

다. 복부수상 후 시간경과에 따른 백서 및 guinea-pig 피부조직 내 serotonin 농도 변동에 관한 실험.

### 1. 정량방법<sup>4, 11, 12)</sup>

#### (가) 시료용액 준비

백서와 guinea-pig의 피부조직 0.5g을 cold acidified butanol 30ml에 넣고 잘게 조각낸 후 16~18 시간동안 4℃ 냉장고에 보관한 다음 Whatman No. 2 여과지로 여과한 여과액 20ml를 취하여 heptane 40ml, 0.1% cysteine을 함유한 0.1N HCl 3.2ml를 가한 후 5분간 교반시켜 organic phase와 aqueous phase가 분리될 때까지 실온에 방치하였다. 분리된 aqueous phase 용액 0.5ml와 O-phthalaldehyde 용액 3ml를 가한 즉시 혼합한 후 끓는 물 증탕에서 15분간 방치한 후 식힌 다음 Turner fluorometer model III로 시료용액을 365nm에서 excitation 시키고, 485nm에서 emission되는 형광강도를 측정하였다.

시료맹검은 aqueous phase 용액 0.5ml에 10N HCl 3ml를 가한 후 동일한 방법으로 형광 강도를 측정하여 시료에서 얻은 형광강도에서 감하였다.

#### (나) 표준용액 준비

Serotonin을 0.1% cysteine이 포함된 0.1N HCl 용액 1ml당 30μg을 녹인 후 같은 용액으로 다음과 같이 희석하였다.

	Serotonin sol.	0.1N HCl containing 0.1% cysteine
Blank	-	0.5 ml
0.075 μg/ml	0.125 ml	0.375 ml
0.15 μg/ml	0.25 ml	0.25 ml
0.3 μg/ml	0.5 ml	-

이 용액에 O-phthalaldehyde 용액 3ml를 가한 즉시 Vortex mixer로 혼합한 후 끓는 물 증탕에 15분간 방치한 후 소정의 방법으로 형광강도를 측정하였다.

## 2. 시약제조

### Cold acidified butanol

n-butanol 1l에 진한 염산 0.85ml을 가한 후 4℃ 냉장고에 보관하였다.

### 0.004% O-phthalaldehyde 용액

10N HCl 100ml에 O-phthalaldehyde 4mg을 실험 녹여 사용하였다.

### 0.1% cysteine 용액

0.1N HCl 100ml에 cysteine 100mg을 실험 직전에 녹여 사용하였다.

## III. 연구성적

### 가. 복부수상 후 시간경과에 따른 백서 피부조직 내 histamine 및 serotonin 농도 변동

#### 1. Histamine 농도 변동

체중 200g 내외의 자성백서를 대조군과 손상군으로 나누어 손상군은 하복부 피부조직을 Kelly forceps으로 40초간 최대교합력을 가한 후 시간별로 histamine 변동치를 Turner fluorometer model III에서 측정된 결과는 Table I 과 같다.

Table 1. Changes of histamine in the abdominal skin of rats after experimental bite injury

Group	Histamine Contents ( $\mu\text{g/g skin}$ )
Control	$2.41 \pm 0.55^*$
Injury after 0 min	$2.15 \pm 0.23$
5 mins	$2.17 \pm 0.16$
10 mins	$2.48 \pm 0.26$
30 mins	$1.61 \pm 0.39$
1 hr	$1.90 \pm 0.28$
4 hrs	$1.03 \pm 0.17$
8 hrs	$0.87 \pm 0.12^{**}$
12 hrs	$2.97 \pm 0.28$
24 hrs	$3.67 \pm 0.60$
48 hrs	$2.28 \pm 0.29$

\* Mean  $\pm$  SE

\*\* P < 0.05

즉, 수상 후 10분까지는 대조군과 수상군간에 histamine 양의 차이는 없고 30분후부터 감소되기 시작하여 8시간 후에 가장 많이 감소되었으며 (P < 0.05), 12시간 후부터 대조군수준으로 회복되어 24시간 후에는 오히려 약50%가 증가되었다가 48시간 후에는 대조군과 같은 수준으로 환원되었고 이 결과를 대조군에 대한 백분율로 표시하면 Fig. 1과 같다.

