

Ἡ Ἀκαδημία Ἀθηνῶν παρακολουθεῖ μετὰ βαθυτάτης ὁδύνης τὴν σκληρὰν δοκιμασίαν εἰς τὴν ὁποίαν ἡ βία ὑποβάλλει τὸν Ἑλληνισμόν τῆς Κύπρου, ὁ ὁποῖος ἀποτελεῖ τὴν συντριπτικὴν πλειοψηφίαν τοῦ πληθυσμοῦ τῆς μεγαλονήσου.

Ἡ Ἀκαδημία Ἀθηνῶν διαμαρτυρομένη δι' ὅλα ὅσα τεκταίνονται εἰς βάρος τοῦ Ἑλληνισμοῦ τῆς Κύπρου, διακηρύσσει ὅτι μόνον ἡ ἀναγνώρισις τῆς ἀρχῆς τῆς αὐτοδιαθέσεως τῶν λαῶν, ἐπὶ τῆς ὁποίας στηρίζεται ὁ Ὁργανισμὸς τῶν Ἡνωμένων Ἐθνῶν, καὶ ἡ ὁποία εἶναι καὶ ἡ μόνη ἀρχὴ τῆς δημοκρατίας, εἶναι δυνατόν νὰ φέρῃ τὴν γαλήνην εἰς τὸν πληθυσμὸν τῆς μεγαλονήσου.

Τέλος ἡ Ἀκαδημία Ἀθηνῶν ἀπευθυνομένη εἰς ὅλους τοὺς πνευματικοὺς καὶ ἐλευθέρους ἀνθρώπους τοῦ κόσμου, καλεῖ τούτους ὅπως ὑψώσουν τὴν φωνήν των, ἵνα σωθῇ ἡ τιμὴ τῆς δημοκρατίας καὶ τῆς ἐλευθερίας, ὑπὲρ τῆς ὁποίας τόσον αἶμα ἐχύθη κατὰ τὸν τελευταῖον παγκόσμιον πόλεμον καὶ κατὰ τὸν ὁποῖον ἡ Ἑλλὰς ἐθνύσασεν ἐν ἑκατομμύριον ἀνθρώπων, δηλαδὴ τὸ ἐν ὄγδοον τοῦ πληθυσμοῦ της.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΙΣ ΠΡΟΣΕΔΡΟΥ ΜΕΛΟΥΣ

ΒΙΟΛΟΓΙΑ. — Κατώτερα ἔμβια ὄντα πηγὴ στοιχείων βιολογικῆς ὑποστηρίξεως, ὑπὸ **Ἑμμ. Μανουσάκη**¹.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΜΗ ΜΕΛΩΝ

ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΗ. — Συμβολὴ εἰς τὴν μελέτην ἀναζητήσεως κηλίδων σπέρματος, ὑπὸ **Ἑμμ. Κ. Ἡλιάκη, Ἀλίκης Κ. Ἡλιάκη καὶ Ἀντ. Σ. Κουτσελίνης**. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ Ἀκαδημαϊκοῦ κ. Κ. Χωρέμη.

Ἡ ἀναζήτησις τοῦ σπέρματος ἀποτελεῖ μίαν ἀπὸ τὰς πλέον βασικὰς ἀσχολίας τῆς καθ' ἡμέραν ἱατροδικαστικῆς πράξεως, ἀφορᾷ δὲ εἰς περιπτώσεις ἀναγομένας γενικῶς εἰς τὴν γενετήσιον λειτουργίαν. Κατὰ τὰς περιπτώσεις ταύτας τὸ σπέρμα εἶναι δυνατόν νὰ ἀνευρεθῇ εἴτε νωπὸν ἐντὸς τοῦ κόλπου ἢ τοῦ πρωκτοῦ τοῦ θύματος ἢ ἐπὶ τῶν τριχῶν τοῦ ἐφηβαίου ἢ ἐπὶ τοῦ δέρματος τῶν μηρῶν ἢ τῶν γλουτῶν ἢ περὶ τῶν γεννητικῶν ὀργάνων ἢ τέλος, ὅπερ καὶ τὸ συνηθέστερον, ὡς κηλὶς ἐπὶ ἐνδυμάτων, σινδόνων, κλινοσκεπασμάτων, ἐπὶ τοῦ δαπέδου κ.λ.π.

Εἰς ἀπάσας τὰς περιπτώσεις ταύτας ἡ ἔρευνα πρὸς πιστοποίησιν τῆς ὑπάρξεως σπέρματος στρέφεται εἰς τὴν ἀναζήτησιν ἐνὸς παράγοντος σταθεροῦ ἐνυπάρχοντος

1 Θὰ δημοσιευθῇ κατωτέρω.

ἐν αὐτῷ, ὁ προσδιορισμὸς τοῦ ὁποίου ὀφείλει νὰ παρέχῃ ἀναμφισβήτητον στοιχεῖον τῆς παρουσίας τοῦ σπέρματος.

Ἡ ἀνέυρεσις κατὰ τὴν ἐξέτασιν σπερματοζωαρίων ἀποτελεῖ ἀναμφηρίστως τὴν πλεον ἀσφαλῆ ἀπόδειξιν ὑπάρξεως σπέρματος, ἡ ἀνέυρεσις ὅμως τούτων ἐπὶ κηλίδων οὐχὶ προσφάτων ἀλλὰ παλαιῶν εἶναι ἀμφίβολος καὶ εἰς τὰς περισσοτέρας τῶν περιπτώσεων ἀνέφικτος.

Ἐπὶ νωπῶν δειγμάτων ληφθέντων ἐκ τοῦ κόλπου γυναικὸς ἢ ἐκ τοῦ ἀπευθυσμένου ἀτόμου τινὸς εἶναι περισσότερον δυνατὴ ἡ ἀνέυρεσις σπερματοζωαρίων, ἡ ὁποία ἐξαρθᾶται, τοῦτο μὲν ἐκ τοῦ παρελθόντος χρόνου ἀπὸ τῆς συνουσίας, τοῦτο δὲ ἐκ τυχόν παθήσεως τοῦ δράστου ἐχούσης ὡς συνέπειαν ὀλιγοσπερμίας ἢ ἀζωοσπερμίας ἢ ἐκ τῆς ἐνδεχομένης ἀποπλύσεως τοῦ κόλπου ἢ ἐγγύσεως ἐν αὐτῷ ἀντισηπτικοῦ τινος ὑγροῦ, ὅπερ καταστρέφει τὰ ὑπάρχοντα σπερματοζωάρια.

