

L. FLECK i Z. MURCZYŃSKA

Z badań nad mechanizmem leukergii.

Studies on the mechanism of leukergy.

I. Leukergia u zwierząt pozbawionych zupełnie lub częściowo krwinek płytkowych.

W poprzednich pracach opisaliśmy udział krwinek płytkowych w leukergicznym zlepieniu ciałek białych. Dotyczy on przede wszystkim zlepienia granulocytarnych, które prawie zawsze zawierają trombocyty, podczas gdy zlepienia limfocytarne wykazują je tylko w rzadkich przypadkach, a monocytarne prawie nigdy.

W celu rozstrzygnięcia czy udział trombocytów w zlepieniu granulocytarnym stanowi konieczny warunek ich powstawania, usunęliśmy w szeregu przypadków płytki ze krwi zwierzęcia przy pomocy surowicy przeciwpłytkowej według Le d i n g h a m a.

Nasza technika sporządzania surowicy przeciwpłytkowej: Królik otrzymuje dożylnie zastrzyki wzrastających ilości płytek z krwi świnki. Płytki uzyskano przez frakcjonowanie wirowaniem cytrynianowej krwi świnki, najpierw powolne celem osadzenia krwinek czerwonych i białych, potem szybkie wirowanie odciągniętego osocza celem osadzenia płytek. Jednocześnie płukanie płytek roztworem soli fizjologicznej. Pierwszy zastrzyk zawierał płytki z 8 cm³ krwi, następne (w odstępach 2 — 4 dni) z ilości większych aż do 20 cm³ krwi, razem zastrzyków 6. Skrwawiono królika w 8 dni po ostatnim zastrzyku; surowica jego aglutynowała płytki świnki w rozcieńczeniach aż do 1:320.

Zastrzyk śródtrzewny 2 cm³ tej surowicy, wykonany u leukergicznej świnki (++++), wagi około 300 g, wywołał w ciągu 24 godz. spadek liczby trombocytów z 359000 w 1 mm³ do 10000 w 1 mm³ (Fonio). Wystąpiły wybroczyny na błonach śluzowych jamy ustnej. Leukergia spadła do ++. Po dalszych 24 godz. leukergia +++++, liczba płytek 17000 w 1 mm³. Wybroczyny na błonach śluzowych i w skórze po

większają się. Zgon w ciągu dalszych 2 dni, sekcja wykazała rozległe krwawienia w jamach surowicznych, zmiany krwotoczne w płucach, wątrobie, jelitach. Erytrocytów ante mortem 2800000, płytek 25000 w 1 mn.³, prawie wyłącznie olbrzymie. Leukergia ++, wyraźnie widoczne zlepy granulocytów wolne od płytek, pozatem bardzo charakterystyczny obraz wieńcowo ułożonych leukocytów dookoła nielicznie zachowanych przeważnie gigantycznych płytek, patrz ryc. 1, 2, 3.

Analogiczne wyniki dały dwie inne świnki, patrz tabela 1.

W sposób podobny wykonano na śwince surowicę przeciwpłytkową dla królików: 8 zastrzyków dootrzewnowych (co 2 dni) płytek króliczych z 10, 12, 18 itd. do 22 cm³ krwi królików otrzymanych. Skrwawienie dziesiątego dnia po ostatnim zastrzyku. Miano aglutynacyjne dla płytek królika 1:320. Działanie w doświadczeniu na królikach patrz tabela 2. W preparatach ze krwi, wykonanych metodą probówkową, wyraźnie widoczne bezpłytkowe zlepy granulocytów.

Z opisanych doświadczeń wynika, że zlepianie się leukocytów odbywa się także bez udziału płytek. Jednak wydaje się, że nasilenie leukergii uprzednio, tj. przed podaniem surowicy, wywołanej, spada z opadaniem liczby płytek i podnosi się z jej wzrastaniem. Przy małopłytkowości tworzą pojedyncze płytki jakgdyby ośrodki zlepow leukocytarnych. U królika zdrowego (tab. 2, król. „Sz”) wywołał śródżylny zastrzyk surowicy przeciwpłytkowej równocześnie trombopenię i leukergię (białko obcogatunkowe?).

Leukergia jest procesem, który dotyczy zarówno płytek jak leukocytów: wprawdzie odbywa się on także pod nieobecność płytek lecz wyraźnie słabiej. Szczególne powinowactwo płytek do granulocytów, w odróżnieniu od limfocytów a zwłaszcza monocytów, wymaga dalszych badań.