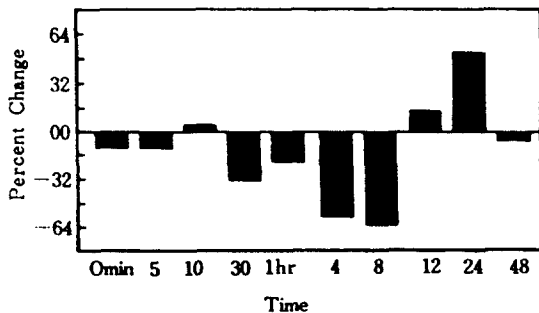


Fig. 1. Percent changes of histamine in the abdominal skin of rats after injury as compared to control.

위의 성적은 사람이나 guinea pig의 경우와는 반대로 백서의 피부조직에서는 histamine 양이 오히려

감소됨을 보이고 있다.

## 2. Serotonin 농도 변동

수상조직에서의 serotonin 농도는 10분 후를 제외하고 1시간까지 감소하는 경향을 보였으며 2시간 후부터 회복되어 4시간에서 8시간까지는 증가되며 그 이후에 대조군 수준으로 감소되었으며 그 성적은 Table 2에 보이는 바와 같다.

Table 2. Changes of serotonin in the abdominal skin of rats after experimental bite injury.

Group	Serotonin Contents ( $\mu\text{g/g skin}$ )
Control	$3.72 \pm 0.51^*$
Injury after 0min	$3.28 \pm 0.33$
5 mins	$3.40 \pm 0.46$
10 mins	$4.12 \pm 0.34$
30 mins	$3.22 \pm 0.68$
1 hr	$2.58 \pm 0.46$
4 hrs	$4.86 \pm 0.37$
8 hrs	$4.61 \pm 0.34$
12 hrs	$3.78 \pm 0.49$
24 hrs	$3.66 \pm 0.32$
48 hrs	$3.78 \pm 0.35$

\* Mean  $\pm$  SE

위의 성적을 대조군에 대한 백분율로 표시하면 Fig. 2와 같다.

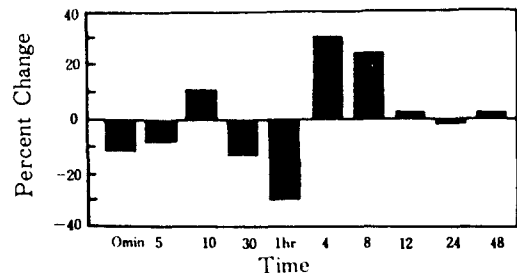


Fig. 2. Percent changes of serotonin in the abdominal skin of rats after injury as compared to control.

이러한 serotonin 농도 변동양상은 피부조직 내 histamine 치 변동과 일치하며 사람과 guinea pig 에서 보고된 성적과는 상반됨을 보였다.

나. 복부수상 후 시간경과에 따른 guinea pig 피부조직 내 histamine 및 serotonin농도 변동

1. Histamine농도 변동

Guinea pig의 하복부피부조직에서의 실험교혼에 의한 수상 후 경과시간에 따른 histamine치의 정량성적은 Table 3 과 같다.

Table 3. Changes of histamine in the abdominal skin of guinea pigs after injury (n=3)

Group	Histamine Contents (ng/g skin)	
	Control	Injury
0min	38.90 ± 9.40*	66.50 ± 11.40
5mins	68.40 ± 6.80	63.20 ± 9.10
10mins	79.60 ± 9.10	96.90 ± 23.20
30mins	55.30 ± 6.80	70.70 ± 14.40
1hr	46.80 ± 13.40	54.30 ± 16.30
2hrs	37.00 ± 9.40	43.50 ± 11.70
4hrs	34.70 ± 14.40	35.70 ± 11.40
8hrs	29.10 ± 7.80	40.20 ± 13.40
12hrs	57.60 ± 12.00	74.00 ± 11.10

\* Mean ± SE

Guinea pig에서는 수상후 백지에서 얻은 성적과는 반대로 수상직후(0min)에 histamine양은 대조군에 비해 70%가량 증가되었다가 5분후에 다소 감소된 후 12시간까지 전반적으로 증가되었다.(Fig.3.)

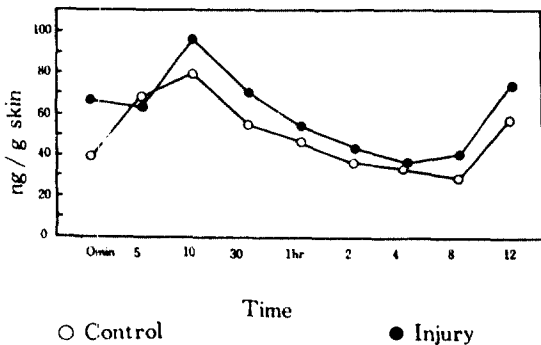


Fig. 3. Changes of histamine in the abdominal skin of guinea pigs after injury.