Αἱ μέθοδοι ἀναζήτησεως τῶν σπερματοζωαρίων ἐπὶ νωπῶν δειγμάτων εἶναι σχετικῶς ἀπλάῃ, ἀφοροῦν δὲ εἰς τὸν μικροσκοπικὸν ἔλεγχον ἀπλῶν ἢ κάλλιον κεχρωσμένων διὰ διαφόρων προταθέντων τεχνικῶν παρασκευασμάτων (4, 8, 9, 14, 18, 21, 34, 35). Ἀντιθέτως ἡ μικροσκοπικὴ ἐξέτασις ξηροῦ δείγματος ἀποτελεῖ δυσκολωτέραν ἐργασίαν, τὰ ἀποτελέσματα δὲ ταύτης, ὡς ἤδη ἐλέχθη, εἶναι ἐξαιρετικῶς ἀμφίβολα, διότι τὰ σπερματοζωάρια καταστρέφονται μὲ τὴν πάροδον τοῦ χρόνου, ἡ δὲ ἀνέυρεσις ἔστω καὶ ὑπολειμμάτων αὐτῶν τυγχάνει ἐξαιρετικῶς δυσχερὴς καὶ ἡ διάκρισις τῶν ἀπὸ κόκκους ἢ βακτηρίδια δύσκολος.

Εἰς τὴν βιβλιογραφίαν ἀναφέρονται πλεῖσται ὅσαι μέθοδοι (9) ἀπομονώσεως καὶ ἀναγνώρισεως τῶν σπερματοζωαρίων ἐκ κηλίδων, μετὰ τῶν ὁποίων αἱ παλαιαὶ τῶν Hektoen καὶ Ruktstinat (11, 12) ὡς καὶ τοῦ Pollak (22), αἵτινες, ἂν καὶ δὲν λύουν ὀριστικῶς τὸ πρόβλημα, φαίνονται αἱ μᾶλλον ἀξιόλογοι.

Κατόπιν τῶν ἤδη ἀναγραφέντων συνάγεται σαφῶς, ὅτι ἡ ἀναζήτησις πέραν τῶν σπερματοζωαρίων καὶ ἐτέρων στοιχείων τοῦ σπέρματος εἶναι εὐθὺς ἐξ ἀρχῆς ἀναγκαία, κυρίως δὲ ὁσάκις ἡ περίπτωσις ἀφορᾷ εἰς τὴν ἐξέτασιν ὑπόπτου τινὸς κηλίδος.

Τὸ δυνατόν τῆς συνυπάρξεως τῶν συστατικῶν τοῦ σπέρματος μετ' ἄλλων βιολογικῶν ὑγρῶν τοῦ ὁργανισμοῦ καθιστᾷ ἐξαιρετικῶς δυσχερῇ τὴν διαφορικὴν διάγνωσιν μετὰ τῶν διαφόρων κηλίδων, αἱ δὲ κατὰ καιροὺς πρὸς τὸ σκοπὸν τοῦτον προταθεῖσαι χημικαὶ μέθοδοι (19, 20, 23, 24, 29, 30, 32, 33), μετὰ τῶν ὁποίων αἱ κρυσταλλογραφικαὶ τοῦ Florence καὶ τοῦ Barberio, παρέχουν ἀπλῶς μόνον ἔνδειξιν τῆς παρουσίας σπέρματος, ἐνῶ ἐξ ἀντιθέτου πρὸς ἐκτέλεσιν τούτων καταστρέφεται τὸ πειστήριον καὶ καθίσταται ἀκατάλληλον διὰ περαιτέρω ἔρευναν. Διὰ τὸν λόγον τοῦτον αἱ κρυσταλλογραφικαὶ μέθοδοι ἔχουν σήμερον σχεδὸν ἐγκα-

ταλειφθῇ. Ἦδη διὰ τὸν ἐντοπισμὸν τῶν ὑπόπτων κηλίδων σπέρματος ἐπὶ ὑφάσματός τινος, χρησιμοποιεῖται νέα μέθοδος, ἡ τοῦ ὑπεριώδους φωτὸς (15, 16, 27), ὅπερ προσδίδει χαρακτηριστικὸν φθορισμὸν ἐπὶ ὑπάρξεως τούτων.

Διὰ τὴν πιστοποίησιν τῆς ὑπάρξεως σπέρματος ἐπὶ κηλιδὸς τινος ἀναζητεῖται σήμερον ἡ φωσφορικὴ σπερμίνη ἐνυπάρχουσα εἰς τὸ σπέρμα εἰς ἱκανὴν ποσότητα. Ἡ ἀναζήτησις αὕτη ἐδοκιμάσθη μὲ ἱκανοποιητικὰ ἀποτελέσματα. Ὁ Fiori (5) ἐχρησιμοποίησε τὴν ἀντίδρασιν τῶν Fuchs - Tokuoaka διὰ τὸν προσδιορισμὸν τῆς φωσφορικῆς σπερμίνης, καθορίσας ἐπὶ πλέον τὰ ὅρια τῆς εὐαισθησίας αὐτῆς ὥς καὶ τὴν ἀξίαν τῆς ἀντιδράσεως, μελετήσας προσέτι φασματοφωτομετρικῶς τὸ σύμπλεγμα χαλκοῦ - σπερμίνης.

Ἡ τεχνικὴ τῆς μεθόδου ταύτης εἶναι ἀπλουστάτη, ἔγκειται δὲ εἰς τὴν προσθήκην ἐντὸς τοῦ διὰ φυσιολογικοῦ ὁροῦ ἐκπλύματος τῆς κηλίδος μικρᾶς ποσότητος βασικοῦ ἀνθρακικοῦ χαλκοῦ, ὁ ὁποῖος ἐπὶ θετικῆς ἀντιδράσεως προσδίδει κυανοϊώδη χροιάν.

