

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA SOCIÁLNÍ A KLINICKÉ FARMACIE

HISTORICKÝ VÝVOJ LABORATORNÍCH METOD,  
HISTORIE A SOUČASNOST BIOCHEMICKÝCH  
LABORATORNÍCH VYŠETŘOVACÍCH METOD

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: doc. PhDr. František Dohnal, CSc.

Hradec Králové 2013

Veronika Pavlíčková

„Prohlašuji, že předkládanou bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně, s využitím uvedené literatury a podkladů, na základě konzultací a pod vedením vedoucího bakalářské práce. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne .....

## **Poděkování**

Tímto bych chtěla poděkovat především svému vedoucímu bakalářské práce doc. PhDr. Františku Dohnalovi, CSc. za obětování jeho drahocenného času, poskytnutí potřebné literatury a odborné vedení po celou dobu tvorby této práce.

# ABSTRAKT

Veronika Pavlíčková

Historický vývoj laboratorních metod, historie a současnost biochemických laboratorních vyšetřovacích metod

Bakalářská práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Zdravotní laborant

**Cíl:** Cílem bakalářské práce je zachytit okolnosti vzniku, etablování a postupného vývoje laboratorních metod především biochemických, v kontextu dějin lékařství a historického vývoje přírodovědného poznání. Obsahově se práce zaměřuje na objasnění podmínek vzniku laboratorních metod jako zásadního kvalitativního obratu a posunu v medicínské diagnostice. Cílem práce je rovněž objasnění podílu významných osobností na vzniku a prosazení laboratorních metod, to vše v aplikaci na českou (československou) medicínskou minulost. V návaznosti na tento metodický postup je dalším cílem práce zachycení současného stavu biochemického oboru, používané metody, v neposlední řadě potom místo a úloha v medicíně současnosti.

**Hlavní poznatky:** Snaha zkoumat biologický lidský materiál, jako důležitý prvek diagnostiky, provází vývoj medicíny od nejstarších dob. Dlouhou dobu však možnosti zkoumání těchto látek byly redukovány na smyslové pozorování a srovnávání. Zřejmě nejstarší a nejrozšířenější metodou je uroskopie.

Nové prostory pro tuto činnost se vytvořily v souvislosti s nástupem iatrochemie a iatrofyziky. Od poloviny 19. století se pak začaly objevovat biochemické laboratorní metody. Jejich prosazování do medicínské praxe však bylo pozvolné, chyběly především odborníci a omezený byl i počet odborných laboratorních pracovišť.

K posunu dochází ve světovém měřítku až po 1. světové válce, v českých (československých) podmínkách obrat a rozvoj biochemických laboratorních metod je možné položit do přelomu 40. a 50. let. Laboratorní vyšetřovací metody se postupně prohlubovaly a zdokonalovaly, zvětšovala se jejich škála a hlavně se šířily do celé sítě zdravotnických zařízení. S tím souvisí i zavedení systému do profesní přípravy odborníků.

V současné době biochemické laboratorní metody tvoří neodmyslitelnou a naprosto nepostradatelnou součást medicínské diagnostiky.

## **ABSTRACT:**

Veronika Pavlíčková

Historical progress of laboratory research methods, historical progress and the present of biochemical laboratory research methods

Bachelor thesis

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Medical Laboratory Technician

**Background:** Object of the work is to catch the circumstances of the origin, establishing and gradual progress of laboratory research methods especially the biochemical ones, in context of medical history and historical progress of nature science cognition. In content, the work concentrates on clarifying of the circumstances of the origin of laboratory research methods as an essential qualitative turn and progress in medical diagnostics. Object of the work is also to clarify the participation of important personalities on the origin and enforcement laboratory research methods, all of this applying on the Czech (Czechoslovak) medical past. In continuity on this methodical process another object of the work is to catch the former status of the biochemical branch more specific, applied methods and at least but not last to specify its part and target in the medicine today.

**Main findings:** An effort to explore a biological human material as an important part of diagnostics accompanies the progress of medicine from the oldest times. The possibilities of exploring these materials had been reduced on sensual observation and comparing for a long time. Apparently a uroscopy is the oldest and most enlarged method.

There have been made new space for this activity in connection to the rise of iatrochemistry and iatrophysics. From the half of the 19<sup>th</sup> century the biochemical laboratory research methods have started to appear. Its assertion to medical technique was gentle, the specialists missed mainly and number of specific laboratory areas was also reduced. A world wide movement comes after the WWI., in the Czech (Czechoslovak) countries the turn and progress of biochemical laboratory methods can be situated to the edge of 40's and 50's. Laboratory research methods evolved and improved gradually, its scale enlarged and mainly it spread into the whole web of medical organisations. And with this the implementation of a system into the training of specialists is connected.

Now these biochemical laboratory methods takes an essential and inseparable part of medical diagnostics.

# OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	HISTORICKÝ VÝVOJ MEDICÍNY A ZROD PRVNÍCH VYŠETŘOVACÍCH METOD LIDSKÉHO BIOMATERIÁLU.....	9
2.1	Starověké postřehy, objevy a metody .....	10
2.2	<i>Antická doba a Arabská medicína.....</i>	13
2.3	<i>Středověká medicína a její omezené možnosti, alchymie.....</i>	14
3	PŘEKONÁNÍ SCHOLASTIKY, OTEVŘENÍ NOVÝCH CEST V PŘÍRODNÍCH VĚDÁCH A MEDICÍNĚ .....	15
3.1	<i>Nástup iatrochemie a iatrofyziky, pneumatická chemie.....</i>	15
3.2	<i>Vývoj medicíny, její stav a diagnostické možnosti do poloviny 18. století.....</i>	17
3.3	<i>Nejdůležitější medicínské objevy 18. a 19. století .....</i>	21
4	OBRAZ LABORATORNÍ PRAXE V ČESKÉ MEDICÍNSKÉ MINULOSTI.....	27
4.1	Dopady objevů v přírodních vědách a medicínském poznání 19. století do českého prostředí, aktivní podíl českých vědců.....	27
4.2	Etablování laboratorních metod a jejich používání v českém zdravotnictví do konce 2. světové války.....	30
4.3	Rozvoj biochemických laboratorních metod v československém zdravotnictví 31	
5	SOUČASNÁ KLINICKÁ BIOCHEMIE, JEJÍ SPEKTRUM, MOŽNOSTI, PERSPEKTIVY .....	33
5.1	Charakter standardní biochemické laboratoře.....	35
5.2	Hlavní biochemické metody .....	37
5.2.1	Faktory ovlivňující spolehlivost vyšetření.....	38
5.2.2	Základní operace, úprava biologického materiálu .....	38
5.2.3	Separáčn <span>í</span> techniky, chromatografie .....	40
5.2.4	Hmotnostn <span>í</span> spektrometrie.....	44
5.2.5	Elektromigrační metody, elektroforéza .....	44
5.2.6	Optické metody, spektrofotometrie, turbidimetrie a nefelometrie .....	45
5.2.7	Metody založené na jiných elektromagnetických zařen <span>í</span> ch, rentgenová krystalografie, NMR spektroskopie.....	47
5.2.8	Imunochemické metody, imuniprecipitace.....	48
6	ZÁVĚR.....	50
7	POUŽITÉ PRAMENY A LITERATURA .....	51
8	PŘÍLOHY PRÁCE .....	56

# 1 ÚVOD

Znát většinu laboratorních metod rozmanitých odvětví lékařského světa je pro můj obor „Zdravotnická bioanalytika“ profesní nutností a nezbytností. Při studiu jsem měla možnost seznámit se, mimo jiné, s laboratorními technikami v prostředí imunologickém, mikrobiologickém, biochemickém, hematologickém, toxikologickém, histologickém apod.

Stejně jako studium obecných dějin, vývoje a projevů společenského života, tak i poznání vývoje přírodních jevů, dějin věd, techniky apod. je nejen přínosné pro poznání širších okolností vzniku a vývoje budoucí vlastní profesní oblasti, ale je, domnívám se, jedním z dosažitelných nástrojů rozšiřování všeobecného přehledu každého jedince. Poznatky vývoje od nejstarších dob po současnost přitom nejsou jednou provždy dané, obohacují se a konkretizují o další fakta a odhalené souvislosti.

Toto téma jsem si zvolila s cílem nastínit vývoj medicíny s důrazem na možnosti diagnostiky, místo a úlohu laboratorních metod v tomto procesu. Nejde tedy o podrobné zachycení vývoje medicíny, ale o zachycení podstatných okolností podmínek vzniku a vývoje laboratorních metod, bez kterých si současnou medicínu, ale i další oblasti vědy i praktické výrobní činnosti nedovedeme vůbec představit.

Vzhledem k mému studijnímu oboru jsem se zaměřila především na historii laboratoří, vznik a zavedení laboratorních metod zkoumání biologického materiálu a současně se snažím postihnout spojitosti s příbuznými vědeckými disciplínami jako je zejména chemie. Snahou rovněž je, zachytit významné osobnosti oboru. Oboru zdůrazňuji proto, neboť celá práce vědomě upřednostňuje obor biochemický, dle mého názoru ten nejrozmanitější a snad i nejbohatší co se historie týče.

Biochemie je vědou, která se zabývá chemickým složením, pochody a změnami v živých organismech. Je tedy zajímavou vědní disciplínou balancující na hranici chemie a biologie. Své důležité místo má jak v oblasti lékařství a farmacie, tak také v zemědělství, v ochraně životního prostředí, nebo průmyslu a potravinářství.

Vzhledem k vymezenému cíli práce jsem zvolila následující metodický postup. Na základě prostudování dostupných pramenů k dějinám medicíny, zdravotnictví a vztažných přírodních věd (s důrazem na tituly zachycující vývoj v českých a československých podmínkách) se zaměřuji na vymezení hlavních mezníků vzniku, zavádění a vývoje laboratorních metod. Snahou přitom je zachytit osobnosti, které se ať

už přímo nebo zprostředkovaně - na základě koncipování směrů vědecké činnosti - zasloužily o rozvoj sledovaného oboru. Vyústění práce je v poslední kapitole, která zachycuje současné spektrum, možnosti a význam biochemických laboratorních metod.



