

615.391:541.18

KOLOIDNÍ INFÚZNÍ ROZTOKY KOLAGENNÍHO TYPU

Doc. RNDr. PhMr. Josef MALÝ, CSc., RNDr. PhMr. Marie PAVELKOVÁ
Střední zdravotnická škola v Brně, Lékárna MÚNZ v Brně

1. Obecné vlastnosti koloidních infúzních roztoků

Společným názvem koloidní infúzní roztoky, také plazmaexpandery, se běžně označují heterogenní disperse hydrofilních koloidů různého chemického typu, které mají schopnost dočasně nahradit chybějící krevní objem a udržet cirkulaci krve při šocích. Označení má být omezeno na hypertonické roztoky, které po infúzi do cévního systému nahradí osmotickou funkci plazmatických proteinů (přejímají jejich funkci v intravazálním transportu vody a elektrolytů) (17, 48). K tomuto účelu se využívá koloidních roztoků makromolekulárních látek (m. h. v rozmezí 20 000—100 000), jejichž koncentrace jsou voleny tak, že mají vyšší tlak než krev (350—400 mm vodního sloupce) (1). K objasnění účinku těchto látek se zdůrazňuje komplex jejich vlastností — hustota, viskozita

a osmotický tlak, které musí být obdobny vlastnostem krve (11, 22, 33, 44). V novější odborné literatuře se kladou u koloidních infúzních roztoků zvýšené požadavky na celkové terapeutické i technologické vlastnosti (10, 32, 40, 50).

K terapeutickému používání koloidních infúzních roztoků se přistupuje v těch případech, kdy je nutné rychle vyrovnat nepoměr mezi objemem cév a množstvím obíhající krve. Jejich infúzemi se kryjí krevní ztráty nepřevážující 10—20 % objemu; větší ztráty lze uhradit jen krátkodobě, než jsou vyrovnány krví nebo plazmou. Jsou také indikovány, dojde-li při šoku k tzv. vnitřním ztrátám (redistribuci tělních tekutin), dále při krvácení a všech stavech, při nichž je nutná transfúze a doplnění oběhového systému — při hemokoncentraci u popálenin, při exsikaci organismu nebo pooperačních toxikózách (4).

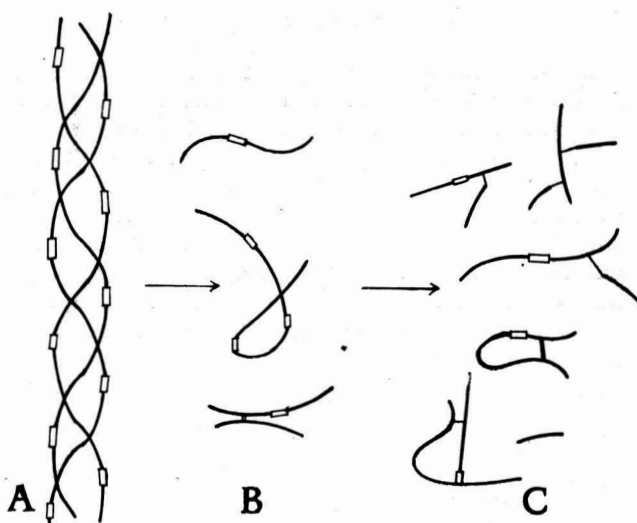
V současné době patří mezi základní druhy koloidních infúzních roztoků přípravky dextransové, jež jsou rozšířeny a využívány u nás i v ostatních socialistických zemích, dále roztoky kolagenního typu a pouze v omezeném měřítku se udržují roztoky polyvinylpyrolidonu. Každý z těchto koloidních infúzních roztoků má určité výhodné vlastnosti, ale také některé nedostatky, které je nutno mít v terapii na paměti a počítat s nimi. Ve svém příspěvku se zaměřujeme pouze na bližší objasnění určitých otázek použitelnosti a výroby roztoků kolagenního typu (želatiny a jejich chemických obměn).