Ἡ πλέον ὁμως ἐπισταμένη ἔρευνα ἐγένετο πρὸς τὴν κατεύθυνσιν τῆς ἀναζήτησεως καὶ τοῦ προσδιορισμοῦ τῆς ὀξίνου φωσφατάσης, ἀφ' ἧς κυρίως ἐποχῆς οἱ Kutscher καὶ Wolbergs (13) ἀνεκοίνωσαν ὅτι ὁ φυσιολογικὸς ἰστὸς τοῦ προστάτου τοῦ ἀνθρώπου περιέχει μέγα ποσὸν ὀξίνου φωσφατάσης. Κατὰ συνέπειαν ἡ περίπτωσις τῆς ἀνευρέσεως ταύτης εἰς τὸ σπέρμα εἰς ὑψηλὸν ποσὸν ἐν σχέσει μὲ τὰ ἄλλα ὑγρὰ τοῦ ὀργανισμοῦ ἐφάνη εὐθὺς ἐξ ἀρχῆς πιθανή.

Ἡ ὑπαρξὶς πράγματι ὀξίνου φωσφατάσης εἰς τὸ σπέρμα διεπιστώθη ὀλίγον ἀργότερον, ὁ καθορισμὸς δὲ τῶν μονάδων ταύτης ἐγένετο ἀρχικῶς μὲν ὑπὸ τῶν Hansen καὶ Riisfeldt (13), μετὰ ταῦτα δὲ ὑπὸ τοῦ Kaye (17) εἰς μονάδας King - Armstrong*. Εὐρέθη ὅτι περιέχει τὸ σπέρμα μέχρι 2.500 τοιαύτας, τῆς περιεκτικότητος ταύτης κυμαινομένης ἐντὸς εὐρυτέρων ὁρίων.

Μέθοδοι προσδιορισμοῦ τῆς ὀξίνου φωσφατάσης ἐπροτάθησαν διάφοροι ὑπὸ διαφόρων ἐρευνητῶν, ἐξ ὧν ἡ τοῦ Benotti (2), συνιστῶσα τροποποίησιν τῆς τῶν Gutman καὶ Gutman (10), ὥς καὶ ἡ τοῦ Walker (31) χρωματικὴ, βασιζομένη εἰς τὴν ἰστοχημικὴν ἀντίδρασιν τῶν Seligman καὶ Manheimer (25) πρὸς δὲ καὶ ἡ τοῦ Berg (13), φαίνονται αἱ μᾶλλον ἀξιόλογοι.

Πλεῖσται ὅσαι ὡσαύτως μέθοδοι εἶχον καὶ παλαιότερον προταθῇ (7, 10, 26) διὰ τὸν προσδιορισμὸν τοῦ ἐνζύμου τῆς ὀξίνου φωσφατάσης εἰς τὸν ὁρὸν τοῦ αἵματος, λόγῳ δὲ τῆς ὑψίστης διαγνωστικῆς σημασίας αὐτοῦ διὰ τὰς νόσους τοῦ προ-

* King-Armstrong : 1mg Phenol/15 min/100 ml : Canad. Med. Ass. J. 31, 376, 1934.

στάτου ή έρευνα έσυνεχίσθη, ή έσχάτως δέ υπό τής Biochemica Boeringer προταθεΐσα μέθοδος προσδιορισμού αὐτῆς βασιζομένη ἐπὶ τῶν ἐργασιῶν τῶν Andersch (1), Südhof (28) καὶ συνεργατῶν, παρέχει ποσοτικά ἀποτελέσματα ἀναμφισβήτητα δι' ἀπλῆς τεχνικῆς.

Θεωροῦντες ἀπαραίτητον ὅτι διὰ τὴν διαφορικὴν διάγνωσιν ὑπόπτου τινὸς κηλίδος διὰ σπέρμα εἶναι ἀναγκαῖος ὁ ποσοτικὸς προσδιορισμὸς τοῦ ἐν αὐτῇ ἐνζύμου, ἐπεχειρήσαμεν τοῦτον διὰ τῆς παρούσης ἐρεύνης, βάσει τῆς μεθόδου τῶν Andersch, Südhof καὶ τῶν συνεργατῶν αὐτῶν, ἡ ὁποία ἐφηρμόσθη ὑπὸ τούτων εἰς τὸν ὀρὸν αἵματος. Ἡ μέθοδος αὕτη ἐφηρμόσθη τὸ πρῶτον ὑφ' ἡμῶν ἀντὶ εἰς τὸν ὀρὸν τοῦ αἵματος εἰς ἔκπλυμα κηλίδος σπέρματος, πρὸς δὲ καθωρίσθησαν τὰ ὅρια εὐαισθησίας, ἥτοι μέχρι ποίας ἀραιώσεως σπέρματος ἡ μέθοδος δίδει τοιαύτην τιμὴν ἐνζύμου, ὥστε ἐπὶ ἀνευρέσεως ταύτης ἐπὶ τοῦ ἐκπλύματος κηλίδος τινος νὰ δύναται τις μετὰ βεβαιότητος ν' ἀποκλείσῃ τὴν παρουσίαν ἑτέρου τινὸς βιολογικοῦ ὑγροῦ, εὐρισκομένου ἐπὶ τοῦ πειστηρίου καὶ εἰς λίαν ὑψηλὴν ποσότητα.

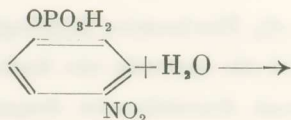
ΜΕΘΟΔΟΣ - ΥΛΙΚΑ

Τὸ ὑλικὸν ἐλαμβάνετο, τοῦτο μὲν ἐξ ὑποθέσεων τοῦ Ἐργαστηρίου τῆς Ἱατροδικαστικῆς καὶ Τοξικολογίας τοῦ Πανεπιστημίου Ἀθηνῶν, τοῦτο δὲ ἐκ τῶν ἐξωτερικῶν ἱατρείων τοῦ Μαιευτηρίου «Μαρίκα Ἡλιάδης». Ἐγένοντο ἐν συνόλῳ 113 μετρήσεις σπέρματος διαφόρων περιπτώσεων, 154 ὀροῦ αἵματος, 97 κοιλικοῦ ὑγροῦ καὶ 83 σιέλου. Αἱ ἀναγραφόμεναι τιμαὶ εἰς τοὺς πίνακας 1, 2 καὶ 3 παριστοῦν τὴν μέσσην τιμὴν καὶ τὴν σταθερὰν ἀπόκλινσιν ταύτης.