## 2 HISTORICKÝ VÝVOJ MEDICÍNY A ZROD PRVNÍCH VYŠETŘOVACÍCH METOD LIDSKÉHO BIOMATERIÁLU

Pokud bychom chtěli nahlédnout na úplný prapočátek přírodovědeckého poznání, vydali bychom se nejspíše někam do starověkých států. Přírodní vědy zde byly zpravidla součástí jiné vědy, filosofie. Přes výklady podstaty světa a přírody skrze pralátku, později přírodní živly jako třeba vody a ohně, nebo hledání vztahů, zákonů a tajemství světa v číslech (Pythagoras ze Samu) až po teorie neměnného jsoucna a neproměnlivého bytí, které mělo představovat jakousi obrovskou kouli něčeho. Pomyslný kruh by se mohl uzavřít, neboť současná věda opět nastolila otázku po „pralátce“ či prapříčině vzniku vesmíru a snaží se na ni najít odpověď. [17]

Léčení (lékařství) starověkých civilizací bylo založeno především na původní empirické zkušenosti pravěkého léčitelství. Vedle toho vznikalo a rozvíjelo se kněžské lékařství, vycházející z původního šamanství (animismus). V chrámových kněžských stavech často docházelo ke spojení obou výchozích prvků. Kněží, většinou výhradní nositelé znalostí získaných pozorováním předávali svým nástupcům poznatky o prostředích a možnostech léčení nemocí jako přísná tajemství. Nešlo jen o sugestivní či magické působení na nemocného, ale byly používány racionální diagnostické, léčebné i preventivní postupy.

Také v medicíně starověkého Egypta docházelo ke vzájemnému ovlivňování a prolínání dvou základních směrů: empiricko- racionálního a magicko- náboženského. Důležité byly písemné záznamy o nemocech, jejich symptomech a dobových představách o způsobu léčby. Tak se dozvídáme i o tehdejších možnostech diagnostiky. Tak např. současné snad nejrozšířenější „civilizační“ onemocnění-diabetes. Známo bylo už v Egyptě. Na papyrusových svitcích lékaře Hesy-Raa z období 3. dynastie z roku 1552 př.n.l. se objevila první zmínka o diabetu( objev učinil v roce 1862 německý archeolog Ebers). Nalezený dokument popisuje diabetes jako vzácnou nemoc, jejíž příčina je neznámá a projevuje se velkou žízní. Diabetes se v Egyptě léčil směsí ze sladkého piva, pšeničných zrn, zeleného cypřiše a naklíčených kukuřičných zrn. Tato směs se měla pojídat 4 dny a aby se zvýšil její účinek, nemocný měl chodit bosýma nohama v rose a odřikávat zaklínadlo. Lékaři také doporučovali dietu skládající se z drobných plodů, ovoce, zrnin a medu, což mělo mít za následek utlumení zvýšeného močení [18]. Celkem je tam uvedeno 8 návodů "na odstranění moče, když je jí mnoho",

takže nemocný nikdy nepřestává pít, přitom stále močí, vymočí víc, než vypije, tělo proto hubne, rozpouští se a močí odchází ven, až člověk umírá a šíří kolem sebe nepříjemný zápach.



Obr.1: Ebersův papirus

Zmínku o diabetu najdeme i v 2. tis. př.n.l.v Číně ve Vnitřní knize Žlutého císaře. Diabetes je popsán jako nemoc projevující se neuhasitelnou žízní, velkým množstvím moče medové barvy, nemocný je vyhublý na kost a pokryt vředy. Číňané zjišťovali projevy diabetu sledováním mravenců, zda jsou přitahováni k moči či nikoli a upozorňovali na to, že jednou z příčin může být obezita.

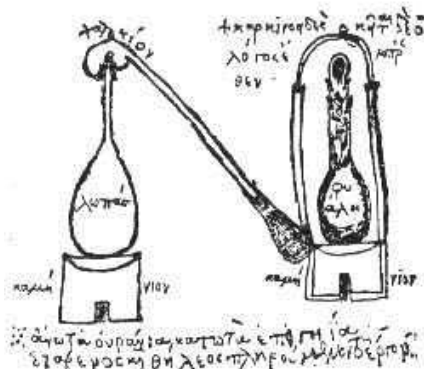
V Indii se tomuto tématu věnovali lékaři Sushruta, Charaka a Vaghbata v 6. století př. n. l., kteří nazvali tuto nemoc „Madhumeha“ (madhu znamená med). Popsali chorobný stav, při němž je moč sladká, a rozlišili i dvě jeho formy, jedna, při které nemocný výrazně hubne a velmi rychle zemře, a druhá, pro niž je charakteristická otlylost. Také zmínili význam dědičnosti této choroby.

Hippokrates „otec medicíny“ (460 př. n. l.) nezmiňoval speciálně „diabetes“ ve svých pracech, ale lze v nich nalézt popis nemoci související s častým močením a strádáním organismu.

## 2.1 Starověké postřehy, objevy a metody

Když nebudeme počítat prostý ohřev vody na ohni a úpravu potravin, zpracování kůže nebo keramiky, tak první chemické pokusy a experimenty začali provádět Egypťané a Řekové. Používaly se jednoduché užitkové chemické reakce, jako bylo bělení mědi sloučeninami arzenu, žlucení stříbra a zpracování dalších kovů. Studována

byla také chemická destilace, výroba skla či kvasu a piva. Pozorovaným jevům bylo přisouzeno vědecké vysvětlení a byl zaveden pojem „chemie“ (4.století, Zoismos z Panapolis). Používány byly již první baňky a nádoby z foukaného skla, ze kterých se sestavovaly primitivní aparatury. [9]



Obr. 2: Nákres destilační aparatury podle Zoisma z Panapolis

Prvním vyšetřovaným biologickým materiálem v daleké historii byla nejspíše snadno dostupná a makroskopicky lehce diagnostikovatelná tekutina, moč. Metoda se nazývala uroskopie nebo také uromancie, moč byla vyšetřována podle zbarvení, množství, sedimentu, zápachu a dokonce dle chuti. Existovaly speciální nádoby „matuly“, které tvarem připomínaly lidské tělo, moč se do nich nalila a podle místa kde se vytvořila sraženina nebo zákal diagnostikoval léčitel chorobu, nebo postižení konkrétního orgánu. Tuto metodu praktikovali také lékaři a filosofové jako Hippokrates, Galenos a Avicenna. Uroskopie dosáhla největšího rozkvětu ve středověku a byla často zobrazována i v umění.

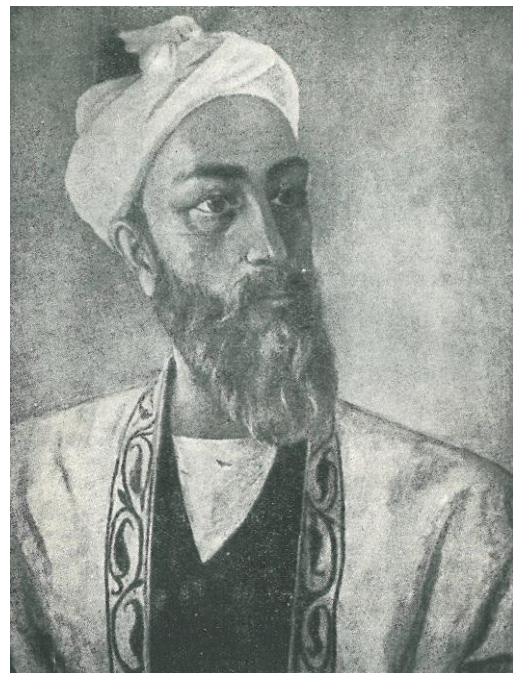
Vyšetření moči je i dnes jedním ze základních diagnostických postupů, využívají se však vědecké metody jako např. vyšetření mikroskopické, chemické, bakteriologické. Ani ty ale samy o sobě nestačí a ke stanovení diagnózy je potřeba dalších dílčích vyšetření, třeba krve.



Obr.3 :Uroscopické vyšetření moči středověkým léčitelem



Obr. 4: Galén



Obr. 5: Avicenna

## 2.2 Antická doba a Arabská medicína

Intenzivní výzkum a sestavování vědeckých teorií a poznatků počal 4. stoletím př.n.l. Jednotlivé vědní obory nebyly ve starověkém Řecku zřetelně vymezeny a tak nalézáme stejná jména téměř ve všech vědních disciplínách, neboť takový „univerzální“ řecký filozof se vyjadřoval jak k fyzice, matematice a geometrii, tak i k astronomii, rétorice, hudbě a lékařství. Proces osamostatňování oborů je zřejmý nejprve u matematiky a formování specialistů v pravém slova smyslu se datuje teprve v novověku. [17]

Mnoho řeckých filozofů bylo také lékaři, neboť již v období od 6. a 5. století př.n.l. zahájily svou lékařskou činnost významné školy. Nejslavnějším lékařem té doby byl jednoznačně Hippokrates. Velký význam zde mělo tzv. učení o šťávách (humorální teorie), podle kterého lidské tělo obsahuje 4 šťávy (krev, hlen, žlutou žluč, černou žluč) a nerovnováha mezi těmito je důvodem jakéhokoli onemocnění. [10]

Lékařství starověkého Řecka bylo nejenom syntézou různých starověkých medicínských škol a systémů (především vliv Egypta), ale rozvinulo a obohatilo tyto systémy do podoby, která se na dlouhá staletí stala evropskou medicínskou tradicí. Řecko dalo světovému lékařství terminologii a v tomto prostředí se zrodily základy medicínského myšlení. [24] Své základy zde má i lékařská etika. Významné bylo, že se lékařství antického Řecka emancipovalo od filozofie jako samostatný vědní obor (na rozdíl od škol, které se opíraly o filozofické spekulace). Hippokrates a jeho žáci přijali tezi, že nemoc je stav přirozený, mající své přirozené příčiny. Humorální patologie nebyla však jediným směrem uvažování o zdraví a nemoci.[24] Ve 3. stol. př.n.l. sepsal na základě poznatků z pitev Erasistratos dva anatomické spisy jako počátek patologicko-anatomického uvažování o zdraví a nemoci. Dlouho však čekal na své potvrzení. Zapravdu mu dal až proces započatý v renesanci-založený na znalostech anatomicko-fyziologických procesů. Tato skutečnost však zároveň naznačuje v jakých podmínkách (stupni poznání) se mohl biologický lidský materiál stát předmětem hlubšího zkoumání.

Řecká lékařská vzdělanost byla zprostředkována novému centru starověké vědy a kultury- antickému Římu, kde postupně dominovala galénovská medicína. Po pádu západořímské říše se centrum medicínské vzdělanosti přesunulo do Byzance a Arabské říše. Byzanští autoři zpracovali rozsáhlá díla encyklopedického charakteru, ve kterých

shrnovali všechny dosavadní poznatky. V Byzanci došlo také k výraznému pokroku ve vývoji zdravotnických zařízení-nemocnic a lékáren.