이러한 성적은 Raekallio<sup>20, 21)</sup> 와 Sivaloganathan<sup>27)</sup> 의 보고와 일치하며 사람에게 수상 후 나타나는 변화<sup>20, 21, 27, 29)</sup> 와 일치한다. 그러나 guinea pig의 피부조직 내 histamine의 농도는 백서의 경우에 비해 약 1/30 정도에 불과하였다.

위의 성적을 대조군에 대한 백분율로 표시하면 Fig. 4 와 같다.

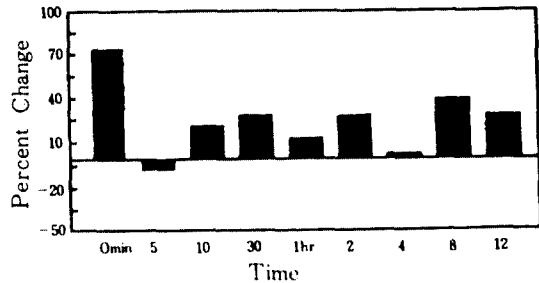


Fig. 4. Percent changes of histamine in the abdominal skin of guinea pigs after injury as compared to control.

2. Serotonin 농도 변동

Guinea pig에서 정량검출된 serotonin 농도는 백서의 약 1/20에 해당하는 극미량으로 동일개체에서 정량검출된 histamine의 약 2.5배에 해당하며 시간에 따른 농도변화를 측정된 성적은 Table 4 에 보이는 바와 같다.

Table 4. Changes of serotonin in the abdominal skin of guinea pigs after injury (n=3)

Group	Serotonin Contents (ng/g skin)	
	Control	Injury
0 min	142 ± 22*	132 ± 13
5 mins	136 ± 8	155 ± 17
10 mins	159 ± 6	154 ± 15
30 mins	130 ± 11	151 ± 17
1 hr	135 ± 1	144 ± 7
2 hrs	137 ± 3	150 ± 7
4 hrs	153 ± 7	157 ± 23
8 hrs	133 ± 11	136 ± 19
12 hrs	144 ± 12	153 ± 11

\* Mean ± SE

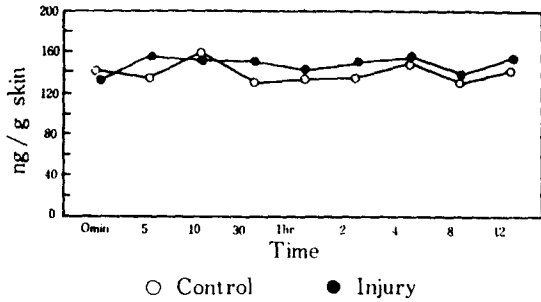


Fig. 5. Changes of serotonin in the abdominal skin of guinea pigs after injury

Fig. 5에서 보인 바와 같이 수상즉시와 10분대에 약간 감소되는 경향을 보일 뿐 백서와는 대조적으로 실험군에서 대체로 증가되는 성적을 얻었다. 각 대조군의 serotonin 농도에 대한 실험군의 농도비율 변화를 보면 (Fig. 6) 수상 후 30분에 최대의 비율로 증가하였으며 12시간까지 비율은 다르지만 전반적으로 증가되는 것을 알 수 있었다.

또한 serotonin 농도는 histamine 농도와 마찬가지로 4 시간대에서 대조군 수준으로 유지되었으며, histamine 치와 공통된 점은 수상 후 단시간인 30분 이내에 최대의 증가율을 보였다.

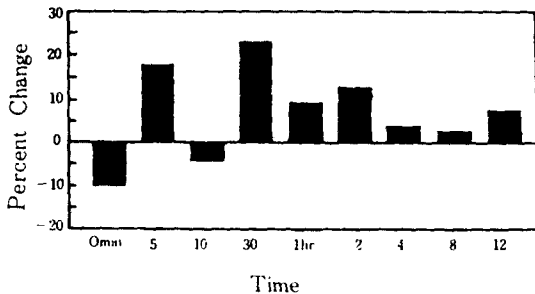


Fig. 6. Percent changes of serotonin in the abdominal skin of guinea pigs after injury as compared to control

#### IV. 총괄 및 고찰

법의 부검시에 단순히 발견되는 손상에 대한 기록의 완성으로써 작업이 끝나지 않으며 사망의 원인도 사건의 재구성보다는 때로는 덜 중요한 것이 될 수도 있고 이 사건의 재구성은 손상의 조심스러운 조사와 합당한 수상시간에 대한 추정이 있을 때

가능한 것으로서 날로 절실히 요구되어가는 과학수사에는 더욱 더 수상시간에 대한 추정이 중요한 몫을 차지하고 있다.