II. Zlepianie się białych ciałek pod wpływem heparyny.

Z literatury¹⁾ wiemy że heparyna powoduje in vitro zlepianie się leukocytów. Zdaniem Jorpesa jest heparyna „jednym z hormonów obsługujących krwiobieg” a komórki tuczne, wytwarzające heparynę (heparynocyty) rozmieszczone są naokoło drobniejszych naczyń i włosników „i to albo tuż przy ścianach albo w niewielkim od nich oddaleniu”. Tworzą one układ hormonalny o ważnej roli fizjologicznej. Nadmiar heparyny we krwi stwierdzono podczas wstrząsu anafilaktycznego (Jacques i Waters), przypuszcza się dla wstrząsu peptonowego (Quick) i po szczególnie intensywnych naświetlaniach promieniami Rentgena (Allen i tow.)²⁾.

¹⁾ Np. Whitby and Britton, Disorders of the Blood, 1946, str. 567; Jorpes, Heparin, 1946, str. 93. Jorpes, Pol. Tyg. Lek. 1947, str. 72.

²⁾ J. Exp. Med. 1948, Vol. 87, Nr 1, str. 71.

Wszystko to naprowadza nas na mniemanie, że heparyna może grać pewną rolę w leukergii, być może jako ów przypuszczany przez nas¹⁾ dodatkowy, nieswoisty czynnik powodujący zwiększoną lepkość leukocytów, niezależnie od głównego swoistego czynnika, odpowiedzialnego za jednorodność cytologiczną zlepek.

W celu wyświetlenia tej sprawy zbadaliśmy w tym kierunku działanie heparyny *in vivo* i *in vitro*.

Otóż stwierdziliśmy, że heparyna²⁾ dodana *in vitro* w ilości 5 — 20 mg⁰/₀ krwi wywołuje zlepianie się leukocytów, widoczne już po 15 — 30 minutach, nasilające się jeszcze z czasem. Zlepy te po odpowiednim klóceniu krwi są tak duże, że widać je na ścianach probówki gołym okiem, tym bardziej że wykazują wyraźne przylepianie się do szkła, podobnie jak zlepy leukergiczne. Mikroskopowe badanie krwi heparynowanej pozwala przy pomocy techniki używanej do prób na leukergię odróżnić zlepy małe, zupełnie podobne do zlepek leukergicznych i zlepy duże, w postaci zbitych kul, złożonych z kilkudziesięciu lub nawet kilkuset leukocytów, dające się odrazu odróżnić od zlepek w leukergii, patrz Ryc. 4, 5, 6. Małe zlepy wykazują podobną jednorodność komórkową jak w leukergii (patrz tab. 3 i 4). Duże są mieszane, lecz głównie granulocytarne i zawierają aglomeraty płytek. Widać w nich często też bezpostaciową masę dokoła i pomiędzy leukocytami, barwiącą się jednostajnie.

Ogrzewanie krwi heparynowanej do temp. 46 — 48° C w ciągu 30 — 45 minut rozbija zlepy, ostudzenie do 37° C łączy je z powrotem. Pod tym względem zachowują się zlepy heparynowe jak leukergiczne. Hypertoniczne (3 — 4⁰/₀) roztwory soli kuchennej hamują powstawanie zlepek heparynowych i rozbijają już istniejące, analogicznie do zlepek leukergicznych. Rzeczą ważną, bo stanowiącą różnicę w porównaniu z leukergią jest okoliczność, że zarówno cytrynian sodu (8 mg na 1 cm.³ krwi, wzgl. 1 część roztworu 3,8⁰/₀ natr. citric. + 4 części krwi) jak szczawian potasu (1 mg na 1 cm.³ krwi, wzgl. 1 część 2⁰/₀ kal. oxalic. + 9 części krwi) hamują powstawanie zlepek heparynowych, lecz dodane po ich powstaniu nie rozbijają już istniejących.

Heparyna wywołuje zlepianie się ciałek białych także w nieobecności płytek krwi, usuniętych surowicą antitrombocytarną.

Protamina lub błękit toluidyny, neutralizujące jak wiadomo działanie antykoagulacyjne heparyny, do krwi dodane wraz z natr. citric. w pół godziny po heparynie, nie powodują rozpadnięcia się zlepek leukocytów, nawet jeśli dodamy je w ilości większej niż potrzebna do zniesienia antykoagulacyjnego działania heparyny.

¹⁾ Tex. Rep. Biol. Med., Vol. V, str. 166, 1947. — Polski Tyg. Lek. 1947, nr 7.

²⁾ Użyty preparat: Heparin Vitrum, Apoteksvarucentralen Vitrum, Stockholm i Solution of Heparin, Lederle Labor. Division.