2. Roztoky kolagenního typu (želatina a její modifikace)

Želatina patří mezi často používané součásti koloidních infúzních roztoků. První pokusy na izolovaném zvířecím srdci se želatinou ve fyziologickém roztoku konal **Ringer** (42) již v roce 1885; o dvanáct roků později jí bylo využito intravenózně proti hemorhagii (7). Za šokových stavů se poprvé aplikovala před první světovou válkou a během ní (3, 42). Z počátku se proti jejímu používání namítalo (14), že je zde nebezpečí přenosu tetanu, antraxu a antigenního účinku. Zjistilo se však, že odstranění antigenity a znečištění nečiní žádné technické problémy. Zvýšený zájem o želatinu nastal po druhé světové válce (18) a od roku 1950 se začala hromadná výroba plně vyhovujících farmaceutických přípravků (8). Se zavedením a rozšířením koloidních infúzních roztoků kolagenního typu jsou spojena jména významných vědců, jako např. **Pulinga, Campbella, Tourtelottea, Schmidta-Thomé** a dalších (52).

Želatina se vyrábí štěpením zvířecího kolagenu — skleroproteinů — organické součásti podpůrného a spojovacího vaziva kostí a kůže (41). Kolagen sestává z různých aminokyselin a jeho struktura byla objasněna využitím rentgenové analýzy. Je to vláknitý protein, který u savců představuje 30 % z celkového množství proteinů a skládá se z peptidových řetězců o střední molekul. hmotnosti 100 000 — 120 000 (31). Jednotlivé molekuly vznikají spojením tří řetězců, které jsou stavebními kameny rozpustného kolagenu a nazývají se tropokolagen. Peptidové řetězce vytvářejí primární levotočivé spirály a tři se vždy spojují v sekundární pravotočivou spirálu zvanou superhelix, jež je držena pohromadě vodíkovými vazbami. Biologickým stárnutím kolagenu (tím se zhoršuje i jeho rozpustnost) dochází k síťovitému spojení tropokolagenu kovalentními vazbami. Za podélná spojení peptidových řetězců a jejich příčné síťovité spojení je především zodpovědná esterová vazba. Želatina obsahuje méně esterových vazeb než výchozí kolagen a jejich počet se liší podle výrobní metody (31) (viz obr. 1).

Převedení kolagenu na želatinu je možné alkalickou nebo kyselou cestou. Prvního postu-



Obr. 1. Schematizovaná změna kolagenu (A) v běžný typ želatiny (B) a koloid druhu oxipolyželatiny (C) podle H. Nitschmanna a H. R. Stolla (31).

Symbol —□— se znázorňují esterová spojení řetězců.

pu se využívá u staršího, méně rozpustného kolagenu, druhého u mladšího, tj. s menším počtem esterových vazeb. Výroba želatiny alkalickým štěpením probíhá ve dvou fázích:

a) kolagen se za obvyčejné teploty smíchá se suspenzí hydroxidu vápenatého, silně nabobtná a při tom dojde k hydrolytickému rozštěpení esterových vazeb i některých vazeb peptidických. Z amidových vazeb a konečně z α -aminoskupin je uvolňován amoniak;

b) v druhé fázi se účinkem horké vody rozpadne helixová konfigurace a dojde k denaturaci kolagenu. Do roztoku přejde želatina, která má méně esterových vazeb než druhý typ získaný kyselou cestou.

Kyselé štěpení proběhne po okyselení kolagenu; při $\text{pH} = 4$ lze za tepla želatinu přímo extrahovat stejným postupem, jak bylo uvedeno shora.

Oba typy želatiny jsou oficiální v americkém lékopise a označují se jako **Pharmagel A** (vyrobený kyselou cestou) a **Pharmagel B** (získaný alkalickým postupem). Hlavní rozdíly mezi těmito želatinami jsou v hodnotě izoelektrických bodů: Pharmagel B má izoelektrický bod při $\text{pH} = 4,8-5,1$ a Pharmagel A při $\text{pH} = 8,8-9,3$. Toto je způsobeno tím, že při alkalickém postupu se uvolní z amidových a esterových vazeb více karboxylových skupin (41).