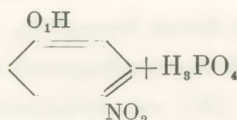
Ἡ τυποποίησις τῆς τεχνικῆς τῆς κατωτέρω ἐκτιθεμένης μεθόδου προσδιορισμοῦ τοῦ ἐνζύμου ἐπὶ διαφόρων πειστηρίων ἐγένετο δι' ἱσαριθμῶν μετρήσεων ἐκ κηλίδων σχηματιζομένων ὑφ' ἡμῶν ἐπὶ διαφόρων ἐνδυμάτων.

Ἡ ἀρχὴ τῆς ἐφαρμοσθείσης μεθόδου βασίζεται ἐπὶ τῆς ιδιότητος τοῦ ἐνζύμου νὰ ὑδρολύῃ τοὺς ὀργανικοὺς ἐστέρας τοῦ φωσφορικοῦ ὀξέος, τὸ ποσὸν δὲ τοῦ ὑδρολυομένου ὑποστρώματος ἐντὸς ὀρισμένου χρόνου εἶναι μέτρον τῆς δραστηότητος τοῦ ἐνζύμου.

Εἰς τὴν ἐν λόγω μέθοδον ὡς ὑπόστρωμα χρησιμοποιεῖται τὸ μετὰ νατρίου ἄλας τοῦ π-νιτροφαινυλοφωσφορικοῦ ἐστέρος, ἐλευθερουμένης τῇ δράσει τῆς ὀξίνου φωσφατάσης παρανιτροφαινόλης. Ἡ ἐλευθερουμένη ποσότης αὐτῆς εἰς ὀρισμένον χρόνον θὰ εἶναι, ὡς ἤδη ἀνεγράφη, ἀπ' εὐθείας ἀνάλογος ὅχι μόνον τῆς δραστηότητος τοῦ ἐνζύμου ἀλλὰ καὶ τῆς ποσότητος αὐτοῦ.



π-νιτροφαινυλοφωσφορικός έστηρ
(άχρους εις άλκαλικόν και δξινον περιβάλλον)



π-νιτροφαινόλη
(άχρους εις δξινον και κιτρινή εις
άλκαλικόν περιβάλλον)

Η έκφρασις του άποτελέσματος γίνεται εις μονάδας δξίνου φωσφατάσης, όριζομένης ως μονάδος της ποσότητος του ένζυμου, ήτις εύρισκομένη έντος 1 λίτρ. όρου ή διαλύματος αυτού έλευθερώνει εις 60' και εις θερμοκρασίαν 37° C 1 Millimole (= 140 mg) παρανιτροφαινόλης.

Αί μονάδες αύται φέρονται εις την βιβλιογραφίαν ως μονάδες Bessey - Lowry - 3 - εκ των πρώτων περιγραψάντων τούτας*.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1. Ρυθμιστικόν διάλυμα 0,05 M κιτρικού δξέος, κιτρικού νατρίου, PH 4,8.
2. Ύποστρώμα συνιστάμενον εκ του μετά νατρίου άλατος του παρανιτροφαινυλοφωσφορικού δξέος.
3. Μεϊγμα ρυθμιστικού διαλύματος και ύποστρώματος, παρασκευαζόμενον πρό της χρήσεως δια διαλύσεως 15 mg ύποστρώματος έντος 10 κ. εκ. ρυθμιστικού διαλύματος (5,5. 10⁻³ M p - nitrophenylphosphate Na).
4. Διάλυμα καυστικού νατρίου 0,02 N.

ΤΕΧΝΙΚΗ

1. Έπι νωπού σπέρματος.

Τò πρός εξέτασιν σπέρμα αφήνεται τουλάχιστον επί 30' πρός αύτορρευστοποίησην. Έκ του ούτως αύτορρευστοποιηθέντος σπέρματος λαμβάνεται 0,1 κ. εκ. και διαλύεται έντος 5 κ. εκ. φυσιολογικού όρου, τò δέ αιώρημα άναταράσσεται επί 10' και αφήνεται άκολούθως εις την θερμοκρασίαν του δωματίου επί έτερα 15'.

Άκολούθως τίθενται εις δύο δοκιμαστικά σωληνάρια άνά 1 κ. εκ. μείγματος ρυθμιστικού διαλύματος και ύποστρώματος (άντιδραστήριο 3). Έν συνεχεία προστίθεται εις τò πρώτον σωληνάριον 0,2 κ. εκ. διαλελυμένου σπέρματος, άμφότερα

* Ως δι ε θ ν ή ς μ ο ν ά δ ή ορίζεται ή ποσότης του ένζυμου, ή όποία εύρίσκεται έντος 1000 κ. εκ. όρου και διασπᾶ εις θερμοκρασίαν 25° C έντος 1 λεπτοῦ, 1 μMol ύποστρώματος. Ίσχύει δέ ή σχέσις 1 μονάς B—L = 16,7 IU (Report of the Commission on Enzymes of the IUB 1961, Symposium Series Vol 20, Pergamon Press London 1961).

δὲ ἀνακινούνται ἐλαφρῶς καὶ τοποθετοῦνται ἐπὶ ὕδατολούτρου σταθερᾶς θερμοκρασίας 37° C ἐπὶ 30'. Μετὰ τὴν ἔξοδον ἐκ τοῦ ὕδατολούτρου προστίθενται εἰς ἀμφοτέρω τὰ σωληνάρια ἀνὰ 10 κ. ἐκ. 0,02 N NaOH (ἀντιδραστήριον 4) ἀκολούθως δὲ εἰς τὸ δεύτερον σωληνάριον 0,2 κ. ἐκ. διαλύματος σπέρματος. Μετὰ ταῦτα φωτομετρεῖται εἰς 420 mμ καὶ ὑπολογίζομεν τὰς μονάδας τοῦ ἐνζύμου διὰ πολλαπλασιασμοῦ τῆς προκυπτούσης διαφορᾶς τῶν ὀπτικῶν πυκνοτήτων ἐπὶ τὸν συντελεστὴν 7,70.

"Ητοι $\Delta \frac{420}{\text{O.D.}}$. 7,70 = millimolar units ὀξίνου φωσφατάσης.