Wbrew danym w literaturze¹⁾, gdzie prawie z reguły czytamy, że heparyna zapobiega aglutynacji płytek²⁾, stwierdziliśmy wielokrotnie, że dodana do krwi w ilości około 10 mg^{0/0} wywołuje stale zlepianie się płytek, patrz ryc. 7 i 8. Cytrynian sodu i szczawian potasu, protamina i błękit toluidyny wydają się działać na tę aglutynację podobnie jak na zlepianie się leukocytów pod wpływem heparyny.

Heparyna podana królikowi dożylnie w ilości 3—5 mg na 2 kg wagi wywołuje w większości przypadków po $\frac{1}{2}$ — 1 — 2 godz. — na ogół bardzo wcześnie — leukergię, trwającą nieraz kilka dni, tj. dłużej niż działanie antikoagulacyjne. Leukergia ta nie różni się zasadniczo od leukergii po zastrzyku bakterii.

Leukergii heparynowej nie udało się zapobiec przez dożylny zastrzyk protaminy lub błękitu toluidynowego:

22.VI. Królik 59, leukergia +, otrzymuje o godz. 9,15 dwa cm³ protaminy śródżylnie. (1 cm³ tego roztworu równoważył 0,6 mg heparyny).

O godz. 9,30 dwa miligramy heparyny śródżylnie.

O godz. 13 leukergia +++++, zastrzyk dalszych dwóch cm³ protaminy

O godz. 17 leukergia +++++.

Podobne wyniki dały doświadczenia z błękitem toluidynowym.

Protamina lub błękit toluidyny, podane śródżylnie przed wywołującym leukergię zastrzykiem bakterii nie hamują powstania leukergii, podane później nie usuwają leukergii:

22.VI. Królik 49, leukergia +++++, otrzymuje o godz. 9,15 dwa cm³ protaminy dożylnie (roztwór jak wyżej).

O godz. 13 dalsze dwa cm³ protaminy dożylnie, o godz. 17 leukergia +++++, nazajutrz leukergia +++++.

¹⁾ Whitby and Britton, Disorders of the Blood, 1946, str. 111; Boyd, A. Textbook of Pathology, 1946, str. 71; Ollgard, Klin. Wochenschrift 1943, str. 82 itd. itd.

²⁾ Nieporozumienie w literaturze pochodzi stąd, że w roku 1940 Solandt i Best stwierdzili, że heparyna podana in vivo hamuje osadzanie się trombocytów na rysach płytki szklanej we włączonej w krwiobieg komórce. To przylepianie się płytek uważał Best za aglutynację i tak je nazywał (S. and B., Lancet 1940, str. 1042): „Although the initial deposition of platelets was on the scratch, this was quickly followed by the clumping of other platelets on these already immobilised; the process observed was thus, for the most part a true agglutination“. Jorpes, Heparin, 1946, str. 89: „The cellulose trisulphuric acid in a concentration down to 0,000005 percent caused an agglutination of the thrombocytes in vitro, a reaction not given by the natural heparin. There was in this respect a marked difference between the natural and synthetic heparin preparations“. Bessis w swojej ostatnio wydanej w Revue d'Hematologie, (1948), pracy zwraca uwagę na różnicę między przylepianiem się płytek do szorstkiej powierzchni a aglutynacją ich i stwierdza, że heparyna hamuje pierwsze zjawisko a nie hamuje drugiego.

Heparyna zdała swój egzamin kliniczny jeśli idzie o zapobieganie i leczenia zakrzepów, niemniej jednak przyjęte mniemanie o wpływie jej na aglutynację płytek i wogóle o związku między powstawaniem zakrzepów a aglutynacją płytek, musi ulec rewizji.

Pepton podany królikowi śródżylnie w ilości 0,5 — 1,5 gr jako 5% roztwór w fizjologicznym płynie, wywołuje w ciągu 2 — 3 godz. wybitną leukergię, utrzymującą się przez kilka dni.

Z prób naszych z heparyną wynika :

1. Heparyna posiada zdolność zlepiania leukocytów *in vitro*, która to zdolność nie daje się usunąć przez protaminę lub błękit toluidyny. Zlepy heparynowe zachowują się zasadniczo analogicznie do zlepow leukergicznych (temperatura, roztwory hipertoniczne, rola płytek, toluidyna). Zauważone różnice (postać dużych zlepow, mniejsza ich jednorodność komórkowa, hamujące działanie cytrynianu sodu), wydają się być mało istotne.

2. Heparyna wywołuje *in vivo* leukergię, przyczem stan ten zdaje się być niezależny od niekrzepliwości krwi.

3. Na podstawie dotychczasowych prób nie można wprawdzie ostatecznie orzec czy heparyna wchodzi w skład mechanizmu leukergii zapalnej, wydaje się jednak że przypuszczenie to zasługuje na dalsze badanie.