Fyzikálně chemické vlastnosti želatinových roztoků. Želatina je v roztocích v molekulární disperzi a velikost jejích částic není stejná; molekul. hmotnost se pohybuje v rozmezí 60 000—80 000 (21). Vodné hydrogely želatiny tuhnou v závislosti na teplotě už od 0,5% koncentrace, např. 5% roztok je tuhý do teploty 32 °C. Tuhnutí želatiny lze si vysvětlit sdružováním částic trojrozměrného systému molekulového řetězce, závisí na teplotě a je reverzibilní. Po zahřátí se pevné žela-

tinové hydrogely v úzkém teplotním rozmezí ztekucují, takže se obvykle nesprávně mluví o jejich bodech tání. Hodnocení této vlastnosti se musí dělat za přesně definovaných podmínek, neboť je to důležitá konstanta při všech vývojových studiích spojených s úpravou želatiny pro koloidní infúzní roztoky. K snížení bodu tuhnutí na hodnoty kolem 0°C je nutné zmenšit molekulovou hmotu pod 18 000; ovšem koloidy těchto rozměrů by se velmi rychle vylučovaly z organismu. Proto se musel provádět značně složitý výzkum, aby se dosáhlo snížení schopnosti želatiny přecházet v tuhé gely bez většího zmenšení její molekul. hmotnosti (21, 31, 41).

Chemické možnosti úpravy želatiny. Zpočátku bylo zkoumáno, zda kyselé nebo zásadité skupiny v peptidových řetězcích ovlivňují tuhnutí želatiny. Při tom se zjistilo, že všechny polární skupiny, s výjimkou samotných peptidových skupin, nemají na tuhnutí větší vliv. Dále se studovaly substituční možnosti v molekule: o těchto výsledcích však nebyly dosud publikovány žádné zprávy, i když není vyloučeno, že právě zde tkví další možnosti. Ukázalo se, že převedením lineárních peptidových řetězců na rozvětvené se snižuje schopnost želatiny vytvářet gely. Rozvětvení se dosáhlo příčnými vazbami s menšími můstkovými molekulami. Jde o zavedení látek se dvěma či více reaktivními skupinami, které jsou schopny reagovat s funkčními skupinami želatiny za tvorby kovalentních vazeb. Dále mají želatinové molekuly možnosti tvorby příčných vazeb, reagují-li vzájemně jejich funkční skupiny — hlavně jde o kondenzaci karboxylové skupiny s volnou aminoskupinou za vzniku peptidových vazeb.

Na vztah mezi střední molekul. hmotností a bodem tání želatiny mají vliv podmínky při extrakci, pH, teplota a délka zahřívání. Znamená to, že lze upravit technologii tak, aby se bod tuhnutí ve srovnání se střední molekul. hmotností značně snížil a v tom jsou další možné úpravy vlastností želatiny pro koloidní infúzní roztoky (21, 43). V praxi se používají jako nejběžnější druhy takto chemicky upravené želatiny:

21. oxipolyželatina (zkracuje se OPG),
22. želatina s močovinovými můstky,
23. upravená tekutá želatina (MFG).

21. Oxipolyželatina. Přípravu tohoto typu upravené želatiny popsal v roce 1951 Campbell se spolupracovníky (6). Jde o částečně hydrolyzovanou želatinu, u níž se příčně síťovité vazby dosahuje dialdehydem glyoxalem; ten reaguje se dvěma funkčními skupinami v molekule želatiny za tvorby kovalentní vazby. Zesíťování proběhne mezi dvěma řetězci (interkatenární) i uvnitř řetězce, tj. intrakatenární. Interkatenární vazby vedou ke zvýšení střední molekul. hmotnosti, zatím co intrakatenární ji nemění; oba druhy vazeb však způsobují snížení bodu tuhnutí.

Reakční produkty se zahřátím a oxidací peroxidem vodíku rozštěpí na střední molekul. hmotnost v rozmezí 30 000—35 000. Oxidací se dále zvyšuje počet ionizovatelných karboxylových skupin, posunuje se izoelektrický bod na kyselou stranu a zvyšuje osmotický účinek (44).

Oxipolyželatina je netoxická, má bod tuhnutí v rozmezí 10—13°C a v krevním řečišti setrvá mnohem déle než samotná želatina. Nedá se ovšem tepelně sterilizovat (7). Je hlavní součástí hromadně vyráběného přípravku **Gelifundol^R** (přesné složení viz tab. 1).