가령 죽은 사람이 사후에 다시 자동차에 의한 또 다른 손상을 입을 수도 있는데 그 큰 손상이 사후에 형성된 것임을 깨닫지 못할 때 법의학적인 단과오가 성립될 수 있게 된다<sup>22)</sup>.

물질문명의 발달과 성범죄의 증가추세에 따른 성범죄적 살인사건 등에서 빈번히 발견되는 지흔이나 교흔에 의한 손상 역시 그 손상에 대한 형태학적인 개인식별은 법의학이나 법지학분야에서 매우 중요한 몫을 차지해오고 있다. 그러나 사건의 재구성과 수상시간판정이 필요한 시점에서는 개인식별만으로는 어려움에 도달하게 됨을 보아왔다<sup>23)</sup>.

육안으로 손상의 외형만을 관찰하여 손상의 경과 시간을 정확히 추정하는 것은 극소적 염증작용의 정도가 다양하기 때문에 불가능하며 Odland와 Ross<sup>14)</sup>에 의하면 평균적으로 상연은 12시간 경과 후에 발적과출혈, 24시간 경과 후에 가피형성, 36시간 경과 후에 창연에서의 상피상생의 기시와 4~5일 경과 후에 상피화의 완성을 볼 수 있다고 하였다.

그러나 이러한 외형적 변화도 최소한 12시간이 경과되어야 그 뚜렷한 변화를 알 수 있는 것이므로 좀 더 나아가서 손상에 대한 조직화학적 검사를 필요로 할 수 있으며, Robertson<sup>24)</sup> 과 Walcher<sup>25)</sup>에 따르면 수상 4~8 시간 경과 후에 다핵중성백혈구의 침윤을 볼 수 있고 12시간 경과 후에 단핵세포의 출현, 15시간 경과 후에 섬유아세포들의 세포분열이 시작되고, 36시간 내지 48시간 경과 후에 상피화의 기시 등의 조직학적 변화가 있다고 하였다. 그러나 이러한 조직화학적 검사는 손상의 발생시간을 추정하는 데 있어 염증세포가 변화를 일으키는 4~8 시간이 경과해야 하기 때문에 이러한 현상이 사망전 1시간이내의 수상시간 추정에는 응용할 수 없다고 Raekallio<sup>18, 19)</sup> 와 Sivaloganathan<sup>27)</sup>은 말하였다.

한편 손상을 받은 후 조직내에서는 비교적 초기인 약 1시간경부터 조직 내 효소의 변동이 있음은 최근 Fattah<sup>7)</sup>와 몇몇 연구자들<sup>8, 13, 28, 33, 35, 36)</sup>이 발견, 보고하였는 바 사전손상에서의 초기반응의 존재가 확인되었고 사후손상에서는 조직 내 효소변동이 없다는 것이 확인되었다. 이러한 조직화학적 소견은 사후 수일이 경과하여도 기명할 수 있는 것이므로 실제로 활용할 수 있는 좋은 방법이다.

즉, 수상 후 1시간에 esterase와 adenosine triphosphatase, 2시간에 aminopeptidase, 4시간에 acid phosphatase, 8시간에 alkaline phosphatase, 그리고 16시간 후에는 mononuclease가 증가된다.<sup>6</sup>

8, 13, 20, 26, 40

이상과 같이 조직 내 효소변동에 의한 수상경과 시간의 추정이 불가능한 시간은 수상경과 약 1시간으로서 사망전 1시간이내의 사건재구성을 뒷받침할 만한 과학적 근거가 아직 잘 구명(究明)되어 있지 아니하나, Raekallio<sup>20, 21</sup>에 의하면 급성염증이 있어서 초기성염증에 관여하는 조직 내 화학적 매개체로서 histamine과 serotonin은 손상 후 조직 내에서 가장 먼저 변동하는 물질이며 수상 후 histamine은 20~30분 이내에, serotonin은 10~20분 이내에 최고치에 달하고 형광분광법으로 비교적 용이하게 정량할 수 있어 사망직전부터 약 1시간 이내까지의 수상관정이 가능하다고 하였고 실제 그는 수상 후 1시간 이내에 죽은 사망원인과 수상시간을 알고 있는 20구의 사체를 범의부검한 결과에서 그 연령, 성별, 손상부위, 손상종류별로 분류하여 free histamine과 serotonin을 정량했을 때 free histamine은 1.5~5.5배의 증가가 있었고 serotonin은 수상 후 30분경까지 심한 경우는 8배의 증가현상을 보였음을 보고하고 이러한 변동치는 사체에서 최소한 4~5일 동안은 지속적으로 유지되었음을 보고한 바 있다.