III. Kilka dalszych doświadczeń.

Zjawisko formowania się słupków krwinek jest z wszystkich zjawisk wpływających na układanie się ciałek krwi najbardziej wrażliwe na zmiany sił powierzchniowych. Wahanie stężenia roztworów, wahanie temperatury, rozmaite substancje wpływają wybitnie na tworzenie się słupków. Między innymi lecytyna i saponina dodane do krwi nawet w bardzo małych ilościach powodują „kulistą metamorfozę“ krwinek czerwonych i niszczą możliwość powstawania słupków a także hamują szybkość opadania krwinek.

Otóż wydawało się nam ważne, stwierdzić czy związki te działają podobnie na zlepy leukergiczne. Przekonaliśmy się, że dodatek lecytyny (według Lattes¹⁾), wywołujący ową kulistą metamorfozę erytrocytów nie wpływa na leukergię. Podobnie przedstawia się sprawa z saponiną:

Królik 49, leukergia ++++ po zastrzyku zabitych bakterii. Pobrano z serca krew do cytr. sodu i zmieszano z 1% roztworem saponiny w stosunkach :

5 kropel krwi cytr. + 1 kropla roztw. saponiny — Kulista metamorf. krwinek, zlepy leukocytów bez zmian.

2 krople krwi cytr. + 1 kropla roztw. saponiny — Kulista metamorf. krwinek, zlepy leukocytów bez zmian.

2 krople krwi cytr. + 2 kropla roztw. saponiny — Hemoliza, zlepy leukocytów bez zmian.

Byłaby to jeszcze jedna okoliczność odróżniająca bardzo wyraźnie zjawiska takie jak słupki krwi i opadanie krwinek od leukergii, której mechanizm jest zasadniczo różny.

¹⁾ Lattes, Abderhalden Hdb. d. Biolog. Arbmeth., Abt. XIII, 2.I, str. 751.

Leukergia u małopłytkowych świnek morskich.
Leukergy in guinea pigs with thrombopenia.

TABELA Nr 1.

Świnika Animal Nr	Data Day	Ciałka czerwone Red blood cells	Ciałka białe White blood cells	Płytki Platelets	Leukergia Leukergy	U W A R K I. R e m a r k s.
1. 460 g.	19.II.48	6.000.000	47.000	336.000	+++	2 cm ³ surowicy przeciwpłytkowej dootrzewnowo. 2 cc antiplatelet serum intraperitoneally.
	20.II.	5.170.000	23.500	10.300	++	Wybroczyły na błonie śluzowej jamy ustnej. 1,5 cm ³ surowicy przeciwpłytkowej dootrzewnowo. Petechial hemorrhages of the oral mucosa. 1,5 cc antiplatelet serum intraperitoneally.
	21.II.	3.000.000	36.600	3.000	+++	
	23.II.	2.400.000	64.000	45.600	++++	
	25.II.	3.200.000	25.000	304.000	++++	
E, 240 g.	17.III.48.	6.300.000	35.000	270.000	++	3 cm ³ surowicy przeciwpłytkowej i 0,5 cm ³ zawiesiny zabitych pateczek X ₁₉ dootrzewnowo. 3 cc antiplatelet serum and 0,5 cc of a suspension of killed Proteus X ₁₉ intraperitoneally.
	18.III.48.		18.000		++	Wybroczyły na nozdrzach. 1,5 cm ³ surowicy przeciwpłytkowej dootrzewnowo. Petechial hemorrhages at the nostrils. 1,5 cc antiplatelet serum intraperitoneally.
	19.III.48.	2.550.000	6.500	10.200	+++	
	20.III.48.					Świnika pada. Sekcja wykazuje rozległe zmiany krwotoczne w narządach wewnętrznych. Death. Postmortem examination revealed diffuse hemorrhagic changes of the organs.

Leukergia u małopytkowych królików.
Leukergy in rabbits with thrombopenia.

TABELA Nr 2.

№ Z b i t k	Dzień i godz. Day and hour	Ciałka czerwone Red blood cells	Ciałka białe White blood cells	Płytki Platelets	Leukergia Leukergy	U W A G I. R e m a r k s.
49.	23.IV 1948	4.000.000	52.000	108.000	++++	24 godz. po dożylnym zastrzyku zabitych pateczek X ₁₉ . 24 hours after intravenous injection of killed Proteus X ₁₉ .
	9 ³⁰					2 cm ³ surowicy przeciwplytkowej dożylnie i 0,2 cm ³ śródkórninie. 2 cc antiplatelet serum intravenously and 0,2 cc intracutaneously.
	10 ³⁰	4.500.000	16.400	22.500	++++	
	13 ⁰⁰	4 000.000	56.000	23.000	++++	Wybroczyny w miejscu zastrzyku śródkórnego. Hemorrhagic lesions at the site of the intracutaneous injection.
Sz.	12.V. 1948	5.850.000	9.500	222.000	+	
	9 ⁰⁰					2,5 cm ³ surowicy przeciwplytkowej dożylnie. 2,5 cc antiplatelet serum intravenously.
	10 ⁰⁰	5.500.000	15.000	27.500	++	
	12 ⁰⁰	4.700.000	12.400	14.000	+++	

TABELA Nr 3.