V Arabské říši bylo veřejné zdravotnictví na velmi dobré úrovni, protože se opíralo o přísné hygienické příkazy Koránu (např. lázně). Důležité pro arabskou medicínu byly poznatky antických lékařů. Arabští učenci překládali spisy Hippokrata, Aristotela, Galéna aj. Tyto poznatky pak z arabštiny byly překládány do latiny, čímž se navracely do Evropy (Konstantinus Africanus). Arabové se také seznámili s poznatky civilizací na podmaněných územích a používali je, například převzali styl byzantských nemocnic. Tyto nemocnice se výrazně odlišovaly od nemocnic v Evropě hlavně přítomností lékařů, kteří v těch evropských chyběli.

### **2.3 Středověká medicína a její omezené možnosti, alchymie**

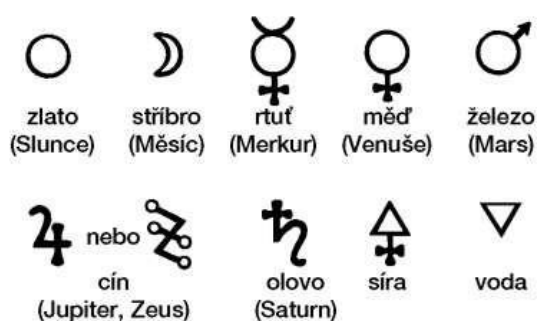
Nejvýznamnější lékaři této doby byli Rhazes (10. stol) a Avicenna (11. stol.), kteří byli uznáváni i katolickou církví. [24] Poznatky arabské a židovské medicíny zprostředkovávaly dvě významné lékařské školy- v Salernu a Montpellier, které se obsahem a formou výuky lišily od lékařských fakult většiny oficiálních univerzit, které v té době vznikaly z iniciativy měst (Itálie), církve (Francie) nebo panovníka (Praha). Výrazným rysem studia na těchto školách byly scholastické praktiky, strnulé memorování a téměř bezvýhradné uctívání antických autorit, to vše proložené církevními dogmaty a omezeními. [30]

Až koncem 15. století začala evropská společnost procházet základními změnami. Renesanční duch vstoupil i do medicíny, pozvolna končí její středověká stagnace. Pozvolna se otevřela cesta k novým poznatkům a objevům.

Pozoruhodný jev tehdejšího vývojového stupně poznání představuje alchymie. Někteří o ní tvrdí, že byla vědou a nebyla odlišná od chemie, druzí, že alchymie byla blud a pavěda. Jak to tak bývá, pravda je někde uprostřed. [12]

Alchymie svým počátkem zasahuje starověk, prochází celým středověkem a doznívá ještě v prvním století raného novověku. Kromě chemie zahrnovala také fyziku, medicínu, magii, mineralogii, metalurgii, přírodovědu, spiritismus atd. Kromě jejich bláhových cílů a snahy zhotovit například kámen mudrců, který by proměňoval obyčejné kovy ve zlato, nebo vytvořit elixír života, byla také velkým vědeckým přínosem. Alchymisté vypracovali dodnes běžně užívané metody izolace látek, jako

třeba sublimace, destilace a krystalizace, zavedli různé způsoby rozpouštění a žihání. [9] Vymysleli a vytvořili také velké množství chemického nádobí, které je velmi podobné, nebo dokonce úplně stejné jako to dnešní (třecí misky, baňky, kádinky, nálevky a další). Již kolem roku 1200 n.l. znali řadu chemických prvků a uměli připravit mnoho sloučenin, znali přípravu sody, louhů, alkoholu. V 16. a 17. století začala být alchymie postupně nahrazována vědeckým přístupem ke studiu látek a jejich vzájemných přeměn. [3]



Obrázek 5: Alchymistické symboly některých chemických prvků

### 3 PŘEKONÁNÍ SCHOLASTIKY, OTEVŘENÍ NOVÝCH CEST V PŘÍRODNÍCH VĚDÁCH A MEDICÍNĚ

#### 3.1 Nástup iatrochemie a iatrofyziky, pneumatická chemie

Iatrochemie se začala formovat v 16. až 17. století. Její snahou bylo spojit chemii s lékařstvím. Hlavním iniciátorem a zakladatelem byl Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim zvaný Paracelsus (1493-1541).

Paracelsus měl názor, že životní pochody v organismu mají chemickou povahu a že zdraví závisí na normálním stavu orgánů a sekretů, což vlastně koresponduje i se současnou lékařskou a biochemickou vědou.

Připisoval velký význam chemickým látkám při odstraňování vzniklé poruchy – nerovnováhy. Jeho pestrý život se stal předmětem mnoha literárních zpracování včetně beletristického. Při svém pobytu v arsenových dolech se stal svědkem příhody, která mu

dala impulz k myšlence „jed se od léku odlišuje pouze podávaným množstvím“. Přírodu považoval za jednu velkou pestrou lékárnu. [6] Díky arsenu a rtuti dokázal úspěšně léčit do té doby neléčitelnou syfilidu. Paracelsus zemřel zřejmě jako oběť svého povolání na kontaminaci jater z prvků kovů, které sám vyráběl v čisté formě a dával je svým pacientům. Za zmínku jistě stojí skutečnost, že působil krátkou dobu jako lékař na zámku v Moravském Krumlově, kde je na jeho počest zřízena muzeální výstava předmětů, které tam při své práci používal.



Obr. 6: Paracelsus

Ještě více než Paracelsus přispěl k rozvoji iatrochemie Johannes Babtista van Helmont (1577-1644), podle něhož trávení reguluje kyselina obsažená v žaludečních šťávách. Jejich přebytek i nedostatek způsobuje onemocnění žaludku, které léčil v prvním případě podáváním zásad (jedlá soda), ve druhém případě kyselinami. Zabýval se studiem plynů, za prvotní prvky považoval vzduch a vodu.

Iatrochemie souvisí i se vznikem farmaceutické chemie a použitím prvních chemických léčivých přípravků (železná tinktura, léčivé preparáty s obsahem opia, projímadla atp.). [17] Iatrofyzika zase vysvětlovala pochody v lidském organismu jako fyzikální a mechanické procesy.

V 17. století se chemie začala ubírat více technickým směrem. Toto období je také označováno jako období pneumatické chemie nebo pneumochemie (z řeckého pneuma-vánek, vzduch) a je bráno jako důležitý mezník rozvoje chemického oboru. Pneumochemie se zabývala vlastnostmi plynů, podnětem pro jejich zkoumání byl objev vakua, vývěvy, měření objemu a hmotnosti vzduchu. Jsou to dvě tisíciletí od doby Aristotela, než se začaly experimentálně zkoumat plyny. Důležitými postavami tohoto období je například Galileo Galilei, který objevil, že vzduch má hmotnost, jeho žák



Evangelista Torricelli zjistil existenci vakua a vynalezl rtuťový barometr. Otto von Guericke zase vynalezl vývěvu a Robert Boyle vyslovil teorii, že ve vakuu se nešíří zvuk, neprobíhá v něm hoření a že ve vakuu není možný ani život. Tento poznatek byl jedním z východisek k velké chemické a fyziologické revoluci v 18. století. [5]

V tomto období započala rozvoj také chemie technická a vynález knihtisku umožnil rychlé šíření odborné literatury a exaktních poznatků. [17]

### **3.2 Vývoj medicíny, její stav a diagnostické možnosti do poloviny 18. století**

Lékařská věda, nesporně vlivem renesančních medicínských objevů, dospívala v 18. století na mnohých úsecích již k modernímu pojetí nemocí jako samostatné nosologické jednotky, projevující se vlastnostmi klinickými i patologicko-anatomickými příznaky. O tento názor bojovali však zatím jen jednotliví průkopníci vědy, zatímco myšlení lékařů v praxi bylo zatíženo ještě „humorální teorií“ minulosti. Klinicko- patologicko- anatomické pojetí nemoci probíjávala od třicátých let 19. století zejména tzv. druhá Vídeňská škola v čele s K. Rokitanským a J. Škodou. [30]

Až do vítězství patologicko- anatomického názoru na patogenezi nemocí a jeho zdomácnění u nás v druhé polovině 19. století, bylo pojetí choroby ztíženo ještě „humorální teorií“, podle níž nemoc byla způsobena zkaženými šťávami lidského těla, byla věcí celého organismu a bylo proto lhostejno kde a jak se projevovala. Značně rozšířený byl u nás i tzv. animismus proslulého tehdy profesora univerzity v Halle G. E. Stahle (1660- 1734) s jeho názorem na duši, která řídí veškeré dění v organismu a to velmi konkrétně. „Nemoci jsou způsobeny především městnáním krve „plethorou“. Duše proto, v léčebném úsilí, působí ulehčující krvácení, např. haemoroidální, menstruační, ale i z plic a žaludku.“ [24]

Ještě hlouběji zasáhl do myšlení lékařů v praxi skotský lékař John Brown (1735- 1788). Jeho názory byly bojovně diskutovány i ve vědeckých kruzích a rozdělily soudobou medicínu na dva tábory. [24,27] Brownianismus se zahrnil zejména mezi lékaři praxe, kteří i u nás se dělili ještě koncem první poloviny 19. století na jeho vřelé obhájce a zuřivé odpůrce. Podle názorů Browna život neexistuje sám sebou, je to stav vzniklý a udržovaný zevním drážděním (teplem, vzduchem, výživou) nebo drážděním vnitřním (pohyby svalů, hnutí myslí apod.). „Nervový systém“ (substance nervová a

svalová podle Browna) je sídlo tohoto dráždění. Střední stav podráždění je zdraví, silný (sthenie) a slabý (asthenie) je nemoc.

Mesmerismus byl dalším módním i u nás rozšířeným směrem medicíny. E. A. Mesmer (1734- 1815) učil, že podobně jako existuje magnetismus v neorganické přírodě, tak je i v lidském a zvířecím těle, v jeho nervových vláknech. Řídí se týmiž zákony jako magnetismus zemský, má svou polaritu, přenáší se světlem i zvukem atd. Magnetismus živých těl je tou „životní silou“, kterou vitalisté hledají. Lékař jej může přenášet svými rukama na pacienta a léčit jím.