Tab. 1

Složení želatinových plazmaexpanderů

Obsahové látky	Geli-fundol ^R	Hae-maccel ^R	Plas-magel ^R	Physio-gel SRK
Oxipolyželatina	50,0 g/l	—	—	—
Želatina s močovinovými můstky	—	35,0 g/l	—	—
Upravená tekutá želatina	—	—	30,0 g/l	40,0 g/l
Na ⁺ mval/l	130,0	145,0	120,0	146,0
Ca ⁺⁺ mval/l	1,2	12,5	27,0	24,0
K ⁺ mval/l	—	5,1	—	—
Sorbitol g/l	12,6	—	—	—
Voda na injekci do 1000 ml	+	+	+	+

22. Želatina s močovinovými můstky. Tento způsob úpravy želatiny popsal v roce 1962 Schmidt-Thomé (2). K zesíťování se využívá diisokyanátu, který s aminoskupinami reaguje za vzniku fyziologicky indifferenčních derivátů močoviny (17). Reakci s diisokyanátem je možné vícekrát opakovat. Při výrobě se nejdříve želatina hydrolyticky rozštěpí na střední molekul. hmotnost 12 000 až 15 000 a zesíťováním se vytvoří ze tří odštěpených peptidových řetězců nová molekula střední molekul. hmotnosti 35 000—45 000. Na tento druh modifikované želatiny se již nesmí působit oxidačními činidly (31); do praxe ji zavedla fa **Hoechst** pod názvem **Haemaccel^R** (19, 55).

23. Upravená tekutá želatina. Zatímco oba předchozí druhy želatiny měly globulárně uspořádané molekuly, tento typ je má lineární (41). Při přípravě se ve slabě kyselém prostředí želatina rozštěpí anhydridem kyseliny jantarové na střední molekul. hmotnost 30 000—40 000. Vzniklé aminoskupiny hydrolyzátu reagují s anhydridem kyseliny jantarové tak, že v určitých případech může být sukcinylováno až 26 % aminoskupin z výchozí želatiny (46).

Sukcinylací se snižuje izoelektrický bod a značně se zvyšuje počet negativních nábojů (44). Bod tání je přibližně stejný jako u oxipolyželatiny při nižším izoelektrickém bodu (31). Upravená tekutá želatina se vyznačuje vyšším bobtnáním, takže její molekuly zaplňují větší prostory než stejně dlouhé řetězce ostatních upravených želatín. Díky těmto vlastnostem mají roztoky vyšší viskozitu, menší difúzní schopnosti a setrvávají delší dobu v krevním řečišti (viz tab. 2). Na světovém trhu se přípravky uvádějí pod ochrannými známkami: **MFG** (výrobce **Knox Gelatin Co.**), **Plasmagel^R** (Lab. Roger Bellon nebo **B. Braun, Melsungen**) a **Physiogel^R** (Lab. service de transfusion, Švýcarský červený kříž, Bern).

umožňuje těsné spojení láhve s infúzní soupravou, a na dně je ouško k zavěšení, takže odpadají kovové upevňovací objímky. Předností těchto obalů je nejen jejich nerozbitnost a mnohem nižší hmota, ale i snadnější manipulace s nimi (jsou určeny k jednorázovému používání). Protože se tyto druhy obalů používají především za ztížených podmínek, byly s nimi prováděny nejrůznější druhy zkoušek. Při delším skladování koloidních infúzních roztoků kolagenního typu v obalech z různých vysokomolekulárních sloučenin (z polyetylenu, polypropylenu, polyvinylchloridu a polyamidu) může dojít při nesprávné volbě obalové hmoty k následujícím nežádoucím interakcím: zabarvení, posunu pH, změnám v ústrojně kapacitě,

Tab. 2

Přehled fyzikálních vlastností hlavních druhů plazmaexpanderů (34)

Název přípravku	Střední molekulová hmotnost	pH	Viskozita		Koloidně osmotický tlak
			dynamická v cP	relativní (H ₂ O = 1,0)	
Gelifundol ^R	30 000	7,0—7,6	1,38	1,8—2,1	—
Haemaccel ^R	35 000	7,2—7,3	1,15—1,28	1,7—1,8	350—390 mm H ₂ O
Plasmagel ^R	40 000	6,1	1,30—1,55	1,63	28,5 mm Hg
Physiogel SRK	26 000	7,2	1,71	2,4	—
Macrodex	60 000	5,4	2,52—3,20	—	—
Rheo-Macrodex	40 000	—	3,50—3,60	2,8	—
Periston ^R	25 000	5,9	—	1,8—2,0	670 mm H ₂ O
Periston NR	12 600	5,0—6,0	—	1,6	1400—1800 mm H ₂ O