**Skład cytologiczny krwi normalnego królika Nr 55
po 3 godzinach cieplarki.**

Leukocytes of a normal rabbit Nr 55 counted after 3 hours incubation of the blood.

	Krew z 3,8 ⁰ / ₀ cytr. sodu w stos. 1 : 5 Blood with 3,8 ⁰ / ₀ sodium citrate (1 : 5)	Krew z heparyna w stos. 0,1 mg na 1 cm ³ Blood with heparin (0,1 mg : 1 cc)
Ogólna ilość liczonych ciałek Total number of counted cells	306 G 147, L 150, M 9	316 G 150, L 159, M 9
Z tego ciałek zlepionych Number of agglomerated cells	26 G 14, L 12, M 0	164 G 117, L 47, M 0
Procent ciałek zlepionych Percentage of agglomerated cells	8,5	52
Ilość znalezionych zlepów Number of clumps counted jednorodnych homogeneous mieszanych mixed	8 7 (granuloc. 4 limfoc. 3) 1	25 23 (granuloc. 14, limfoc. 9) 2
Średnia ilość komórek w jednej grupie Average number of cells in one clump	3,2	6,5
Wykaz zlepów Counting of the clumps	3 G, 3 G, 4 G, 3 G, 3 L, 3 L, 4 L (2 L + 1 G)	8 G, 3 G, 6 G, 4 G, 3 G, 18 G, 13 G, 20 G, 7 G, 3 G, 3 G, 3 G, 8 G, 4 G, 5 L, 6 L, 6 L, 4 L, 6 L, 3 L, 3 L, 4 L, 3 L (11G+1L), (7L+1G)

G = granulocyty

L = limfocyty

M = monocyty

TABELA Nr 4.

Skład cytologiczny zlepów ciałek białych we krwi królika Nr 48, Leukergia +++++, w 24 godz. po zastrzyku zabitych pał. X¹⁹. Liczono po 3 godz. cieplarki.

Cytological composition of white cell clumps. Rabbit Nr 48 24 hours after injection of killed bact. X¹⁹. Leukergy +++++. Blood counted after 3 hours incubation.

	Krew z 3,8 ^o / _o cytr. sodu w stos. 1 : 5 Blood with 3,8 ^o / _o sodium citrate 1 : 5	Krew z heparyną w stos. 0,1 mg na 1 cm ³ krwi Blood with heparin 0,1 mg : 1 cc.
Ilość grup liczonych Number of groups counted	21	16
Ilość ciałek w tych grupach Number of cells in those groups	108	163
Średnia ilość ciałek w jednej grupie Average number of cells in one group	5,1	10,2
Ilość zlepów jednorodnych Number of homogeneous groups	19 (granuloc.)	6 (granuloc.)
Ilość zlepów mieszanych Number of mixed groups	2	10
Wykaz zlepów Counting of the clumps	5 G, 6 G, 4 G, 3 G, 5 G, 5 G, 7 G, 4 G, 7 G, 5 G, 5 G, 6 G, 3 G, 3 G, 4 G, 4 G, 3 G, 4 G, 9 G. (10G+1L), (4G+1L)	5 G, 4 G, 6 G, 10 G, 4 G, 7 G. (7G+2L), (18G+2L), (8G+ L), (1G+2L), (30G+5L), (5G+3L), (13G+1L), (6G+5L), (9G+2L), (4G+3L).

G = granulocyty

L = limfocyty

M = monocyty

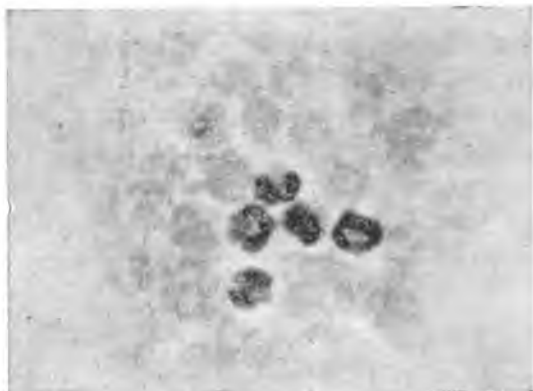


FIG. 1.