Nejinak tomu bylo, pokud šlo o etiologii nemocí. Hranice mezi nemocemi infekčními a ostatními byly nejasné a nepřesné. Etiologickým agens nemocí infekčních bylo stále středověké miasma. Lékaři si je představovali jako neznámou škodlivinu, nezdravou substanci, která vzniká nejčastěji v močálovité půdě, kde hnije mnoho organických hmot. [27] Představovali si, že tato substance vniká do člověka spolu se vzduchem. Za druhou příčinu infekčních nemocí bylo považováno contagium. Toto představovalo hmotnou příčinu, která se dostávala k ohroženým osobám dotykem nemocných nebo prostřednictvím předmětů, na nichž ulpěla. Důležitým činitelem pro vysvětlování průběhu epidemií byl nepostižitelný a neovladatelný genius epidemicus, který nahrazoval znalosti zákonů epidemiologických pochodů ještě v počátku století dvacátého. Leeuwenhoekův objev mikroorganismů pod mikroskopem v 17. století se až do objevů Pasteurových neuváděl v souvislosti se vznikem chorob. [24]

Poznání příčin nemocí i reakcí organismu na ně bylo ovlivněno úrovní (někdy velmi chabou) přírodovědeckých základů. Patřilo však k myšlení doby, že tyto pochybné diagnózy musely být utříděny v pevné a složité systémy. Ve všech oblastech vědy i praktického života byla snaha po přesném uspořádání, kategoriích, systémech. Tuto obecnou tendenci např. podpořil v medicíně Karl Linné (1707- 1778), švédský lékař, svým systémem třídění rostlin.

Na základě vžitého názoru, že nemoci jsou příbuzné rostlinám, aplikovalo se Linného třídění na „říši nemocí“. Byly v ní stanoveny řády, čeledi, rody, druhy atd. Tyto kategorie byly tříděny opět podrobně podle různých znaků. Co autor to jiné hledisko. Hledaly se podobné znaky u nemocí a z nich se usuzovalo na příbuznost chorob. Příbuzným znakem byla např. horečka. Horečnatá onemocnění se dávala do jedné kategorie, ať byl jejich původ jakýkoliv. [27] „Jed“ působící „nervovou horečku“ se může projevit jednou na nervech, jednou jako mor, jindy jako variola, po třetí jako zánět působící oslepnutí či průjem. Chaos byl zvyšován ještě tím, že každý autor

používal systémů vlastních. „Příčiny nemocí mohou přecházet jedna v druhou, proto i nemoci samy.“ [24] Tento pseudovědecký chaos zatemnil i pojmy, které se dlouhou empirií osamostatnily: spála, záškrt, lues, neštovice apod.

Při tomto názorovém zmatku se nemohl pojem diagnózy v našem slova smyslu vůbec vyvinout. Ještě v polovině 19. století lékař zvaný k pacientovi se nesnažil nemoc přesně určit ani klinicky, ani ji přesně terminologicky označit. Nebylo dosud v lékařské praxi zvykem vyšetřovat pacienta svlečeného. Měření tělesné teploty bylo známo sice již po několik století a v 19. století se počalo šířit i v běžné praxi, k jeho hodnocení však nebyly dosud podklady. Podobně tomu bylo i s palpací a počítáním pulsu. Rovněž „uroskopie“ byla po staletí známa a prováděna, avšak až do začátků chemického vyšetřování se příliš nelišilo hodnocení moči pouhým zrakem od věšteckých předpovědí. Teprve poklep a poslech byl prvou vážnou vyšetřovací metodou, která umožnila klinicky zjišťovat a lokalizovat patologicko- anatomický podklad nemoci. Její zakladatel prof. J. Škoda ji uvedl svým spisem do vědy v roce 1839, ale i zde pronikala jen pozvolna. [30] Prvním nástrojem nové vyšetřovací metody byl stetoskop. Ve skutečnosti byl lékař v praxi ještě v polovině 19. století často diagnosticky nejistý a velmi často rozhodovala zkušenost.

Východním bodem pro sledování pokroku novověké medicíny, jejich metod a praxe se může stát hodnocení stavu základních teoretických oborů medicíny. [24] Roku 1761 vydal Giovanni Battista Morgagni dílo „De sedibus et causis morborum per anatomen indagatis“ (O sídlech a příčinách nemocí anatomicky zjištěných), kterým vytvořil základ patologické anatomii jako samostatnému teoretickému oboru medicíny. Základní myšlenkou, kterou se Morgagni snažil prokázat, bylo tvrzení, že nemoc má svůj hmotný podklad, poruchu na určitém orgánu, která je příčinou klinických projevů nemoci. Morgagniho dílo bylo plně doceněno teprve slavnými patologickými anatomy 20. století.

Tvůrcem fyziologie jako samostatného teoretického oboru a zároveň osobností, která plně vyjadřovala rozporuplné tendence ve vývoji medicíny 18. století, byl profesor na univerzitě v Gottingenu Albrecht Haller. [18] Snažil se nalézt a experimentálně ověřit konkrétní funkci jednotlivých orgánů a zejména nervosvalového aparátu. Přitom zdůrazňoval dva základní fenomény- dráždivost (iritabilitu) a citlivost (senzibilitu). Pokládal tyto funkce za čistě životní (vitální), nevysvětlitelné fyzikálně chemicky, čímž se v jeho době vyčerpávalo pojetí tzv. přirozeného vysvětlování jevů. Vitální funkce Haller vysvětloval působením nadpřirozené, hypoteticky předpokládané životní síly (vis

vitalis) a podílel se tak na vytváření novověké podoby idealistického směru ve fyziologii- vitalismu.

Metodologická ohraničenost vitalistů, překlenující dosud nepoznané a nevysvětlitelné jevy spekulativním schématem, byla cizí dílu jednoho z největších českých přírodovědců a lékařů 18. a 19. století, profesora na lékařské fakultě v Praze a ve Vídni, Jiřího Procházky. Už svými pracemi v oblasti anatomie, patologické anatomie a histologie se Procházka řadil mezi přední vědce své doby. Těžiště jeho činnosti však spočívalo ve zkoumání fyziologie nervového systému. Byl průkopníkem fyziologického experimentu. V osmdesátých letech 18. století Procházka jako první formuloval učení o reflexu, zákonitém vztahu mezi vnějším podnětem a odpovědí organismu. [30]

Stát osvěcenského absolutismu chtěl řešit své četné problémy- ekonomickou zaostalost; fyzickou a sociální vyčerpanost obyvatelstva způsobenou špatnou výživovací situací, hmotnou bídu, epidemie, nedostatek zdravých pracovních sil pro zaostávající zemědělství a pro vznikající manufaktury, malý počet fyzicky schopných vojáků pro masové armády apod. – pomocí „rozumu osvěcovaného panovníka“ uplatňovaného prostřednictvím zákonodárství. Východisko hledaly osvěcenské monarchie v tuhé centralizaci státní moci, v částečném uvolnění feudálních a církevních pout, v reformách, které měly povzbudit vývoj zemědělství a manufaktur, ve změnách ve školství a zdravotnictví a v podpoře věd a umění. Feudální stát tak chtěl „racionálními“ zákonnými úpravami upevnit svou moc.

Ve zdravotnictví se osvěcenské feudální monarchie soustředily na budování centralizované státní správy, která měla dozírat na dodržování řady tvrdých karanténních protiepidemických předpisů a ostatních zákonů o veřejném zdravotnictví, vykonávat dozor nad výkonem zdravotnických povolání a mít přehled o vývoji zdravotnické situace státu. (Všeobecný medicínální řád-r.1753, Generální zdravotní normativ-r.1770). [24] Stát začal budovat i některá zdravotnická zařízení (nemocnice, porodnice, chorobince, nalezince aj.). Důležité přitom bylo, že nemocnice přestávaly mít charakter pouhého azylu, který měly dřívější špitály. Stávaly se zařízeními, jejichž hlavním posláním byla léčebná činnost.

Přes pokrok, který přineslo 18. století do lékařských teoretických oborů, převládaly v terapeutické oblasti stále ještě metody středověké „heroické“ terapie. Terapeutická nemohoucnost medicíny tak významnou měrou přispěla k zvýraznění potřeby veřejně zdravotnických preventivních opatření.

### 3.3 Nejdůležitější medicínské objevy 18. a 19. století

Cesta ke zvědečtění lékařství vedla přes rozvoj teoretických oborů medicíny. V anatomii znamenalo 19. století jisté završení vývoje, jehož základy vytvořilo renesanční lékařství. Anatomie se stala vědou, která podávala spolehlivý a do značné míry úplný pohled na složení lidského těla. Pitva lidského těla se v průběhu 19. století stala zcela samozřejmým prostředkem výuky anatomie na lékařských fakultách.

V 19. století prošly značným vývojem histologie a embryologie. Pro vývoj lékařství 19. století měla stěžejní význam patologická anatomie. Její základy vytvořil v 18. století Morgagni, ale teprve v 19. století se patologická anatomie rozvinula v plně samostatný obor, odloučený od anatomie. V krátké době se stala jedním ze základních teoretických lékařských oborů. Na rozvoji patologické anatomie se v 19. století největší měrou podíleli Karel Rokitanský a Rudolf Virchow. [30]

Královéhradecký rodák a profesor patologické anatomie na lékařské fakultě ve Vídni Karel Rokitanský byl jednou z profilujících osobností tzv. druhé (nové) Vídeňské lékařské školy. Moderní patologickou anatomii vytvořil na základě znalosti rozsáhlého pitevního materiálu.

Rokitanský především zavedl pevný systém do popisu chorobných změn na nejrůznějších orgánech. Na základě své spolupráce s kliniky (především s Josefem Škodou) položil do logického vztahu lékařovo klinické pozorování nemocného s pitevním nálezem na nemocných orgánech.

Jednou z nejvýraznějších osobností evropské medicíny 19. století byl Rudolf Virchow. Pro dějiny patologické anatomie je zakladatelem lokalistické celulární patologie. [18] Vystupoval proti všem spekulativním směrům, které ovládaly medicínu ještě v první polovině 19. století, a proti jakýmkoliv pokusům o návrat ke starým teoriím. Zdůrazňoval význam objektivního morfologického zkoumání buněk, tkání a orgánů s použitím mikroskopu.

Ve svém základním díle o celulární patologii (1858) Virchow vycházel z myšlenky, že pro všechno živé je základním morfologickým prvkem buňka. Z buňky vychází veškerá životní činnost, jak normální, tak patologická. V lidském a živočišném organizmu viděl souhrn jednotlivých buněk, které jsou v něm obsaženy. Z buněk se skládá každý orgán, který, přes vztahy k jiným orgánům, představuje jakýsi stát ve státě. Další základní myšlenkou Virchowova učení bylo tvrzení, že každá buňka pochází z buňky.