Viragos-Kis와 Fazekas<sup>22</sup>는 생물학적 amines 검출을 법의학분야에 최초로 응용하였으며 1965년의 의사(縊死)로 인한 사체의 검출후회에서 free histamine 양이 증가함을 보고하였다.

Free histamine은 spectrofluorometry로 Shore<sup>20</sup> 등의 방법에 따라 측정하여, 법의학적으로 수상시간경과 추정에 이용하려고 많은 학자들이 실험적 연구를 해왔으며, 사후손상에서는 free histamine과 serotonin의 증가는 없다는 것이고 이러한 사실은 이 두 물질이 방출되기 위해서는 효소로 조절된 생체반응 과정과 에너지를 필요로 하기 때문이라고 Raekallio<sup>21</sup>는 말하였으며 이 과정에서 필요한 에너지는 주로 산화인산화작용에 의해 생성되는 것이기 때문에 죽음은 혈류와 산소공급이 중단되어 adenosine triphosphate 합성을 위한 에너지의 주된 근원이 차단되어 adenosine triphosphate의 합성이 되지 않음으로서 세포내 Ca<sup>++</sup> 축적을 유발시켜, 증가된 Ca<sup>++</sup>은 산화인산화작용의 강력한 억제제로 작

용하며 따라서 산화인산화작용이 불가능하게 되어 세포는 죽게 된다.

그럼에도 불구하고 세포내활성이 유지되나 사후에 곧 소멸된다고 하였다. 그러나 생전손상으로 증가된 histamine과 serotonin 양이 사후 수일에도 그 증가된 상태대로 유지되는 것으로 설명하고 있다. 이와 관련해서 Raekallio<sup>21</sup>는 실험적으로나 실제에 있어 손상부위에서 amines치의 변동이 없다는 사실은 손상이 반드시 사후손상이라고 단정할 수는 없으나, amines치의 변동이 있다는 사실은 분명히 생전손상이라고 판단할 수 있다고 하였다.

Histamine은 histidine이 decarboxylation되어 형성되는 데 적어도 3 종류의 저장소에서 생성된다고 보고되어 있다.<sup>23</sup>

그 한 분류가 비만세포와 basophile의 과립에서 생성되고 비만세포는 즉시성과민반응(immediate hypersensitivity)에서 첫 단계로 형성된 항원, 항체 복합물과 histamine유리에 관여하는 물질에 의해서 과립이 분해되고 histamine을 유리시킨다. 후자는 비만세포의 과민성을 들어 과민세포 또는 감정세포라고 칭하기도 하였다.<sup>24</sup>

이 때 유리되는 정도는 항원과 항체의 역가에 의해서 좌우되며 유리현상은 2-deoxyglucose와 같은 대사억제제의 첨가에 의해 방해된다고 보고되어 있다.<sup>1, 2, 11, 12, 24</sup>

비만세포와 histamine과의 상호관계는 피층류, 폐어류, 새, 그리고 포유류에서 찾을 수 있다. 즉, Beaven<sup>1, 21</sup>에 의한 연구보고서에서 이러한 상호관계는 양서류와 물고기에서는 볼 수 없는 것으로 되어 있고 일반적으로 하등척추동물에서는 비만세포 속에 histamine이 없으며 이러한 종에는 대부분의 histamine이 위장과 그 외 약간의 부위에서 발견되며 진화과정에서 histamine은 소화기관과 가장 먼저 관련되어 나타나고, 다시 육지생활에 적응된 척추동물의 비만세포와 연관하여 나타난다고 하였다.

비만세포가 서로 다른 종류의 크고 작은 자극에 대하여 반응하는 차이는 다양하고 민감하며, 현재까지는 알려져 있지는 않으나, 서로 다른 종류의 비만세포가 있을 지도 모른다는 것이 미래의 연구에서 발견될 지도 모른다고 추리하고 있다.<sup>25</sup>

이러한 생물학적 amines의 독특한 성질과 변화가 법의학에서 수상경과시간의 추정, 특히 손상즉시

또는 수십분 이내로 뚜렷한 변화를 보이는 성질을 이용한 사망 전 단 시간 이내의 수상여부판정에도움이 되는 과학적 근거가 될 수 있는 가능성을 짐작할 수 있다.