Leukergia (+++++) u świnki bezpłytkowej po surowicy przeciwpłytkowej. Zlep leukocytów. Leukergia in a thrombopenic guinea pig (+++++). Clump of leukocytes free of platelets.

FIG. 2.

Wieńcowe zlepy leukocytów świnki małopłytkowej dokoła płytek gigantycznych.

Blood of a thrombopenic guinea pig. Wreath of leukocytes surrounding very large platelets.

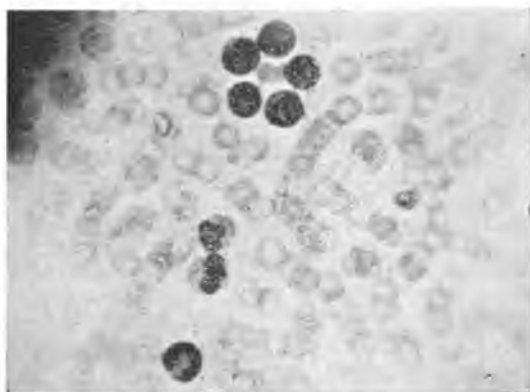
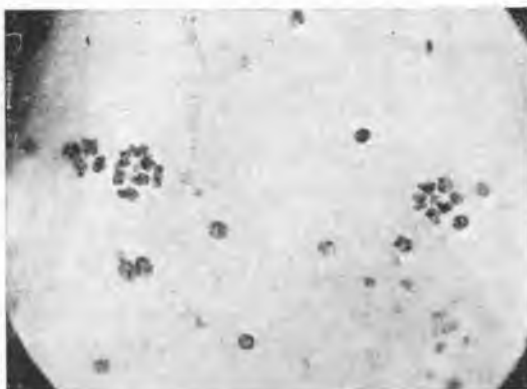


FIG. 3.

Powiększenie jednego zlepu w postaci wieńca dokoła płytki. Enlargement of one clump of leukocytes around a platelet.

FIG. 4.

Próba probówkowa u królika
zdrowego (Nr 55). Krew z cytr.
sodu.

Tube test from the blood of
rabbit Nr 55. Blood with sodium
citrate.

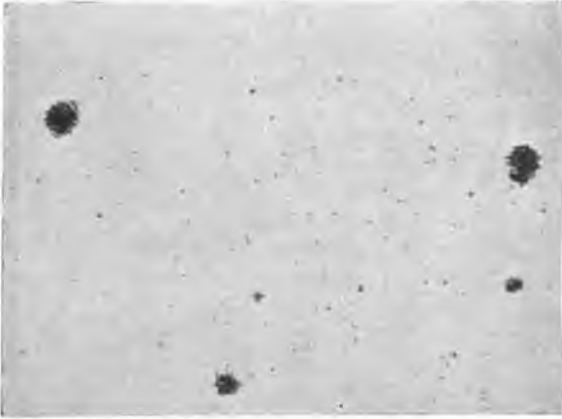


FIG. 5.

Próba probówkowa u tego sa-
mego królika (Nr 55). Krew z he-
paryną (0,1 mg. na 1 cm³ krwi).

Tube test from the blood of rab-
bit Nr 55. Blood with heparin
(0,1 mg in 1 cc).

FIG. 6.

Zlepy heparynowe tejże krwi
pod większym powiększeniem:
duży zlepek granulocytarny, mały
zlepek limfocytarny.

Higher magnification of the
same blood sample as in Fig. 5.
Large clump of granulocytes,
smaller clump of lymphocytes.



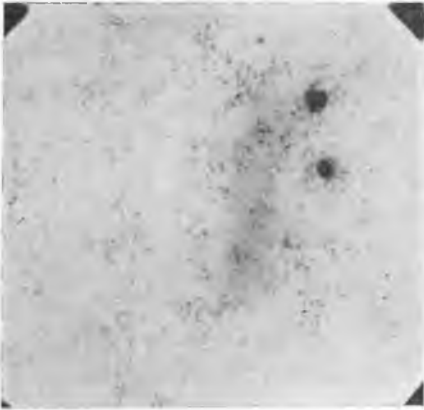


FIG. 7.

Zawiesina trombocytów królika normalnego
w cytrynianie sodowym.

Platelets of a normal rabbit in sodium citrate.

FIG. 8.

Zawiesina tychże trombocytów w heparynie
(0,1 mg na 1 cm.³ krwi)

The same platelets in heparin
(0,1 mg in 1 cc of blood).