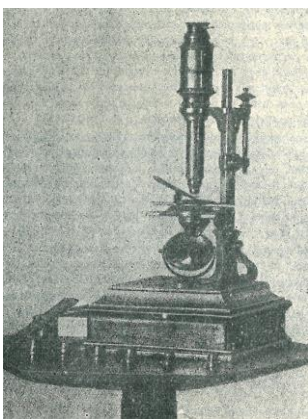
Nemoc Virchow vysvětloval jako pozměněnou činnost buněk, jako čistě lokální proces. Přinesl mnoho podstatného k popisu a klasifikaci základních patologických stavů a zavedl řadu nových, výstižných pojmů. Virchowovo učení bylo dalším významným krokem ve vývoji lékařských teoretických oborů a ve vědeckém výkladu obecné problematiky zdraví a nemoci člověka. [24]



Obr. 7: Rudolf Ludwig Virchow

Teoretickým základem pro pokrok lékařství 19. století se do značné míry stal vývoj fyziologie a vznik experimentální medicíny.

Jednou z předních osobností světové přírodovědy, fyziologie a medicíny 19. století byl Jan Evangelista Purkyně. (1787-1869). Purkyně chápal fyziologii jako vědu, která má vycházet z pozorování a pokusů. Tomuto základnímu zaměření odpovídaly všechny Purkyňovy vědecké práce zasahující do mnoha oblastí přírodních věd a medicíny. Při systematickém mikroskopickém zkoumání hlavních tkání a orgánů byl Purkyně především fyziologem, uvažujícím o smyslu a významu struktury tkání a o jejich funkci. V mnohém obohatil i histologickou techniku.



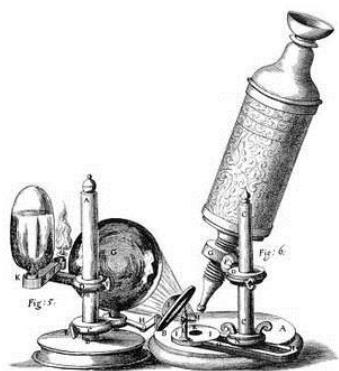
Obr. 8: Purkyňův mikroskop

K nejvýznamnějším výsledkům Purkyňovy badatelské práce patří objevy v mikroskopické skladbě zubů, objev zárodečného měchýřku ve vejci, studie o řasinkovém pohybu na sliznicích, popis důležitých funkcí kůže, výzkum smyslových orgánů a stahů srdce aj. Na přírodovědeckém sjezdu v Praze roku 1837 Purkyně vyslovil myšlenku, že rostlinné a živočišné tělo je stavěno ze stejných základních jednotek, a významně tím přispěl k formulaci buněčné teorie. A to dva roky před Schwannem, jehož zásluhy o konečnou formulaci buněčné teorie Purkyně uznával. [24]

Z dalších předních fyziologů, kteří v druhé polovině 19. století působili na rychlý vývoj evropského lékařství, je třeba připomenout fyziologa a fyzika Hermanna Helmholtze, který je právem považován i za zakladatele lékařské fyziky. Roku 1850 sestrojil oftalmoskop, roku 1865 přístroj na měření síly zvuku. [18]

Zásadní obrat do všech oblastí lékařské teorie a praxe druhé poloviny 19. století přinesl vznik a rychle postupující rozvoj vědecké mikrobiologie. Představa, že epidemické nemoci jsou přenášeny drobnými zvířátky, semínky, či částicemi chemické povahy, nebyla v 19. století ničím novým. Avšak první polovina 19. století se stala érou téměř bezvýhradné víry v základní principy a všemocnost chemie. Ve stínu velkých chemických objevů Berzelia, Daltona, Wöhlera, Liebiga aj., v době vzniku organické chemie a v počátcích její aplikace na řadu oborů vědecké a technické činnosti, se zdálo pátrání po živé příčině infekcí poněkud nemoderní. Přesto však byli přírodovědci, kteří nezávisle na tomto evropském intelektuálním povědomí studovali a popisovali bakterie.

Jako první uviděl bakterie ve svém mikroskopu Antony van Leeuwenhoek (1668; v r.1673 popsal erythrocyty). Systematičtější výzkum bakterií se uskutečňoval v 18. a 19. století. V polovině 19. století byla už řadou praktických pozorování poznána patogenní role některých mikroorganismů.



Obr. 9: Leeuwenhoekův mikroskop

Prvním, kdo tato jednotlivá praktická pozorování prohloubil, zobecnil a podal vědecké zdůvodnění patogenní role mikroorganismů, byl francouzský chemik Louis Pasteur. Jeho výzkum bakterií byl vyvolán aktuálními potřebami francouzského národního hospodářství v padesátých a šedesátých letech 19. století (problematika vinného kvašení, choroba bource morušového, nález původce slepičího moru aj.). [24] Pasteur první začal připravovat živné půdy pro pěstování mikrobů a přesně je diferencoval. Postupně se mu podařilo dokázat, že je možné bakteriální kulturu oslabit a využít ji při ochraně organismu před onemocněním. Pro lidskou patologii měl bezprostřední význam jeho objev očkování proti vzteklině, které začal provádět roku 1885 oslabenou vakcínou.

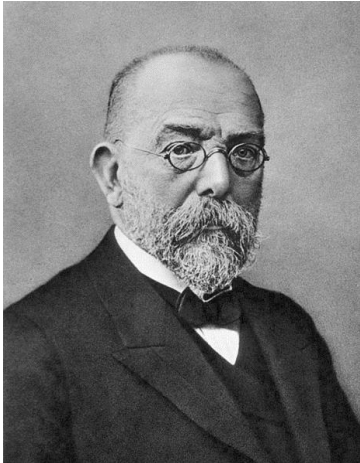
Pasteur položil základy vědecké diagnostiky infekčních nemocí, k aktivní imunizaci proti mnohým z nich a nakonec i k prevenci. Zasloužil se o vědecké zdůvodnění potřeby asepse a antisepte v chirurgii a významně přispěl k zvědečtění hygieny. Roku 1888 byl v Paříži otevřen Pasteurův ústav, který od samého počátku své činnosti patřil k předním světovým vědeckým centrům.



Obr. 10: Louis Pasteur

Základní objevy, systém a technické nápady přinášel od sedmdesátých let 19. století do moderní bakteriologie německý vědec Robert Koch. Byl objevitelem mikrobiálních původců sněti slezinné (r. 1876), tuberkulózy (r. 1882) a cholery (r. 1883). Kochovy velké zásluhy o lékařskou vědu a praxi neoslabují ani jeho poněkud jednoduché představy, v nichž stavěl rovnítko mezi původce nemoci (mikrobem) a vlastní podstatou a průběhem nemoci. Vznik nemoci chápal jako pouhý kontakt mikroorganismu s napadeným organismem a opomíjel roli vnějšího a vnitřního prostředí organismu při vzniku nemoci. [18]





Obr. 11: Robert Koch

Pasteurova vědecká invence a Kochova systematická práce byly podnětem pro obrovský rozvoj mikrobiologie v řadě zemí. Brzkým výsledkem bylo zjištění, že řada nemocí je způsobována mikroorganismy, které procházejí porcelánovým filtrem a nelze je pozorovat a prokázat obyčejným mikroskopem. Tyto organismy byly nazvány viry.

Rozvoj mikrobiologie dal základ pro vznik sérologie a imunologie, tedy oborům, které podstatně rozšířily diagnostické a terapeutické možnosti medicíny. V roce 1890 Němec Emil Behring a Japonec Shibasaburo Kitasato objevili, že tělo produkuje antitoxiny proti diftérii, a připravili sérum proti tomuto onemocnění. Poznatku, že mikroorganismy vyvolávají tvorbu protilátek v krvi, bylo už na přelomu 19. a 20. století využito pro diagnostické účely. K dalšímu pokroku mikrobiologie, sérologie a imunologie zásadním způsobem přispěl ruský vědec a jeden z předních pracovníků pařížského Pasteurova ústavu Ilja Iljič Mečnikov, především objevem fagocytózy a vědeckým zdůvodněním podstaty imunity organismu vůči určitým onemocněním.

Rozvoj přírodních věd, teoretických lékařských oborů a vznik lékařské mikrobiologie, sérologie a imunologie se příznivě projevil v růstu diagnostických a terapeutických možností medicíny 19. a počátku 20. století.

Rychlý pokrok zaznamenala také chirurgie. Stala se opět jednou z důležitých součástí medicíny. K jejímu rozšíření v terapii přispělo objevení a prosazení narkózy a prostředků pro místní znecitlivění v polovině 19. století. Zavedení narkózy podstatně zvýšilo počet chirurgických zákroků a vlastní průběh výkonu chirurga přestal mít charakter děsivého, bolestivého zásahu. Na druhé straně se však s růstem operovaných pacientů úměrně zvyšoval také počet lidí, kteří umírali na rannou infekci- nemocniční otravu krve (tzv. hospitalismus). Na základě prostého pozorování poznal maďarský

asistent vídeňské porodnické kliniky Ignác Fülöp Semmelweis totožnost ranné infekce s tzv. horečkou omladnic. [24,30]

Dále zjistil, že horečka omladnic je přenášena rukama lékařů a mediků. V druhé polovině čtyřicátých let 19. století začal požadovat, aby si lékaři a medicí před vyšetřováním rodiček myli ruce v chlorové vodě. Jako první začal prosazovat, přes mnohá protivenství, která mu způsobovali představitelé tehdejšího porodnictví, metodu asepse.

Dalším cílem se stala antiseptická operace – udržování terénu bez patogenních mikrobů – uskutečňovaná sterilizací chirurgických nástrojů, materiálu i rukou chirurga. [19]

V klinických oborech medicíny a také v jejich výuce na lékařských vysokých školách se v 19. století v plné míře prosadily zásady klinického pozorování nemocí a srovnávání výsledků těchto pozorování s patologickými změnami na nemocném orgánu. Charakteristickým se také zde stal především metodologický vliv tehdejších přírodních věd, který se projevoval ve snaze zjistit co nejvíce objektivních projevů nemoci, dosáhnout jejich přesné diagnostiky a podrobného popisu. Klinické obory byly obohaceny dalšími fyzikálními diagnostickými technikami. Především bylo zavedeno pravidelné měření teploty pacientů a vyšetřování pomocí zrcadel (oftalmoskop, laryngoskop). V druhé polovině 19. století bylo do klinických oborů zavedeno mnoho přístrojů vycházejících z moderní fyziky a techniky, které umožnily nejenom přesnější diagnostiku, ale i úspěšné terapeutické zásahy (cystoskop, gastrokop, bronchoskop).