Sterilizace přípravků kolagenního typu. Roztoky obsahující chemicky upravenou želatinu se s výjimkou druhů OPG doporučuje nejvhodněji sterilizovat v proudící vodní páře, a to vždy opakovaně třikrát v jediném dnu (8). Všeobecně se u nich udává povolená doba skladovatelnosti za běžné teploty v rozmezí 3—5 let (45). K zhoršení stability nedochází ani po zmrazení nebo při zvýšené teplotě v tropickém klimatu (29). Např. **Haemaccel^R** byl skladován po dobu tří let za různých teplot, aniž došlo k zhoršení jeho jakosti (9). Také přípravek **Physiogel^R** nezměnil hodnoty střední molekul. hmotnosti ani po čtyřletém až pětiletém skladování při teplotách 10—15 °C (15) a beze změny zůstala i viskozita (35).

Způsoby balení. Pro adjustaci těchto typů přípravků kromě klasických skleněných obalů bylo vhodně využito i určitých předností obalů z termoplastů (19, 28, 30). Přípravek **Haemaccel^R** se v hromadné výrobě plní do obalů z určitého druhu vysokotlakého polyetylenu, které se vyrábějí na automatech značky **Bottle Pack** (od švýcarské firmy **Rommelag**) (26, 29). Užívané obaly jsou na horním konci uzavřeny ještě pryžovým kloboučkem, který

poklesu viskozity a molekul. hmotnosti, popříp. mohou adjustované roztoky samy atakovat obalovou hmotu, což však je u těchto přípravků méně časté. Koloidní infúzní roztoky s oxipolyželatinou nebo s želatinou s močovinovými můstky jsou stabilní v obalech z vysokotlakého polyetylenu a polypropylenu, méně vhodné jsou pro ně obaly z polyvinylchloridu a polyamidu. Naprosto rozdílné výsledky se dosáhly při výběru obalové hmoty pro upravenou tekutou želatinu, kde se jako nejvhodnější ukázal polyvinylchlorid. K barevným změnám nejčastěji docházelo u oxipolyželatiny — roztoky byly žluté až červené, a u upravené tekuté želatiny, která mírně žloutla. Při hodnocení poklesu viskozity se zjistilo, že závisí na druhu přípravku, teplotě a délce skladování. U koloidních infúzních roztoků v polyetylenových obalech po jednom roce uchovávání při 20 °C klesala viskozita v následující řadě: oxipolyželatina (5 %) > želatina s močovinovými můstky (9 %) > upravená tekutá želatina (13,7 až 16 %) (21).

K normování základních vlastností želatinyvých infúzních roztoků i používaných obalů chybí dosud závazné a jednotné předpisy. Jako nejlepší jakostní ukazatel se jeví rozdělení

střední molekul. hmotnosti, které se dá nejpřesněji a nejspolehlivěji stanovit gelovou filtrací [41].

Kompatibilita kolagenních přípravků s dalšími léčivy. Tento druh koloidních infúzních roztoků lze současně podávat s elektrolytovými roztoky, se sacharidy, nikoliv však s tukovými emulzemi [51, 54]. Vzhledem k tomu, že obsahují vápníkové ionty, nemá se žádný druh upravené želatiny mísit s citrónanovou krví, s ACD stabilizovanou krevní konzervou a plazmou [15]. **Plasmagel**^R lze kombinovat s vodnými roztoky těchto léčiv: barbituráty, gallaminem, d-tubokurarinem, kortikosteroidy, léky krevního oběhu, antibiotiky penicilínového a tetracyklinového typu, prokainem, xylokainem a vitamíny. U **Haemacellu**^R se uvádí i možnost jeho mísení s protitetanovým globulinem.