2. Ἐπὶ κηλίδων.

Μετὰ τὴν ἐντόπισιν τῆς ὑπόπτου κηλίδος ἐπὶ τοῦ πειστηρίου διὰ λυχνίας τοῦ Wood ἀφαιροῦμεν ταύτην καὶ ἀνακόπτομεν εἰς μικρὰ τεμάχια. Τὰ τμημάτια ταῦτα τίθενται ἐντὸς σωληναρίου αἰμολύσεως καὶ εἴτα προστίθενται ἐντὸς αὐτοῦ 5 κ. ἐκ. φυσιολογικοῦ ὁροῦ. Ἐν συνεχείᾳ ἀνακινούμεν ἐπ' ὀλίγα λεπτά καὶ διατηροῦμεν τὸ σωληνάριον ἐντὸς ψυγείου εἰς θερμοκρασίαν 4°C ἐπὶ 24 ὥρας. Μετὰ τὴν παρέλευσιν τοῦ χρονικοῦ τούτου διαστήματος φυγοκεντροῦμεν καὶ ἐκ τοῦ ὑπερκειμένου ὑγροῦ λαμβάνεται ἡ ἀναγκαιούσα διὰ τὸν προσδιορισμὸν τῆς ὀξίνου φωσφατάσης ποσότης. Ὁ προσδιορισμὸς οὗτος γίνεται ἀκολούθως διὰ τῆς ἤδη ἀναγραφείσης μεθόδου.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ - ΣΥΖΗΤΗΣΙΣ

Ἀρχικῶς ἐθεωρήθη ὑφ' ἡμῶν ὅτι διὰ τὴν ἀξίαν τῆς μεθόδου εἶναι ἀπαραίτητος ὁ προσδιορισμὸς τῶν μονάδων τῆς ὀξίνου φωσφατάσης καὶ ἡ λήψις φυσιολογικῶν τιμῶν, ὡς καὶ τῶν διακυμάνσεων αὐτῶν εἰς διάφορα βιολογικὰ ὑγρά. Οὕτως εἰς σειρὰν πειραμάτων προσδιωρίσθη ἡ τιμὴ τοῦ ἐνζύμου εἰς σ π έ ρ μ α ν ω π ό ν, εἰς ὁ ρ ό ν α ἴ μ α τ ο ς, εἰς σ ί ε λ ο ν φυσιολογικῶν ἀτόμων, ὡς καὶ εἰς τὸ κ ο λ - π ι κ ό ν ἔ κ κ ρ ι μ α γυναικῶν.

Ἡ ἐκλογή τῶν βιολογικῶν τούτων ὑγρῶν ἐγένετο ὡς ἐχόντων περισσότερον ἱατροδικαστικὸν ἐνδιαφέρον λόγῳ τῆς συχνότητος ἀνευρέσεως τούτων μετὰ διαφορῶν κηλίδων καὶ δὴ σπέρματος καὶ τῆς ἀνάγκης διαχωρισμοῦ αὐτῶν.

Αἱ ἀνευρεθεῖσαι τιμαὶ ἀναγράφονται εἰς τὸν πίνακα I, ἡ ὑφισταμένη δὲ σαφὴς διαφορὰ μεταξὺ τοῦ σπέρματος καὶ τῶν ἄλλων βιολογικῶν ὑγρῶν εἰς μονάδας ἐνζύμου λύει ἀναμφισβητήτως τὰ δυνάμενα νὰ προκύψουν προβλήματα διαφορικῆς διαγνώσεως μεταξὺ σπέρματος καὶ ἑτέρου νωποῦ βιολογικοῦ ὑγροῦ ἐκ τῶν ἀναγρα-

φέντων. Εἰς τὴν περίπτωσιν ὅμως κηλίδων τὰ ἀποτελέσματα διὰ τῆς ἀναγραφείσης μεθόδου ἀπαιτοῦν τὸν καθορισμὸν τῆς εὐαισθησίας ταύτης, ἥτοι τὸν καθορισμὸν τῆς ἐλαχίστης ἐκείνης ποσότητος σπέρματος ἥτις θὰ δώσῃ τοιαύτην τιμὴν ἐνζύμου, ὥστε νὰ ἀποκλείηται ἐντελῶς τὸ ὅτι ὀφείλεται αὕτη εἰς παρουσίαν ἐτέρου βιολογικοῦ ὑγροῦ, εὐρισκομένου ἔστω καὶ εἰς λίαν ὑψηλὴν συγκέντρωσιν.

Εἶναι πράγματι δυνατόν ἐπὶ ἀνευρέσεως μικρᾶς τιμῆς ἐνζύμου ἐκ τῆς ἐκπλύσεως ὑπόπτου τινὸς κηλίδος τὸ ἀποτέλεσμα νὰ ἀμφισβητηθῇ καὶ τεθῇ πρόβλημα διακρίσεως μεταξὺ λίαν μικρᾶς ποσότητος σπέρματος ἢ μεγαλυτέρας ἐτέρου βιολογικοῦ ὑγροῦ, ὡς εἶναι ὁ ὁρὸς κ.λ.π.

Διὰ τὸν λόγον τοῦτον ὁ καθορισμὸς τῶν πλαισίων ἐντὸς τῶν ὁποίων ἡ διάκρισις καθίσταται ἀσφαλῆς ἐκρίθη ὑφ' ἡμῶν εὐθὺς ἐξ ἀρχῆς λίαν ἀναγκαῖος.

Οὕτως ἐπὶ νωποῦ σπέρματος καὶ λοιπῶν βιολογικῶν ὑγρῶν ἐγένετο δι' ἐν ἑκάστον ἐξ αὐτῶν σειρὰ ἀραιώσεων εἰς φυσιολογικὸν ὁρὸν καὶ εἴτα προσδιορισμὸς τῶν μονάδων τοῦ ἐνζύμου εἰς ἑκάστον ἐξ αὐτῶν, τὰ δὲ ληφθέντα ἀποτελέσματα ἀναγράφονται εἰς τὸν πίνακα 2. Ὡς ἐμφαίνεται ἐκ τοῦ πίνακος τούτου, εἶναι δυνατόν νὰ ἐπιτευχθῇ διάκρισις καὶ σαφὴς καθορισμὸς τοῦ σπέρματος τοῦ εὐρισκομένου ἐπὶ ὑπόπτου τινὸς κηλίδος εἰς ποσότητα ἐξικνουμένην μέχρι 0,01 κ. ἐκ., ὅτε καὶ λαμβάνεται τιμὴ ἐνζύμου κυμαινομένη μεταξὺ 0,110 - 0,194 μονάδων, τιμὴ ἀρκούντως ὑψηλὴ δι' οἷονδήποτε ἄλλο βιολογικὸν ὑγρὸν, εὐρισκόμενον εἰσέτι καὶ εἰς μεγάλην ποσότητα, ἐπὶ κηλιδὸς τινος.