Významný přínos k diagnostice nemocí a brzy na to i k terapii znamenal objev paprsků rentgenového záření Wilhelmem Conradem Roentgenem (r. 1895) a objev rádia Marií Curie-Sklodowskou (r. 1898).

Na počátku 20. století byly zkonstruovány přístroje, které umožňovaly řešení některých otázek funkcionální diagnostiky. Roku 1903 zkonstruoval holandský fyziolog Willem Einthoven elektrokardiograf. Roku 1904 švýcarský lékař a profesor vnitřního lékařství v Bernu Hermann Sahli navrhl přesný a jednoduchý přístroj na měření krevního tlaku. [24]

Rozvoj organické chemie a biochemie vedl k zavedení a běžnému užívání řady laboratorních diagnostických metod (vyšetření moče, žaludečních šťáv, krve aj.). Když byly na přelomu 19. a 20. století diagnostické metody doplněny o výtěžky mikrobiologie a imunologie, klinická medicína postupně začala opouštět půdu intuice a stávala se vědecky podloženým oborem.

Na přelomu 19. a 20. století došlo k výraznému pokroku v terapii nemoci. Vedle značně sníženého rizika chirurgického způsobu léčby byly na základě rozvoje především fyziologie, sérologie, chemie a jejího průmyslu, vytvářeny vědecké základy moderní farmakologie. Už na přelomu 19. a 20. století byla nalezena řada chemických léků proti horečce (antipyrin), bolestem (pyramidon, veronal) a Heinrich Dreser poznal terapeutický význam kyseliny acetylsalicylové (aspirin). [6] Na počátku 20. století byl položen základ účelné chemoterapie, jejímž průkopníkem byl německý vědec Paul Ehrlich.

## **4 OBRAZ LABORATORNÍ PRAXE V ČESKÉ MEDICÍNSKÉ MINULOSTI**

### **4.1 Dopady objevů v přírodních vědách a medicínském poznání 19. století do českého prostředí, aktivní podíl českých vědců**

Objev prvků a chemických sloučenin z nich vzniklých vytvořil základ chemických věd. I pak se ještě dlouho diskutovalo o tom, zda jsou přírodní organické sloučeniny získané z živých existencí totožné se sloučeninami uměle připravenými. Rozhodujícím důkazem byla potom syntéza močoviny, která byla zcela shodná s močovinou izolovanou z moči.

Tady můžeme najít počátek oboru biochemie. Oboru, který se zabývá zkoumáním chemického složení, přeměn a funkcí molekul skládajících živé bytosti. Řadí se jak mezi vědy biologické (zkoumá živou přírodu), tak mezi vědy chemické (zabývá se chemickými přeměnami). Zpočátku se můžeme dopátrat také termínu „fyziologická chemie“, protože její biologické „kořeny“ pochází z fyziologie a ty chemické zase z organické chemie. Oproti počátečnímu pomalému rozvoji teorií a hromadění informací zažívá biochemie v posledních desetiletích obrovský až explozivní pokrok. Hlavní pozornost je přirozeně věnována biochemii člověka, od níž očekáváme odpovědi na nejrůznější stránky lidského života, počínaje početím, přes jeho vývoj až do vysokého stáří. Od biochemie se též očekává vysvětlení příčin vzniku a průběhu chorob, protože choroby nejsou nic jiného, než poruchy na úrovni molekulových mechanismů, probíhající v našem těle, ať už je jejich vnější podoba jakákoli. Dokladem velkého

rozvoje biochemie v medicíně je nejen ta část diagnostiky, která je založena na biochemických vyšetřovacích metodách, ale například také veškerá léčba prováděná pomocí léků. [23,25]

Pokud bychom měli stručně popsat vývoj biochemie jako vědní disciplíny, tak nejstarším oddílem je tzv. statická biochemie, jež se orientovala především na studium struktury a vlastností nejsložitějších přírodních látek a to bílkovin, nukleových kyselin, sacharidů a lipidů. Na statickou biochemii navazuje biochemie dynamická, jejímž cílem je objasnit podstatu procesů látkové a energetické přeměny, tedy metabolismu, jako základního předpokladu pro vznik života a jeho existenci. Studium fyziologických funkcí ve vztahu k probíhajícímu metabolismu se zabývá tzv. funkční biochemie. Konečně tzv. organizační biochemie se zabývá organizací biochemických pochodů a struktur v buňce a v organismu. Tento obor se také nazývá „molekulární biologie“.

Dále se biochemie dle zkoumaného druhu hlouběji specializovala na biochemii živočišnou, rostlinnou, potravinářskou, rostlinnou atd.

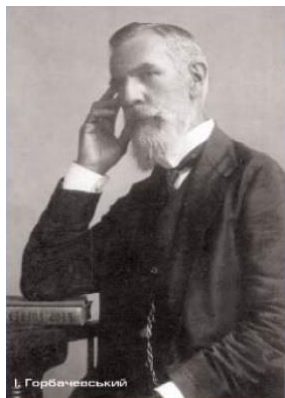
Počátky biochemie a organické chemie se vztahují k roku 1828, kdy německý chemik Friedrich Wöhler syntetizoval jednoduchou organickou látku-močovinu z anorganických látek kyanátu draselného a síranu amonného. Tím dokázal, že živá a neživá příroda jsou tvořeny stejnými prvky a lze tak z anorganických látek připravit stejné látky, které jsou v živé přírodě.

V českém medicínském prostředí byl, již vedle zmiňovaných zásluh K. Rokitského, J. Škody, J. E. Purkyně, důležitým mezníkem vznik lékařské fakulty C. k. České univerzity Karlo-Ferdinandovy v Praze, která se stala centrem české lékařské vědy. Hned od počátku byl její součástí první český ústav lékařské chemie, tehdy pod názvem „Ústav pro lučbu lékařskou“. [1]

Zakládajícím přednostou ústavu byl MUDr. Ivan (Jan) Horbaczewski (1854 – 1942), ukrajinský absolvent vídeňské univerzity a asistent profesora Ernsta Ludwiga na téže univerzitě. Ač teprve devětadvacetiletý, byl už v té době proslaven svou prací o přípravě kyseliny močové tavením směsi glycinu a močoviny. Syntéza kyseliny močové se totiž nezdařila ani Friedrichu Wöhlerovi (1800-1892), slavnému autorovi laboratorní syntézy močoviny (1828).

Profesor Horbaczewski byl se svými žáky zakladatelem oboru lékařské chemie na českých lékařských fakultách a napsal jeho první čtyřsvazkovou vysokoškolskou učebnici (1904-1908) o 1309 stranách. Její podstatnou částí byla již tehdy chemie

fyziologická, jak se původně biochemie na lékařských fakultách nazývala, a tím se její autor stal i spoluzakladatelem české biochemie. [4]



Obr. 12: Ivan Horbaczewski

Zcela zvláštní místo ve vývoji laboratorních metod zaujímá český lékař Prof. MUDr. Jan Janský (1873- 1921)

Působil jako sérolog, neurolog a psychiatr, stal se objevitelem čtyř základních krevních skupin.

Janský působil na psychiatrické klinice v Praze .V roce 1914 se stal profesorem pražské České university a zástupcem přednosta psychiatrické kliniky. Během 1. světové války působil jako lékař na frontě, roku 1916 byl však po prodělaném infarktu služby zproštěn. Po konci války nastoupil na místo přednosta Vojenské nemocnice v Praze. Roku 1921 zemřel na následky anginy pectoris ve věku 48 let.

Jako psychiatr se od počátku své lékařské praxe zabýval vztahem mezi aglutinací (shlukováním) krve a duševními poruchami. Po několikaletém výzkumu pak došel k závěru, že tento vztah neexistuje, že mezi těmito není žádná souvislost. Na vzorcích krve od 3 160 pacientů psychiatrické kliniky dokázal, že lidskou krev, ať člověka zdravého, či duševně nemocného, lze rozdělit podle vlastností krvinek do čtyř základních skupin. Jako víceméně vedlejší produkt své výzkumné činnosti popsal v práci „ Hematologické studie u psychotiků“ popsal jev aglutinační reakce krevních sér na erytrocyty a určil-nezávisle na Landsteinovi- čtyři základní krevní skupiny, označil je římskými číslicemi I, II, III a IV. [30]

## 4.2 Etablování laboratorních metod a jejich používání v českém zdravotnictví do konce 2. světové války

Po profesorovi Horbaczewskému převzal vedení Ústavu lékařské chemie české lékařské fakulty v Praze profesor MUDr. Emanuel Formánek. Pokračoval ve studiu dusíkatých látek a zabýval se též potravinářskou chemií, farmakognozií a toxikologií. Byl rovněž zastupujícím přednostou Ústavu farmakologie a děkanem lékařské fakulty. Na ústavu působil do r. 1929. [1]

Nicméně praktické užívání laboratorních metod ve zdravotnictví nebylo jednoznačné: „Počátky laboratorní diagnostiky se datují do poloviny 19. století, ale ještě na počátku století minulého se mnoho laboratorních testů nedělalo. Byla to především kvalitativní vyšetření moče, nebo mikroskopické vyšetření krve, stolice a močového sedimentu. Kvantitativní chemická analýza vycházela totiž především z metod používaných tehdy v průmyslu, jako byly klasické metody vážkové, volumetrické, gazometrické, které vyžadovaly velká množství materiálu. Hlavními zdroji informací o zdravotním stavu pacienta byly tehdy pro ošetřujícího lékaře anamnéza a fyzikální vyšetření. V roce 1920 dr. Volhardt uváděl, že na tyto dva zdroje vyšetřování připadá v průměru 90% informací a zbytek- 10%-tvoří tzv. pomocná vyšetření, která se dělí na přístrojová a laboratorní.“ [1]

Možnosti analytických metod pro vyšetřování metabolitů a dalších látek v tělových tekutinách vyskytujících se i v nízkých koncentracích přinesl rozvoj kolorimetrických a fotometrických technik. V návaznosti na to, vyšla v roce 1931 zásadní publikace amerických autorů Peterse a van Slyka: Clinical Chemistry. Položila tak skutečný základ jak analytiky, tak hodnocení biochemických testů. [1]

To už také bylo období, kdy přibyla další pracoviště lékařské chemie na lékařských fakultách založených po vzniku Československé republiky v roce 1918-Brně a Bratislavě. V Praze samotné pak přibýlo další renomované pracoviště. 12. října 1925 Poslanecká sněmovna Národního shromáždění přijala zákon o zřízení, působnosti a organizaci Státního zdravotního ústavu Republiky československé. SZÚ byl slavnostně otevřen 5. listopadu 1925, jeho prvním ředitelem byl jmenován prof. MUDr. Pavel Kučera. [24]

V období první republiky se SZÚ stal významnou vědeckou a odbornou institucí. Vyráběl séra a očkovací látky, rozvinul rozsáhlou vědeckou činnost, podílel se na

zajištění bakteriologicko-diagnostické služby a na biologické kontrole léčiv. Důležitou součástí ústavu bylo sociálně hygienické oddělení, které se zabývalo zdravotnickou statistikou, epidemiologií infekčních i neinfekčních nemocí, hygienou výživy, hygienou práce apod.