Metabolismus želatiny. Želatina se vylučuje ledvinami a po několik hodin zvyšuje diurézu [13]. Vzhledem k nízké molekul. hmotnosti velmi rychle mizí z krevního oběhu; obdobně jako u jiných koloidních infúzních roztoků je i u želatiny z počátku pokles v krevní hladině rychlejší a později se zpomaluje. U **Haemacellu** se udává [20, 27, 38], že 4–6 hodin po infúzi opouští z 50 % organismus, po 24 hodinách zůstává jen 5–10 % a za 48 hodin zmizí z organismu úplně. Nevyvolává žádné orgánové změny, nezadržuje se v RES a ve tkáních jen po několik hodin [39]. Oxipolyželatina se za drží v organismu po pěti hodinách jen ze 37 % podaného množství a po 24 hodinách zůstane 14 % [14]. Rychlost vylučování i množství zadržené v tkáních závisí na hodnotách střední molekul. hmotnosti želatiny [12]. Vlastní štěpení není dosud přesně objasněno, protože se nepodařilo označit jednotlivé v ní obsažené aminokyseliny [15]. Přesto se uvádí, že želatina nevyloučená ledvinami se v organismu štěpí proteázami těla vlastními — katepsinem a tripsinem [2, 18, 34]. Vylučování přípravků obsahující oxipolyželatinu i upravenou tekutou želatinu je o něco rychlejší než vylučování **Haemacellu**^R [11].

Terapeutické použití. Přípravky kolagenního typu se osvědčují všude tam, kde dojde k nepoměru mezi náplní a kapacitou krevního řečiště [16, 54]. S úspěchem se jich dá využít i k uchovávání erytrocytů. Svým účinkem se vyrovnávají albuminu nebo plazmě [4, 5, 40]; jejich výhodou je bílkovinný charakter, jsou nejbližší k přirozeným nositelům koloidně osmotického účinku a zvyšují obranné schopnosti organismu před škodlivinami [20].

Při srovnání s ostatními koloidními infúzními roztoky (dextranem i polyvinylpyrrolidonem) se vyzdvihují vždy tyto vlastnosti roztoků kolagenního typu: jsou neantigenní, fyziologicky zcela indiferentní, bez vedlejších nežádoucích účinků i při aplikaci větších objemů [23]; nemají tendenci se kumulovat, ne-

způsobují poruchy krevní srážlivosti, neruší stanovení krevních skupin a vylučují nebezpečí přenosu virové hepatitidy [3]. Jejich nedostatkem je nižší střední molekul. hmotnost, která způsobuje rychlejší vylučování z organismu. Pro aplikaci infúzních koloidních roztoků kolagenního typu se vyslovili mimo jiné např. **Lundsgaard-Hansen P. se spolupracovníky** [24, 25]. Všeobecně se pak v literatuře zdůrazňuje, že koloidní infúzní roztoky obsahující látky kolagenního typu nebo dextran jsou nejvhodnějšími náhradními roztoky krve.

Souhrn

V přehledu se podávají základní vlastnosti koloidních infúzních roztoků a uvádějí se nejdůležitější látky, které se dnes v terapii používají. Pozornost se zaměřuje pak na želatinu a možnosti jejich chemických obměn. Vedle technologie a nejnovější adjuvace se zdůrazňují některé terapeutické přednosti a nedostatky. Celkově lze říci, že roztoky látek kolagenního typu představují velmi cenné koloidní infúzní roztoky, které si udržují významnou pozici v této skupině důležitých léků.