Κάτωθεν ὅμως τῶν ὁρίων τούτων ὁ κίνδυνος συγχύσεως ἐξακολουθεῖ νὰ ὑφίσταται, ὅποτε, εἰς τὰς περιπτώσεις ταύτας, ἡ ἀναζήτησις πέραν τοῦ ἐνζύμου καὶ ἐτέρου βιολογικοῦ συστατικοῦ ἐπὶ κηλιδὸς τινος ἐκρίθη ἀναγκαία.

ΠΙΝΑΞ 1

| Βιολογικὸν ὑγρὸν | Ἀραιώσεις εἰς Φ.Ο. | Εὐρεθεῖσαι τιμαὶ ἐνζύμου εἰς μονάδας Bessey-Lowry |
|------------------|--------------------|---|
| Σπέρμα | 1 : 50 | 0,938 ±0,120 |
| Ὅρδος | 1 : 50 | 0,012 ±0,005 |
| Σιέλως | 1 : 50 | 0,0072±0,0008 |
| Κολπικὸν ὑγρὸν | 1 : 50 | 0,0061±0,0006 |

ΠΙΝΑΞ 2

| Ἀραιώσεις | Εὐρεθεῖσαι τιμαὶ ἐνζύμου εἰς μονάδας Bessey-Lowry | | | |
|-----------|---|-------------|---------------|----------------|
| | Σπέρμα | Ὅρδος | Σιέλως | Κολπικὸν ὑγρὸν |
| 0,1 : 50 | 0,152±0,042 | — | — | — |
| 0,3 : 50 | 0,241±0,026 | — | — | — |
| 0,5 : 50 | 0,486±0,031 | — | — | — |
| 0,7 : 50 | 0,736±0,062 | — | — | — |
| 1 : 50 | 0,938±0,120 | 0,012±0,005 | 0,0072±0,0008 | 0,0061±0,0006 |

Ἡ ἀνεύρεσις ὄντως εἰς τὴν τελευταίαν ταύτην περίπτωσιν ἐνὸς εἰδικοῦ στοιχείου χαρακτηρίζοντος ἐν βιολογικὸν ὕγρὸν διευκολύνει ὅπωςδήποτε τὴν διάγνωσιν. Ἐπειδὴ ὅμως ἡ ἀνεύρεσις εἰδικοῦ τινος στοιχείου εἶναι ἐξαιρετικῶς δυσχερὴς καὶ ἐπίπονος, ἐσκέφθημεν νὰ προβῶμεν εἰς τὴν ἀναζήτησιν καὶ τὸν προσδιορισμὸν ἐνὸς συστατικοῦ ἐνυπάρχοντος εἰς ἅπαντα τὰ βιολογικὰ ὑγρά καὶ εἰς τὴν αὐτὴν ἢ περίπου τὴν αὐτὴν συγκέντρωσιν, ὥστε ἡ ἀναγωγὴ τῶν εὐρεθεισῶν μονάδων ἐνζύμου κατὰ μονάδα τοῦ νέου αὐτοῦ κοινοῦ συστατικοῦ νὰ δίδῃ συγκρίσιμα ἀποτελέσματα.

Πρὸς τὴν κατεύθυνσιν ταύτην ἡρευνήσαμεν ἐπισταμένως πλεῖστα ὅσα συστατικά, εὐρισκόμενα εἰς ἅπαντα τὰ ἀνωτέρω μελετηθέντα βιολογικὰ ὑγρά τὰ ἐνδιαφέροντα κυρίως τὴν ἱατροδικαστικὴν, κατέστη ὅμως ἀδύνατος ἡ ἀνεύρεσις ἐνὸς παράγοντος εὐρισκομένου εἰς τὴν αὐτὴν ποσότητα οὕτως, ὥστε ἡ διάφορος περιεκτικότης ἐκάστου βιολογικοῦ ὑγροῦ εἰς ἐνζύμον νὰ δίδῃ συγκρίσιμα ἀποτελέσματα.

Ἡ μελέτη τῶν πρωτεϊνῶν ἐφάνη εἰς ἡμᾶς εὐθὺς ἐξ ἀρχῆς περισσότερον ἐφικτὴ διὰ μίαν τοιαύτην ἐκτίμησιν, πλὴν ὅμως ἡ ἐξαιρετικῶς μικρὰ περιεκτικότης τοῦ σιέλου καὶ τοῦ κολπικοῦ ὑγροῦ εἰς πρωτεΐνας ἐπέβαλλε τὸν περιορισμὸν τοῦ ἐλέγχου μόνον εἰς ὅ,τι ἀφορᾷ εἰς τὸ σπέρμα καὶ τὸν ὀρόν, ἡ περιεκτικότης τῶν ὁποίων εἰς πρωτεΐνας εἶναι σημαντικὴ καὶ ἡ ἀναγωγὴ τῶν μονάδων τοῦ ἐνζύμου κατὰ γραμμάριον πρωτεΐνης δύναται νὰ διαστείλῃ σαφῶς τὰ δύο βιολογικὰ ὑγρά.

Ὁ προσδιορισμὸς τῶν πρωτεϊνῶν ἐγένετο διὰ τῆς μεθόδου τοῦ Weichselbaum (36). Εἰς τὸν πίνακα 3 ἀναφέρονται αἱ μέσαι τιμαὶ καὶ αἱ σταθεραὶ αὐτῶν ἀποκλίσεις, αἱ ἀφορῶσαι εἰς τὰς ἀνευρεθείσας τιμὰς τῶν ὀλικῶν πρωτεϊνῶν καὶ ἐνζύμου τῶν ἐξετασθέντων δειγμάτων σπέρματος καὶ ὀροῦ, ὡς καὶ αἱ τιμαὶ τοῦ ἐνζύμου κατὰ γραμμάριον πρωτεΐνης, εἰς τὰ δύο ταῦτα βιολογικὰ ὑγρά, τοῦ ὑπολογισμοῦ αὐτῶν γενομένου διὰ συσχέτισεως τῶν μέσων αὐτῶν τιμῶν καὶ τῶν σταθερῶν τούτων ἀποκλίσεων.