Raekallio,<sup>20, 21</sup> Shore,<sup>20</sup> Sivaloganathan<sup>27</sup> 그리고 Weissbach<sup>34</sup> 등은 수상조직이나 실험동물을 이용한 켈, 간, 장과 피부 등의 조직에서 생물학적 amines의 검출을 시도하였고 Raekallio<sup>21</sup>와 Sivaloganathan<sup>27</sup>의 실험에서는 guinea pig이 자주 실험동물로 사용되었으며 그 결과는 거의 모든 경우 수상30분 이내에서 그 정량검출치가 최고의 비율로 증가하였고, Raekallio와 Makinen<sup>21</sup>의 실제 법의부검 보고서에서 대상이 되었던 손상의 종류는 개방성손상내지는 그 손상의 크기가 큰 열상, 절상, 찰과상, 화상, 의사(縊死)로 인한 결찰흔 또는 동물에 의한 교흔 등으로 나눌 수 있다. 저자의 실험에서는 백서와 guinea pig를 이용하고, 이종동물간의 비교연구를 시도하였으며, 이 때에 적용한 손상은 기구에 의한 비개방성교흔조직을 가지고 실험하여 생물학적 amines치의 변동을 관찰하였다.

저자의 실험에서 백서실험군이 guinea pig 실험군에 비해 추가로 24시간 및 48시간까지 더 관찰한 까닭은 손상 후 일반적으로 amines치가 증가한다는 개념과는 달리 거의 모든 백서실험군에서 histamine과 serotonin의 양이 감소하기 때문에 정상에 가깝게 회복되는 시간을 관찰하고자 함이었다.

Raekallio<sup>20, 21, 22</sup>에 의하면 free histamine과 serotonin은 생전손상부위에서 수상 후 5~30분대에서 가장 큰 증가를 보이며, 그 증가폭은 일정하진 않으나 증가와 회복의 시간적 변화곡선은 대개 일정함을 guinea pig과 사람의 사체부검에서의 연구에서 볼 수 있다고 하였으며 실험동물, 개체, 부위별, 경과시간, 손상의 크기와 종류에 따라서도 증가폭은 달라질 수 있다고 하였다.

그러나 저자의 백서실험군들 가운데서 적어도 1시간간까지는 histamine과 serotonin치가 모두 감소하는 사실은 특이한 현상이라고 할 수 있으며 이는 아마도 이종동물간의 amines치의 증감폭이 다르다는 차원을 넘어서 펍 흥미있는 사실로 사료된다.

Beaven<sup>21</sup>은 동물실험의 케에서의 serotonin추출량은 백서가 guinea pig 보다 약 10배가량 많으며 장에서는 반대로 guinea pig이 백서보다 약 3배가량 많다고 하였다. 그리고 guinea pig은 모든 실험동물 중에서 histamine의 치사량에 가장 예민하여 0.4mg

/kg에 치사하게 되며, 백서와 mouse는 아주 내성이 강하여 200mg/kg의 치사량을 보인다고 하였다.

이런 사실로 미루어, 동물의 종간의 차이와 부위별 차이가 현저하다는 사실을 토대로 저자의 실험에서 guinea pig의 성적을 보면 백서와는 현저한 차이점이 있었다. 즉, guinea pig 실험군에서 수상 후 histamine과 serotonin치가 증가하였으며 이는 Raekallio<sup>21</sup>와 Sivaloganathan<sup>27</sup>의 실험성과 일치되며, 특히 수상 후 30분 이내에서 histamine과 serotonin의 증가폭이 최고에 이르렀고 serotonin의 경우 2시간대까지는 약간의 증가현상들이 유지되었으며 4시간대에서 정상에 가까워진 성적은 Raekallio<sup>21</sup>와 Sivaloganathan<sup>27</sup>의 성적과 거의 일치하였다.

Guinea pig에 대한 실험교흔에서 이렇게 대부분 일치하지만 법의학 및 법치학적인 실제문제의 응용에 있어서는 손상의 크기, 부위나 종류에 따라서 amines치의 변화폭이 달라질 수 있는 점은 명심해야 할 사실로 받아들여야 할 것으로 본다.

Raekallio<sup>22</sup>에 의하면 guineapig의 모발의 성형태는 사람의 모발성형태와 유사하며 피부조직에 대한 조직학적 특성이 사람과 가장 유사하여 피부조직에 관한 실험으로는 가장 적당한 동물이라고 하였다.