Literatura

1. Alstaedter, R.: *Ärztl. Sammelbl.*, 49, 1960, s. 31.
2. Appel, W., Biekert, E.: *Angew. Chem.*, 80, 1968, s. 719.
3. Bagdassarov, A. A., Guljajev, A. V.: *Bluttransfusion*. Berlin, VEB Verlag Volk und Gesundheit 1958, s. 220.
4. Benke, A.: *Med. Klin.*, 56, 1961, s. 1593.
5. Bogomolova, L. G., Znamenskaja, T. V.: *Probl. Gematol.*, 7 (4), 1962, s. 32.
6. Campbell, D. M. et al.: *US pat.*, 2591133, 1951.
7. Dobrý, E. et al.: *Transfúze krve*. Praha, SZdN 1961.
8. Dobrý, E.: *Transfúzní přípravky*. Praha, účelová publikace SEVAC 1970.
9. Eichler, J.: *Zbl. Verkehrs-Med.*, 15, 1969, s. 240.
10. Firt, P., Hejhal, L.: *Voj. zdrav. Listy*, 22, 1953, s. 407.
11. Firt, P., Hejhal, L.: *Koloidní infúzní roztoky v léčbě krvácení*. Praha, SZdN 1964.
12. Gabr, Y., Michael, A.: *Arzneimittel-Forsch.*, 17, 1967, s. 1211.
13. Göltner, E., Lang, F.: *Med. Welt*, 23, 1964, s. 1276.
14. Gropper, A. L. et al.: *Surg. Gyn. Obstet.*, 95, 1952, s. 521.
15. Gruber, U. F.: *Blutersatz*. Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag 1968.
16. Habif, D. V. et al.: *Bibl. haemat.*, 33, 1969, s. 248.
17. Hässig, A.: *Anästhesist*, 15, 1966, s. 271.
18. Hässig, A., Stampfli, K.: *Pharm. Ztg.*, 106, 1968, s. 1287.
19. Hilwig, I. et al.: *Pharm. Ind.*, 29, 1967, s. 137.
20. Horatz, K., Frey, R.: *Schock und Plasmaexpander*. Berlin-Göttinger-Heidelberg, Springer-Verlag 1964, s. 84.
21. Lafrenz, K.: *Dissertation*. Hamburg 1969.
22. Lang, K.: *Infusionstherapie*. Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag 1966, s. 214.
23. Lundsgaard-Hansen, P. et al.: *Anästhesist*, 16, 1967, s. 206.
24. Lundsgaard-Hansen, P.: *Bibl. haemat.*, 33, 1969, s. 194.
25. Lundsgaard-Hansen, P., Riedwyl, H.: *ibid.*, 33, 1969, s. 209.
26. Malý, J.: *Farm. obzor*, 37, 1968, s. 311.
27. Münzel, K. et al.: *Galenisches Praktikum*. Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft 1959.
28. Neuwald, F.: *Bibl. haemat.*, 33, 1969, s. 598.
29. Neuwald, F., Lafrenz, K.: *Pharm. Ind.*, 31, 1969, s. 883.

30. Neuwald, F., Lafrenz, K.: Českoslov. farm., 19, 1970, s. 104.
31. Nitschmann, H., Stoll, H. R.: Pharm. Ztg., 113, 1968, s. 1594.
32. Petz, R., Štěrba, O.: Farm. obzor, 37, 1968, s. 59.
33. Ravdin, I., Fitts, W.: Amer. J. Surg., 80, 1950, s. 745.
34. Reissigl, H.: Med. Welt, 23, 1964, s. 232.
35. Schaller, F., Roggen, G.: Bibl. haemat., 33, 1969, s. 587.
36. Schütterle, G. et al.: ibid., 33, 1969, s. 581.
37. Schmidt-Thomé, J. et al.: Arzneimittel-Forsch., 12, 1962, s. 378.
38. Schwartzkopff, W.: Z. klin. Med., 157, 1962, s. 156.
39. Schwartzkopff, W. et al.: Z. exper. Med. 147, 1968, s. 202.
40. Seeley, S. F., Pulaski, E. J.: Amer. J. Surg., 83, 1953, s. 382.
41. Siegel, D.: APV-Informationsdienst, 16, 1970, s. 108.
42. Simon, E.: Anaest. Analg. Réanim., 15, 1958, s. 681.
43. Stoll, H. R.: Bibl. haemat., 33, 1969, s. 81.
44. Stoll, H. R., Nitschmann, H.: ibid., 33, 1969, s. 96.
45. Thiercelin, P. C. et al.: ibid., 33, 1969, s. 601.
46. Tourtelotte, D., Williams, H. E.: US pat., 2827419, 1953. Eng. pat., 742594, 1955. DB pat., 945650, 1956.
47. Triner, L., Mráz, M.: Physiol. bohemoslov., 12, 1963, s. 128.
48. Vars, H. M. et al.: Ann. New York Acad. Sci., 55, 1952, s. 496.
49. Weiler, H., Schneider, H.: Pharm. Ind., 28, 1966, s. 787.
50. White, C. S., Weinstein, J. J.: Blood Derivates and Substitutes. Baltimore, Williams and Wilkins Comp. 1947.
51. Williams, J. T., Moravec, D. F.: Intravenous Therapy. Hammond, Clissold Books Publ. 1970, s. 127.
52. Zäbisch, K.: Schweiz. med. Wschr., 90, 1960, s. 378.
53. J. Am. Med. Ass., 197, 1966, s. 30.
54. Firemní literatura o přípravku *Plasmagel R*, výrobce *B. Braun*, Melsugen v NSR.
55. Firemní literatura o přípravku *Haemaccel R*, výrobce *Farbwerke Hoechst AG*, Frankfurt am Main v NSR.