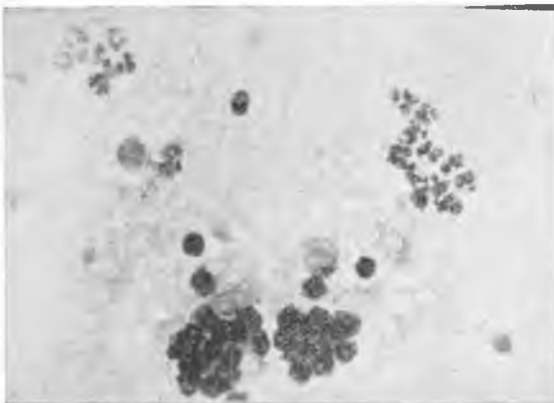
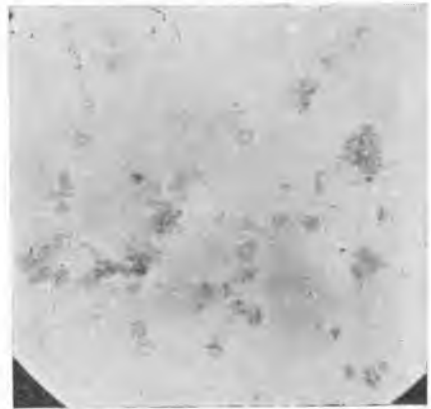


FIG. 9.

Ciałka białe z krwi królika
w surowicy świnki uodpornio-
nej leukocytami królika (rozc.
sur. 1 : 100). Osobne zępy lim-
focytów i granulocytów.

Rabbit leukocytes in antileuko-
cytic serum of a guinea pig im-
munized with rabbit leukocytes
(serum dilution 1 : 100). Sepa-
rate clumps of granulocytes and
lymphocytes.

FIG. 10.

Próba probówkowa z krwią królika 52. Leukergia ++++. Zlepy limfocytów i osobno zlepy granulocytów

Tube test of rabbit Nr 52. Leukergy ++++. Clumps of lymphocytes and a separate clump of granulocytes.

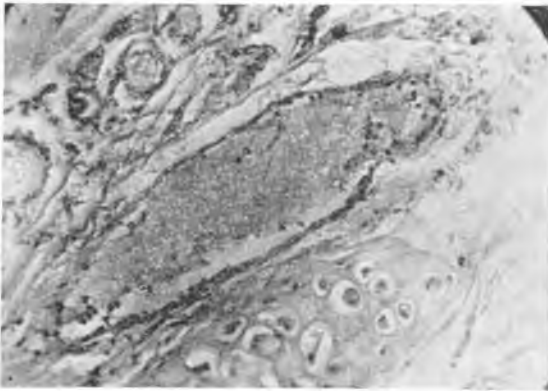
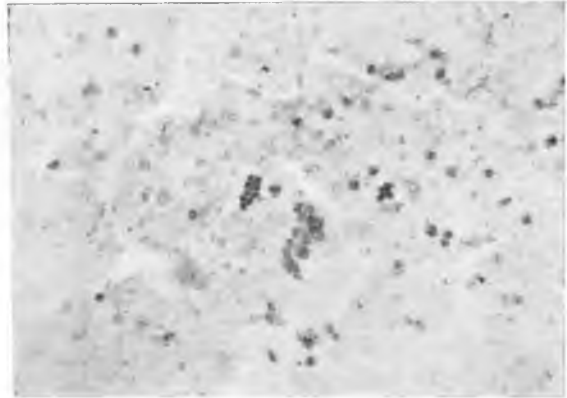


FIG. 11.

Królik Nr 52. Leukergia ++++. W 24 godzin po dożylnym zastrzyku zabitych pałeczek okrężnicy. Przekrój naczynia ucha odciętego termokauterem i natychmiast zamrożonego. Leukocyty w grupach i przy ścianie.

Rabbit Nr 52. Leukergy ++++ 24 hours after intravenous injection of killed b. coli. Section through an ear cut by thermocautery and immediately frozen. Leukocytes in groups and near the wall of a vein.

FIG. 12.

Preparat z tego samego ucha pod większym powiększeniem. Grupy leukocytów przy ścianie ukośnie przeciętego naczynia.

Enlargement of the same specimen. Clumps of leukocytes near the wall of an obliquely cut vein.



P I Ś M I E N N I C T W O .

- 1) L. Fleck. Schweiz. Med. Woch. 1946, Nr 9, s'r. 175.
 - 2) L. Fleck — D. Borecka. Annales UMCS, 1946, Sect. D, Vol. I, str. 335
 - 3) L. Fleck — Z. Murczyńska. Med. Wet. 1946, Nr 2.
 - 4) L. Fleck — Z. Murczyńska. Pol. Tyg. Lek. 1947, Nr 7.
 - 5) L. Fleck — Z. Murczyńska. Texas Rep. Biolog. Medicine, Vol. 5 Nr 2 1947, pages 156 — 167.
 - 6) L. Fleck. Pol. Tyg. Lek. 1947, Nr 46 — 47.
 - 7) M. Branicka. przyczynek do fizjopatologii leukergii. Annales U. M. C. S. Vol. III. 3. 1948.
 - 8) A. Kwiatkowski. Spostrzeżenia nad zjawiskiem leukergii w położnictwie i chorobach kobiecych. Annales U. M. C. S Vol. III. 3. 1948.
-

S U M M A R Y.