ΠΙΝΑΞ 3

| Βιολογικὸν ὑγρὸν | Ὀλικά πρωτεΐναι γρ. % | Τιμαὶ ἐνζύμου εἰς μονάδας Bessey-Lowry | Μονάδες ἐνζύμου κατὰ γρ. πρωτεΐνης |
|------------------|--------------------------|--|---------------------------------------|
| Σπέρμα | 3,5±0,2 | 46,9 ±6 | 13,54 ±2,49 |
| Ὄρος | 7,2±0,8 | 0,49±0,15 | 0,071±0,029 |

Ἡ ἱατροδικαστικὴ ἔρευνα βεβαίως ἀφορᾷ κυρίως εἰς τὰς δύο ταύτας κατηγορίας κηλίδων, σπανιώτερον δὲ εἰς τὸν σιέλον καὶ εἰς τὸ κολπικὸν ἔκκριμα. Οὕτω ἐπὶ εὐρεθεισῶν χαμηλῶν τιμῶν ἐνζύμου ὁ προσδιορισμὸς τῶν πρωτεϊνῶν τοῦ ἐκχυλίσματος καὶ ἡ ἀναγωγὴ τῶν εὐρεθεισῶν μονάδων τοῦ ἐνζύμου κατὰ γραμμάριον πρωτεΐνης συμβάλλει εἰς τὸν καθορισμὸν καὶ εἰς τὴν διαστολὴν τοῦ σπέρματος

ἀπὸ τοῦ ὁροῦ. Ἀντιθέτως ἐπὶ πολυπλοκωτέρων περιπτώσεων, καθ' ἃς ὑπάρχουν ὑπόνοιαι ὑπάρξεως καὶ ἐτέρων ὑγρῶν, δέον νὰ γίνεταί εἰδικὴ ἀναζήτησις αὐτῶν ἐπὶ τῶν ὑπόπτων κηλίδων, ὅσον δυσχερὴς καὶ ἂν εἶναι, διότι οὕτω καθορίζεται μὲ μεγαλυτέραν ἀσφάλειαν ἢ ταυτότης αὐτῶν.

Τέλος πρέπει νὰ λεχθῇ, ὅτι ὁ προσδιορισμὸς οὗτος τοῦ ἐνζύμου ἀφορᾷ εἰς νωπὰς ἢ προσφάτους σχετικῶς κηλίδας, ἡλικίας οὐχὶ μεγαλυτέρας τῶν 10 ἡμερῶν. Ἐπὶ παλαιότερων κηλίδων ὁ προσδιορισμὸς τῆς ὀξίνου φωσφατάσης διὰ τὸν καθορισμὸν τῆς ταυτότητος τῆς κηλίδος δέον ὅπως διερευνηθῇ περαιτέρω, διότι ἐξωτερικοὶ τινες παράγοντες, ὡς ἡ ξηρασία, ὑγρασία κ.λ.π., εἶναι δυνατὸν νὰ ἐπηρεάσουν τὴν δραστηριότητα τοῦ ἐνζύμου.

Πειράματα πρὸς τὴν κατεύθυνσιν ταύτην, ἥτοι σχηματισμὸς κηλίδων καὶ διατήρησις αὐτῶν ἐπὶ μακρὸν χρόνον πρὸς ἔλεγχον τῆς δραστηριότητος τοῦ ἐνζύμου, γίνονται ἤδη ὑφ' ἡμῶν, τὰ δὲ ἀποτελέσματα θ' ἀποτελέσουν τὸ ἀντικείμενον νέας ἡμῶν ἐργασίας.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ἐν συμπεράσματι ἡ ἀναζήτησις σπέρματος ἐπὶ διαφόρων ὑπόπτων κηλίδων διὰ τοῦ καθορισμοῦ τῆς ποσότητος τῆς ὀξίνου φωσφατάσης δίδει ἄριστα ἀποτελέσματα. Ταῦτα καθίστανται ἀσφαλῆ καὶ ἀπρόσβλητα μόνον εἰς ἃς περιπτώσεις γίνεταί προσδιορισμὸς καὶ τῶν ἐπὶ τῶν κηλίδων ὑπαρχουσῶν πρωτεϊνῶν καὶ ἀναγωγή τῶν εὐρεθιστῶν μονάδων τοῦ ἐνζύμου κατὰ γραμμάριον πρωτεΐνης.

Ἡ προτεινομένη ὑφ' ἡμῶν τροποποιήσις τῆς μεθόδου τῶν Andersch καὶ Südhof ἐξασφαλίζει ἀπολύτως τὸν πραγματογνώμονα ἐναντι λάθους δυναμένου νὰ προκύψῃ, ὅπερ εἶναι δυνατὸν νὰ ἔχῃ σοβαρὰς συνεπειάς διὰ τὸν κατηγορούμενον.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. ANDERSCH U.A. and A.J. SZCYPINSKI: Amer. J. Crin Path 17, 571, 1947.
2. BENOTTI M.S. ROSENBERG L. and DEWEY B.: Modification of the Gutman and Gutman method of estimating acid phosphatase activity J. Lab. clin med 31 (3) 1946.
3. BESSEY O. A. LOWRY O.H. et BROCK M.J.: J. Biol chem 164, 321, 1946.
4. CARY W.H. and HOTCHKISS R.S., Semen Appraisal J.A.M.A. 102, 587, 1934.
5. FIORI A.: Minerva Medicolegale, vol LXXIV No 4 1954.
6. FIORI A.: Minerva Medicolegale, vol LXXV No 3 1955.
7. FISHMAN and LERNER: J. Biol chem 200, 89, 1953.
8. GELARIE, A.J.: A new, One minute Method for Staining Spermatozoa etc. Am. J. Obst. and Gynec, 21: 1065, 1936. Weisman, Abner I.: Spermatozoa and Sterility, P. 60 Paul B. Hoeber, Inc., Medical Book Department of Harper and Bros.