Ústav byl rozdělen na jednotlivá oddělení, která spolu navzájem spolupracovala. Z našeho hlediska zmiňme alespoň IV. oddělení - bakteriologicko-diagnostické. Obsahovalo laboratoře, které se měly stát ústředím všech vedlejších laboratoří, zřízených na území státu k mikrobiálnímu a sérologickému poznávání nemocí. Lékaři sem byl zaslán infekční materiál, který byl zkoumán metodou mikroskopickou, kultivační a sérologickou, a výsledky byly sdělovány zpět lékařům. Oddělení mělo i zvláštní laboratoř parazitologickou a vyrábělo a uvádělo do prodeje všechny potřebné diagnostické přípravky, např. Sanguitest k určování krevních skupin.

Přesto, biochemická vyšetření se až na výjimky před 2. světovou válkou prováděla jen na velkých klinikách v Praze, Brně a Bratislavě.

Posledním předválečným přednostou ústavu lékařské chemie pražské lékařské fakulty byl v letech 1930-1939 další žák Horbaczewského profesor MUDr. Antonín Hamsík, DrSc., který vynikl zejména svými pracemi v oblasti trávicích enzymů a derivátů krevního barviva. Se svými spolupracovníky napsal pětidílné kompendium lékařské chemie, které vycházelo z koncepce profesora Horbaczewského, reprezentovalo obor v období meziválečném a stalo se základem jeho výuky krátce po válce. [4]

O obnovu ústavu po znovuotevření českých vysokých škol po 2. světové válce se zasloužil jeho přednosta v letech 1945-1970, profesor MUDr. Dr. Ing. Karel Kácl, DrSc.

### **4.3 Rozvoj biochemických laboratorních metod v československém zdravotnictví**

Průkopníkem oboru klinická biochemie se stal prof. MUDr. Jaroslav Hořejší, DrSc., člen korespondent ČSAV. Svůj studijní pobyt ve Velké Británii roku 1937 věnoval studiu nové vědní disciplíny biochemie. První laboratoř klinické biochemie začal budovat prof. Hořejší při I. interní klinice Všeobecné nemocnice na Karlově náměstí v Praze, ale započatý projekt mohl pokračovat až po 2. světové válce.

Bezprostředně po válce byla v prostorách II. ústavu lékařské chemie otevřena biochemická laboratoř, v roce 1948 pojmenovaná jako Ústřední biochemické laboratoře,

později oddělení klinické biochemie pražské fakulní nemocnice I. Tehdy nebyly k dispozici žádné učebnice, vyšetřovací postupy, ani prostory či přístroje, natož pak kvalifikovaní laboranti. Z iniciativy pana profesora vznikla tzv. „Hořejšího škola práce“, ve které se připravovali kvalifikovaní laboranti. [1]

Laboratoře vznikly z biochemické laboratoře I. interní kliniky, díky cílevědomé snaze prof. Hořejšího, který se stal i jejich prvním přednostou. Díky neúnavné práci a hlubokým teoretickým i praktickým znalostem, které zčásti získal za studijního pobytu v zahraničí, vybudoval v té době špičkové pracoviště, které významně ovlivnilo další rozvoj celého oboru.

Tehdy moderní přístrojové vybavení bylo v r. 1948 získáno z daru American Relief for Czechoslovakia a některé fotometry z této pomoci byly v laboratoři úspěšně používány ještě v r. 1965. Při ústřední laboratoři pracovala poradna pro pacienty s onemocněními jater, ve které pod vedením prof. Hořejšího pracovali lékaři této laboratoře. V laboratoři se prováděla vyšetření pro pacienty klinik FN I a později i vyšetření pro lůžkovou část fakulní nemocnice II. Pro tuto činnost bylo třeba vychovat odborně zdatný personál, laboranty, chemiky i lékaře. Organizoval osmiměsíční kurzy pro laboranty a v padesátých letech pro ně prosadil vznik čtyřleté zdravotní školy. [1]

Prosadil také zřízení katedry klinické biochemie při Ústavu pro doškolování lékařů v Praze a stal se v roce 1957 jejím prvním vedoucím. Byl spoluzakladatelem Společnosti klinické biochemie i časopisu *Biochimica Clinica Bohemoslovaca*. Profesor Hořejší vždy zdůrazňoval spojení laboratoře s klinikou. V rámci 1. LF UK také založil a vedl laboratoř pro metabolismus bílkovin a proteosyntézu. V letech 1958- 1975 byl ředitelem Výzkumného ústavu hematologie a krevní transfuze. Svoji první knihu (Základy chemického vyšetřování ve vnitřním lékařství, 1940) vydal celkem 7krát. Profesor Hořejší se nejvíce zaměřil na metabolismus jater, zejména na diagnostiku virových hepatitid, vedl hepatologickou poradnu. Vypracoval frakcionační postupy při přípravě bílkovinných komponent plazmy. Studoval metabolismus glutathionu a vliv akridinových barviv na bílkoviny plazmy. Publikoval na 400 vědeckých článků. [4]

V laboratoři pod vedením prof. Hořejšího pracovala celá řada odborníků, z nichž se někteří později uplatnili v ČSR i v zahraničí jako vedoucí pracovníci.

Výzkumná práce se zaměřila na otázky metabolismu bílkovin, krevního barviva, porfyrinů, kyseliny listové a jejich metabolitů, lipidů, dále rozvíjení vyšetřovacích postupů, zejména chromatografických metod.



Nicméně, začátky laboratorní diagnostiky v nižších typech zdravotnických zařízení nebyly jednoduché. Svědčí o tom i vzpomínka pamětníků z nemocnice ve Frýdku-Místku: „O základech laboratorní diagnostiky se začíná hovořit až v roce 1950. Tehdy neexistovalo žádné biochemické oddělení, ale maličká místnost, laboratorní kout, kde pracovaly tři velice obětavé a svědomité řádové sestry. Prováděly jednoduché chemické zkoušky dle vlastních představ, tak jak se je naučily od různých lůžkových lékařů pod vedením přednosta interního oddělení. Zlepšení nastalo nástupem absolventů zdravotnické školy v roce 1953“ [34]

Není v možnostech této práce detailně zachytit vývoj všech aspektů související s oblastí laboratorních technik a jejich běžného využívání na jednotlivých stupních zdravotnických zařízení. Skutečností je, že v průběhu 50. let, jinak z hlediska celospolečenského vývoje velmi kontroverzního a často tragického období, se podařilo biochemické laboratorní metody uvést do praxe, etablovala se příslušná odborná pracoviště jako součást tehdejších ústavů národního zdraví. Jejich odborný kredit výrazně zvýšil nástup nově vyškoleného odborného personálu. Důraz byl kladen na klasickou techniku kvantitativní biochemické analýzy, v šedesátých letech se postupně začínala objevovat automatizace. V roce 1956 se započalo s postgraduální výukou lékařů v oboru klinické biochemie. V říjnu 1958 se v rámci Československé lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně ustavila Československá společnost klinické biochemie.

Uznání zaslouží všichni, kteří v oboru působili a rozvíjeli jej. Vedle prof. Hořejšího jmenujme alespoň prof. Jiřího Homolku, prof. Karla Maška, prof. Jaroslava Masopusta nebo MUDr. Bedřicha Nejedlého. Jejich žáci a pokračovatelé jsou často současnými renomovanými odborníky oboru.

## **5 SOUČASNÁ KLINICKÁ BIOCHEMIE, JEJÍ SPEKTRUM, MOŽNOSTI, PERSPEKTIVY**

Hlavní těžiště významu oboru biochemie spočívá v poznávání živé přírody a porozumění zákonitostem, které v ní fungují. V tomto ohledu je biochemie nejúspěšnější ze všech biověd. Její poznání nás přiblížilo k pochopení podstaty života více, než toho byla schopna kterákoli jiná věda. Velký rozvoj biochemie značně ovlivnil

smýšlení biologů, lékařů, zemědělců, pracovníků v oblasti výživy i ekologů. Biochemické poznatky stále otevírají dveře novým a novým, stále širším a významnějším praktickým aplikacím.

Biochemie nezaujímá své mimořádně významné postavení pouze v rámci biověd, ale své místo si obhájila také mezi vědami chemickými. Pojednává o tom, jak lze vytvářením složitých molekul a jejich nenáhodným uspořádáním realizovat stále složitější vlastnosti. Poznání zákonitostí molekulové výstavby biologických systémů a v nich probíhající energetické a látkové přeměny významně ovlivňuje obor chemie a s ním související rozvoj klasických chemických disciplín.

Důkazem o úspěšnosti a velkém významu biochemie je také fakt, že více než polovina Nobelových cen udělených od roku 1901 za významné objevy ve fyziologii, medicíně a chemii, připadla právě biochemikům. [32]

Má-li ošetřující lékař správně posoudit zdravotní stav nemocného, potřebuje k tomu co nejvíce informací. Tyto informace může získat z nejrůznějších zdrojů, a to: ze samotné anamnézy, z fyzikálního vyšetření, z laboratorního vyšetření (ať už biochemického, imunologického, cytologického, histologického, mikrobiologického atp.) a z funkčního a přístrojového vyšetření (např. rentgen, endoskopie, radiodiagnostika atd.). Základním článkem diagnosticko-terapeutického procesu je řádně provedená anamnéza a zevrubné fyzikální vyšetření. Laboratorní a přístrojová vyšetření jsou jakousi rozšířenou možností lékaře ke specifikaci změn nejen zjevně patrných, ale i těch pouhým okem neviditelných, jako jsou třeba funkční změny či poruchy metabolismu, nebo i celých orgánů. Laboratorní vyšetření má lékaři pomoci v potvrzení, nebo vyvrácení podezření k určité diagnóze, posouzení průběhu onemocnění, pomoci určit vhodnou terapii a v neposlední řadě také sledovat její účinek.