I. Studies were undertaken to determine whether the role of platelets is essential for the process of leukergy, since these are regularly found participating in the clumps of leukocytes in leukergic blood. Rabbit serum obtained by immunizing rabbits with guinea pig platelets (titer 1 : 320) and injected intraperitoneally into guinea-pigs (0,75—1,8 cc pro 100 g body weight) caused a drop of platelets from several hundred thousand to a few thousand pro cmm or even a complete disappearance within 24 hours.

Serum of guinea pigs which had been immunized with rabbit platelets caused after intravenous injection in rabbits (1,0 — 1,5 cc pro 1 kg. of body weight) a drop of the number of platelets from several hundred thousand to about 10,000 pro cmm within 30 — 60 minutes.

Animals which had leukergy either before the administration of antiplatelet serum, or which received simultaneously antiplatelet serum and a suspension of killed bacteria showed leukergy even during the phase of maximal thrombopenia, although to a lesser degree. The injection of antiplatelet serum into normal animals, which had no leukergy, elicited leukergy, probably as a response to foreign protein.

Microscopic blood examination of thrombopenic animals by the usual technique used for the examination of leukergy revealed groups of leukocytes completely devoid of platelets or groups including one or two platelets — often of very large size — as a center surrounded by leukocytes (Fig. 1, 2, 3).

The conclusion can be drawn that, although leukergy is a process which involves leukocytes as well as platelets, the clumping of leukocytes proceeds unaltered in the absence of platelets.

II. The fact that heparin is one of the important blood hormones and that heparin causes clumping of leukocytes led us to investigate its role in the process of leukergy.

Blood added by 5 — 20 mg% of heparin shows groups of clumped leukocytes either immediately or after approximately 30 minutes. Microscopic examination reveals smaller groups of considerable cytological

homogeneity (T. 3, 4), which do not differ from those usually seen in leukergic blood, and larger groups which contain up to several hundred cells of different types of leukocytes (Fig. 4, 5, 6).

The groups of leukocytes in heparinized blood and in leukergic blood have many similar properties: 1. hypertonic salt solutions (3—4%) inhibit their appearance and cause a disintegration of already formed groups, 2. the same effect is produced by a rise of temperature up to 46 — 48° C.; this process is reversible within a limited time, 3. the clumping proceeds also in the absence of platelets. A distinguishing feature is the inhibition of clumping in heparinized blood by addition of sodium citrate or potassium oxalate without disintegration of already existing groups.

Protamine and toluidine blue do not impede the clumping action of heparin on leukocytes although added in amounts exceeding those needed for the neutralization of the anticoagulant action of heparin.

Contrary to other statements (Whitby and Britton; Boyd; Ollgard; Jorpes) we have found that heparin added in amounts of approximately 10 mg% causes agglutination of platelets.

Intravenous injection of heparin (1,5 — 2,5 mg pro 1 kg. body weight) elicits leukergy in rabbits, which appears in some cases within 30 minutes in others within a few hours after the injection and persists sometimes for several days i. e. longer than the anticoagulant action of heparin. No distinctive marks could be detected between leukergy appearing after heparin and leukergy caused by the injection of killed bacteria.

The process of leukergy after injection of heparin or killed bacteria was not inhibited by a preliminary injection of protamine or toluidine blue.

An increase of heparin content was reported during anaphylactic shock, in peptone shock and after intensive X ray irradiation. In our experiments intravenous injections of peptone in rabbits (0,5 — 1,0 g) elicited leukergy within 2 — 3 hours which persisted for several days.

Histamine injected intravenously in rabbits in doses of 0,5 — 1,0 mg elicited leukergy within a few hours which persisted at least for one day. Experiments with histamine in these doses are rather complicated as many animals show violent shock symptoms and succumb.

On the evidence presented it seems justified to conclude that heparin may represent this nonspecific factor which contributes to the process of leukergy by increasing the stickiness of leukocytes. The existence of such a factor — besides another one responsible for the cytological homogeneity of the groups — has been anticipated in our previous publications.

III. The addition of surface active substances such as lecithin or saponin does not influence the agglomeration of leukocytes in leukergic blood. This provides an additional evidence for our assumption that the mechanism responsible for the process of leukergy is different from the mechanism underlying such phenomena like rouleaux formation or erythrocyte sedimentation.