9. GONZALES T. VANCE M. HELPERN M. and UMBERGER C.: Legal Medicine Pathology and Toxicology P. 612-616, 1954.
10. GUTMAN and GUTMAN: J. Biol chem 136, 201, 1940.
11. HEKTOEN, L. : Specific precipitin test for human semen J.A.M.A. 78: 704, 1922.
12. HEKTOEN L. and RUKSTINAT, G.L.: Identification of human seminal stains. Arch Path 6: 96, 1928.
13. ΗΛΙΑΚΗ Κ.Ε., 'Γατροδικαστική, τόμ. 2 σ. 1503, 1963.
14. HOLBERT P.E.: Simple method for fixing and Staining Spermatozoa. J. Lab. and cl. Med 22: 320, 1936, Weisman, Abner I.: Spermatozoa and Sterility, p.60, Paul B. Hoeber, Inc. medical Book Department of Harper and Bros.
15. HUSSON A.: Rev. Internat. Criminalist 6: 407, 1934, Ber d. ges physiol. exper. Pharmacol 86: 390, 1934.
16. ITOT: The use of Ultra-Violet Rays in Forensic Medicine, Deutsch, Ztschr f. d. ges gerichtl med 9: 726, 1957.
17. KAYE, S.: Identification of Seminal Stains, J. Crim, Law and Criminol, 38: 79, 1947.
18. MEAKEX S.R.: Human sterility, Baltimore Williams and Wilkins, 1934, Weisman, Abner I.: Spermatozoa and Sterility p. 59, Paul B. Hoeber, Inc. Medical Book Department of Harper and Bros.
19. NEIDERLAND, W.: Studies in Forensic sperm Diagnosis, Med. Welt, 5: 149, 1931.
20. PELTZEL J.: Detection of semen in Legal Cases. Chem Ztg 55: 70, 1931, Weisman, Abner I.: Spermatozoa and Sterility, p. 241, Paul B. Hoeber, Inc. medical Book Department of Harper and Brothers.
21. POLLAK, O.J., and JÖEL C.A.: Sperm Examination According to the present state of Research J.A.M.A. 113: 395, 1939. Weisman, Abner I.: Spermatozoa and Sterility, p. 62, Paul B. Hoeber Inc. Medical Book Department Harper and Bros.
22. POLLAK, O.J.: Semen and seminal stains Arch. Path 35: 140, 1943.
23. PURANEN U.H.: A new Microchemical method for the identification Sperm. Acta chem. Fennica, 8B: 7, 1935.
24. PURANEN U. H.: New Microchemical Method of Identifying Sperm, Deutsch, Ztschr f.d. ges gerichtl med 26, 366, 1936.
25. SELIGMAN A.M. and MANHEIMER, L.H.: New Method for histochemical demonstration of acid phosphatase J. Nat Cancer Inst., 9: 427, 1949.
26. SIMONIN C. : Ann de med leg 9: 60, 1929.
27. SHINOWARA, JONES and REINHART: J. Biol. chem. 142, 921, 1942.
28. SÜDHOF, H., H. STEINDORF, CH. GÖTAE, I. VOSS and H. LÖHR: Dtsch. Med. Wschr 87, 249, 1962.
29. VILLIMIL, P.: Identification of sperm in medico-Legal Investigations, Cron med. Valencia 38: 617, 1934. Reviewed in Sudamer, Endocrin immunol Quimioterapil 18: 148, 1934.
30. TARSITANO, F.: Puranen Method for Identification of sperm Furher Studies Diag. e tes. di lab 8: 353, 1937.

31. WALKER J.T.: A new test for seminal stains New England J. Med. 242:110 1950.
32. WEISMAN ABNER I.: Spermatozoa and Sterility, p. 214, Paul B. Hoeber Inc, Medical Book Department of Harper and Brothers.
33. WEISMAN, ABNER I.: Spermatozoa and Sterility, p. 215, Paul B. Hoeber Inc. Medical Book Departmen of Harper and Brothers.
34. WILLIAMS W.W., Mc GUGAN and CAPEHTER H.D.: Staining and morphology of human spermatozoa, J. Urol 32, 201, 1934. Weisman, Abner I.: Spermatozoa and Sterility, p. 61, Paul B. Hoeber Inc. Medical Book Dept. of Harper Bros.
35. WILLIAMS W.W.: Spermatic Abnormalities. New England J. Med 217: 946, 1937 Weisman, Abner I.: Spermatozoa and Sterility, p. 61, Paul B. Hoeber Inc. Medical Book Departmen of Harper Bros.
36. WEICHSELBAUM : Amer. J. Clin. Path. 7, 40, 1946.

ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ.—Προσδιορισμός του χρόνου του θανάτου διὰ τῆς ἐξετάσεως τοῦ ἀνοργάνου φωσφόρου τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ, ὑπὸ *Ἑμμ. Κ. Ἡλιάκη, Ἀλίκης Κ. Ἡλιάκη καὶ Α. Κουτσελίνη**. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ Ἀκαδημαϊκοῦ κ. Κωνστ. Χωρέμη.

ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΗ.—Ἡ ἐξακρίβωσις τῆς ἡλικίας ἐκ τοῦ μυελικοῦ δείκτου τῶν μακρῶν ὀστέων, ὑπὸ *Ἑμμ. Κ. Ἡλιάκη καὶ Προδρόμου Κ. Ἰορδανίδου**. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ Ἀκαδημαϊκοῦ κ. Κωνστ. Χωρέμη.

ΟΡΥΚΤΟΛΟΓΙΑ.—Σύγκρισις τῆς κρυσταλλοχημικῆς συμπεριφορᾶς τοῦ Νιοβίου καὶ Τανταλίου εἰς χημικὰς ἀναλόγους ὀξειδιακὰς ἐνώσεις, ὑπὸ *Ἀθαν. Γ. Πανάγου***. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ Ἀκαδημαϊκοῦ κ. Μαξ. Μητσοπούλου.

* Θὰ δημοσιευθῇ κατωτέρω.

** Θὰ δημοσιευθῇ εἰς τὴν σειρὰν τῶν Πραγματειῶν, τόμ. 25