따라서 guinea pig의 하복부피부에 실시한 실험교흔부에서 정량검출한 생물학적 amines 농도의 변화에 대한 본 연구는 법의학 및 법치의학분야의 실무에서 수상 후 경과시간추정에 대한 응용에 다소나마 기초적 자료가 될 수 있을 것으로 사료된다.

## V. 결 론

저자는 백서 66마리와 guinea-pig 27마리를 이용한 실험교흔에서 시간경과에 따른 생물학적 amines의 정량검출을 시도하고 감정실무에 응용할 수 있는 교흔의 경과시간추정에 대한 연구의 기초가 될 수 있다고 사료되는 아래와 같은 실험결과를 얻었다.

1. 백서에서 histamine은 수상 후 8시간까지는 대체로 감소하고, 12시간에 회복되는 경향이 있으며, serotonin은 수상 후 1시간까지 대체로 감소하고, 일시 증가하였다가 12시간에



회복되었다.

2. Guinea-pig에서는 histamine과 serotonin 모두 수상 후 증가현상을 보였으나, 특히 histamine은 수상 직후 최대의 증가율을 보였으며, serotonin은 30분에 최대의 증가율을 보였다.
3. 백서와 guinea-pig의 수상조직에서의 시간경과에 따른 histamine과 serotonin농도는 서로 반대되는 변화현상을 미루어 동물의 종간에는 큰 차이가 있는 것으로 사료된다.

이상과 같은 실험결과로 미루어 histamine과 serotonin의 정량검출은 임상적으로 생존기에 형성된 교혼의 수상후 경과시간 판정에 그 이용가능성이 있는 것으로 사료된다.

## REFERENCE

1. Beaven, M.A.: Physiology in medicine; Histamine, New Eng. J. Med., 294:320-325, Feb. 5, 1976.
2. \_\_\_\_\_: Physiology in medicine; Histamine, New Eng. J. Med., 294:30-36, Jan, 1, 1976.
3. Berg, S.: Möglichkeiten der biochemischen Wundalterbestimmung, Dtsch. Z. Gesamte Gerichtl. Med., 63:183-188, 1968.
4. Clark, C.T., Weissbach, H. and Udenfriend, S.: 5-Hydroxytryptophan decarboxylase: Preparation and properties, J. Biol. Chem., 210: 138-148, 1954.
5. Copenhagen, W.M., Kelly, D.E. and Wood, R.L.: Bailey's textbook of histology, William & Wilkins Company, 17th Ed., 1978.
6. Dunphy, J.E. and Udupa, K.N.: Chemical and histochemical sequences in the normal healing of wounds, New Eng. J. Med., 253: 847-851, 1955.
7. Fatteh, A.: Histochemical distinction between antemortem and postmortem skin wounds, J. Forens. Sci., 11:17-27, 1966.
8. \_\_\_\_\_: Distinction between antemortem and postmortem wounds, J. Forens. Sci., 16:393-396, 1971.
9. Fazekas, I.G.: Free and total histamine content of skin in experimental burn injuries, Z. Rechtsmedizin, 72:203, 1973.
10. Hakanson, R., Juhlin, I., Owman, C. and Sporrang, M.: Histochemistry of histamine: Microspectrofluorometric characterization of the fluorophores induced by o-phthalaldehyde, J. Histochem. Cytochem., 18: 93-99, 1970.
11. Juhlin, L. and Shelley, W.B.: Detection of histamine by a new fluorescent O-phthalaldehyde stain, J. Histochem. Cytochem., 14: 155-196, 1968.
12. Kahlson, G. and Ronsengren E.: New approaches to the physiology of histamine, Physiol. Rev., 48:155-196, 1968.
13. Lindner, J.: Vitale reaktion, Acta. Histochem. (Jena) Suppl. 9:435, 1971.
14. Odland G. and Ross, R.: Human wound repair, J. Cell Biol., 39:135-151, 1968.
15. \_\_\_\_\_: Human wound repair, J. Cell Biol., 39:151-168, 1968.
16. Plenck, R.: 1786, cited by Oisos, F.: Die vitalen Reaktionen und ihre gerichtsmmedizinische Bedeutung, Beitr. Pathol., 95:163, 1935.
17. Raekallio, J.: Enzymes histochemically demonstrable in the earliest phase of wound healing, Nature, 188:234, 1960.
18. \_\_\_\_\_: Histochemical demonstration of Enzymatic response to injury in experimental skin wounds, Exp. Molec. Pathol., 4:303-310, 1965.
19. Raekallio, J., Kovacs, M. and Makinen, P.L.: Enzyme histochemistry of wound healing, Acta, Path. Microbiol. Scand., 78:658, 1970.
20. Raekallio, J. and Makinen, P.L.: Histamine content as a vital reactionautopsy studies, Zaccbia. 45:403-414, 1970.
21. Raekallio, J.: Determination of the age of wounds by histochemical and biochemical methods, Forens. Sci., 1:3-16, 1972.
22. \_\_\_\_\_: Timing of wounds in forensic medicine, The 60th congress of the Japan medico-legal society, 3-6, 1976.
23. Robertson, I. und Hodge, P.R.: Histopathology of healing abrasions Forens. Sci., 1:17, 1972.

24. Schayer, R.W.: Histamine and circulatory homeostasis, Fed. Proc., 24:1295-1297, Nov. - Dec., 1965.
25. Selye, H.: The mast cells, Butterworths, 1965.
26. Shore, P.A., Burkhalter, A. and Cohn. V. H.: A method for the fluorometric assay of histamine in tissues, J. Pharmacol. Exp. Therap., 121:183-186, 1959.
27. Sivaloganathan S.: Ante-mortem injury or post-mortem? - Diagnosis using histamine as a marker, Med. Sci. Law, 22:119-125, 1982.
28. Tanaka, M.: The distinction between antemortem and postmortem skin wounds by esterase activity, Jap. J. Leg. Med., 20:231-239, 1966.
29. Tedeschi, C.G., Eckert, W.G. and Tedeschi, L.G.: Forensic Medicine, 22-28, 1977.
30. Udenfriend, S. and Cooper J.R.: The chemical estimation of tyrosine and tyramins, J. Biol. Chem., 196:227-233, 1953.
31. Udenfriend, S., Weissbach, H. and Clark, C.T.: The estimation of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in biological tissues, J. Biol. Chem., 215:337-344, 1955.
32. Viragos-Kis, E. and Fazekas, I.G.: Der Gehalt der Erhangungsfurche an freiem Histamine als vitale Reaktion, Dtsch. Z. Gesamte Gerichtl. Med., 56:250, 1965.
33. Walcher, K.: Über vitale Reaktion, Dtsch. Z. Ges. gericht. Med. 15:16-57, 1930.
34. Weissbach, H., Waalkes, T.P. and Udenfriend, S.: A simplified method for measuring serotonin in tissues, J. Biol. Chem., 230:865-871, 1958.
35. 高部福太郎: 皮膚損傷反応にいえの実験的研究, 第62次 日本法医学会 講演要旨. 1-3, 1978.
36. 大野正算: 創傷における水解酵素の組織化学的證明ならびに法医学への応用, 日法医誌 24:35-67, 1970.
37. 四方一郎, 永野耐造: 現代の法医学, 金原出版, 1983.
38. 문국진: 수상조직의 효소검사에 의한 수상경과시간, 제4회 법의학 세미나집, 21, 1977.
39. \_\_\_\_\_: 최신 법의학, 일조각, 1982.
40. 최진, 김원일, 장성근: 수상 후 경과시간 판정에 대한 실험적 연구, 한 법의지, 제2권, 제1호, 1978.
41. \_\_\_\_\_: 창상의 경과시간 측정에 관한 연구, 한 법의지, 제4권, 제1호, 1980.

– ABSTRACT –

**A Study on the Time Course Changes of Biogenic  
Amines in Response to Bite Injury**

Seong-Ok, Kim D.D.S., M.S.D.

Department of Dental Science, Graduate School,  
Yonsei University

(Directed by Prof. Chong-Youl Kim, D.D.S., M.S.D., Ph. D.  
and Prof. Yoon-Soo Kim, M.D., Ph. D.)

The present studies, the investigations were undertaken for an attempt to analyze time course change of biogenic amines in response to bite injury in rats and guinea pigs, and obtained the following results that might be applicable to the forensic medicine and Forensic Odontology.

The histamine concentrations measured at rat abdominal skins were decreased during the first 8 hours and recovered to control levels after 12 hours. However the serotonin concentrations were decreased during the first hours and increased during 4-8 hours, and then returned to control levels thereafter. In contrast with these results, both histamine and serotonin concentrations were tended to increase in guinea pig skins, but the concentration of histamine showed maximum rate of increase immediately after injury and those of serotonin showed maximum rate of increase at 30 minutes.

The difference in the response of histamine and serotonin after injury between rats and guinea pigs revealed that there is species difference in the response of biogenic amines with regard to external stimuli.

These results suggest that the determination of biogenic amines in skin lesion of bite marks could be applied to the estimation of the elapsed time after antemortem injury.