Biochemická vyšetření zaujímají v oblasti laboratorních vyšetření 60-70% informací o nemocném. [1] Je to dáno tím, že má tato oblast velice široký rozsah a obrovské spektrum nejrůznějších testů. Biochemie nás informuje o metabolických funkcích, jejichž defekt je základem většiny nemocí. Výsledky jsou kvantifikovatelné, tzn. interpretovatelné čísla a relativně snadno dostupné. Stačí odebrat vzorek krve, moči, nebo jiného biologického materiálu, což pacienta příliš nezatěžuje.

Je těžké vystihnout a ohraničit typicky biochemická vyšetření, neboť dnešní prováděné metody se v praxi prolínají s metodami ostatních laboratorních oborů. Níže jsem se snažila charakterizovat některé, dle mého názoru důležité a snad reprezentativní metody a jejich principy. Vybírala jsem dle svého uvážení, statistik a inspirací mi

rovněž bylo absolvování odborné praxe v Institutu Klinické a Experimentální Medicíny (IKEM), kde jsem vyšetření pozorovala a některá si vyzkoušela.

Jestliže má mít výsledek biochemického testu skutečně výpovědní hodnotu a má-li být vhodný k interpretaci, musí být především správný, přesný a rychle dostupný. [22] Posouzení výsledků vyšetření se provádí většinou porovnáním s referenčním rozmezím, přičemž je nezbytné brát v úvahu diferenci referenčních hodnot různých laboratoří. Například klinicko-biochemické laboratoře mohou mít jiné parametry hodnot a důvodem je třeba použití jiných analytických systémů, instrumentací, metod nebo reagensů. Při porovnávání výsledků se tedy doporučuje použít hodnoty laboratoře, která daná vyšetření provedla. [22]

## **5.1 Charakter standardní biochemické laboratoře**

Biochemické laboratoře ať už soukromé nebo státní, malé či velké, samostatné či spojené s nemocniční organizací, mají něco společného. Jsou to metody a vyšetření, která se v nich provádějí a která jsou v rámci soukromých biochemických laboratoří nabízena i nelékařské veřejnosti, stojí totiž na stejných principech, které jsou díky našim předchůdcům dané a fungují. Nemusí být ve všech laboratořích nutně prováděna všechna do jednoho, asi by to ani nebylo možné, nebo alespoň vysoce neekonomické. Když tedy pomineme soukromá pracoviště, která mohou být jak úzce specificky zaměřená, tak mohou mít i široký rozsah působení, zjistíme, že dnešním trendem ve zdravotnictví je snaha o centralizaci a konsolidaci. A nejen laboratoří. Centralizace spočívá ve spojování menších pracovišť se stejným zaměřením do jednoho nebo několika větších. Konsolidace je zase spojování různých typů (laboratoří) do jednoho institutu. Výhodou je jistě ekonomická úspora, zvýšení výkonnosti a výtěžnosti zařízení, v neposlední řadě je výhodou také potřeba menšího množství materiálu a rychlejší odezva a celková komunikace, v našem případě mezi lékařem/ nemocnicí a laboratoří. Horší dopad má však proces centralizace a konsolidace na nezaměstnanost. Velké procento propouštěných při rušení některých pracovišť a oddělení je problémem a nastupující doba automatizace a robotizace tento problém ještě více prohlubuje. O tom ale tato práce není.

Podíváme se, jak dnes vypadá standardní biochemická laboratoř a jaké metody se v ní nejčastěji provádějí. Taková standardní biochemická laboratoř je součástí komplexu nemocničního zařízení. Je podle velikosti a financí „vybavena“ určitým počtem

pracovníků, přístrojů a dílčího vybavení. Do pracovníků spadá nejčastěji jeden nebo více specializovaných doktorů, primář, vrchní laborant a několik laborantů. Laboratoř se dle své velikosti a rozsahu rozprostírá do určitého počtu místností, popřípadě pater. Aby byl chod laboratoře dobře organizovaný, plynulý, nechaotický a dalo se v něm snadno orientovat, je dobrým zvykem mít jednu místnost například pro příjem materiálu, kde se vzorky rozdělí pro požadovaná vyšetření a opatří se příslušným číslem, další místnost je vybavena třeba jen centrifugami, další ledničkami a mrazáky, jiná místnost slouží jako sklad materiálu, pomůcek a reagensů, jiná třeba zase jako umývací skla. Každá laboratoř samozřejmě obsahuje i úsek administrativní.

Dobrá organizace je tedy pro chod pracoviště důležitá, v dnešní době je shromažďování dat a jejich zpětné dohledávání, komunikace a orientace v rozsáhlých databázích velmi usnadněna existencí počítačů, tedy nějakým centrálním nemocničním informačním systémem, se kterým mohou zaměstnanci nemocnice pracovat, vkládat do něj údaje o pacientech a brát si potřebné informace. Tento systém je samozřejmě chráněn proti úniku osobních údajů a není možné se do něj dostat jinak, než z nemocnice, s příslušnými přihlašovacími údaji.

Laboratoř zajišťuje vyšetření téměř jakéhokoliv biologického materiálu. Třeba v krvi a moči dokáže analyzovat nejrůznější látky anorganického či organického původu, velkým spektrem metod. Analyzují se bílkoviny, glukóza, tuky, enzymy, minerály, vitamíny, hormony atp. Použité metody se v tomto případě ještě liší druhem materiálu (krev kapilární, venózní, žilní). Dále se stanovuje acidobazická rovnováha, hladina léků, toxinů a metabolitů (močovina, bilirubin, kreatinin). Důraz je samozřejmě kladen na vhodnou kvalifikaci personálu, rychlost a hlavně výdej spolehlivých laboratorních výsledků.



Obrázek 13: Biochemická laboratoř Masarykovy městské nemocnice v Jilemnici

## 5.2 Hlavní biochemické metody

Biochemická vyšetření lze hrubě rozdělit dle indikace na vyšetření **základní**, jež zhodnotí zdravotní stav pacienta, umožňují potvrzení nebo vyloučení diagnózy, stanovení vhodné medikace a její sledování. Dále máme testy **speciální**, jež slouží při složitější diferenciální diagnostice a testy **vysoce speciální**, které provádějí stanovení vzácných, neobvyklých diagnóz.

Podle informační náplně lze všechna vyšetření rozdělit na vyšetření **určující**, mají rozhodující význam pro stanovení diagnózy, vyšetření **doplňková**, pomáhají doplnit a upřesnit informace a nakonec vyšetření **funkční**, v nichž se (obvykle v urč. časovém horizontu) sledují změny určitého analytu při stimulaci některé metabolické funkce. Existují také testy orientační (screeningové), sloužící k rychlé orientaci lékaře, nebo vyšetřující laboratoře v rozhodování pro další postupy. Vyšetření se mohou provádět přímo u pacienta (např. kvalitativní testování moči indikátorovým papírkem). [29]

Metod užívaných v biochemické praxi je nepřehledné množství a jsou provázány také s jinými obory. Za stěžejní metody by mohly být považovány metody separační, neboť bez schopnosti oddělit či rozlišit jednotlivé složky směsi, nebo vyseparovat požadovanou látku, bychom jen stěží zvládli vzorky analyzovat, nebo identifikovat. K izolaci, dělení, analýze, stanovení obsahu a čistoty látek tedy slouží separační metody a patří sem především metody chromatografické a elektroforetické. Dále používáme k izolaci, měření a další diagnostice metody precipitační, centrifugální a ultracentrifugální. Pro určení struktury molekul a stanovení hladin a koncentrací látek využíváme metod optických a můžeme sem zařadit například spektrofotometrii, turbidimetrii, nefelometrii atd. Pro stanovení velmi nízkých hladin látek a sledování jejich přeměn a metabolismu využíváme značení látek např. radionuklidy. V biochemii také hojně využíváme světelnou mikroskopii a v neposlední řadě i mikroskopii elektronovou, která nám pomáhá k zobrazení biostruktur, biomakromolekul, nebo virů. V molekulární biologii, která je biochemii velice blízká se k určení pořadí stavebních jednotek biomakromolekul provádí metoda sekvenování, užívaná pro studium bílkovin a nukleových kyselin. Cílená manipulace s genetickým materiálem a konstrukce umělých DNA úseků se nazývá rekombinace DNA. Nesmíme opomenout také důležité

kvalitativní i kvantitativní metody imunochemické, založené na reakci antigenu a protilátky.

### **5.2.1 Faktory ovlivňující spolehlivost vyšetření**

Jako preanalytickou fází můžeme označit dobu od indikace laboratorního vyšetření po zahájení samotné analýzy. Nalezneme zde mnoho faktorů, které mohou ovlivnit kvalitu biochemických testů. V mimolaboratorním prostředí je to například příprava vyšetřovaného pacienta, způsob odběru vzorku, doba a místo stání nádoby se vzorkem, transport a uchování materiálu. Faktory, které sice působí na laboratorní vyšetření, ale zdravotní personál je nemůže ovlivnit a je potřeba s nimi počítat, je například věk nemocného, pohlaví, genetické faktory, rasa, životní prostředí, cirkadiánní rytmy a sezónní vlivy, způsob výživy pacienta a jeho fyzická zátěž. V analytické fázi se může chybovat při samotném stanovení, např. při nesprávném dávkování poměru reagentů, nebo může dojít ke znehodnocení materiálu různými jinými způsoby. Také se objevují chyby administrativní či organizační. [29]

### **5.2.2 Základní operace, úprava biologického materiálu**

K analýze a studiu se v biochemii využívá nejrůznějšího materiálu. Pro izolaci vybrané látky je třeba zvolit materiál nejvhodnější a to ten, ve kterém je koncentrace požadované látky nejvyšší a nutné je brát v potaz také jeho dostupnost.

Zvolený živočišný, rostlinný, nebo mikrobiální materiál je potřeba zhomogenizovat, aby mohl být extrahován. Homogenizace se děje za přídavku vody, rozpouštědla, nebo jiných roztoků a dochází při ní k důkladnému rozmělnění materiálu. Používají se různé homogenizátory opatřené pohyblivým pístem, který drtí a rozmělní materiál. Homogenizovat lze také v třecí misce s přídavkem nějakého abraziva (např. písku), pomocí tekutého dusíku, nebo ve výkonném mixéru. Při zpracování odolného materiálu (např. lidské vlasy), nebo mikroorganismů, které mají obvykle poměrně rezistentní buněčnou stěnu, ještě využíváme některých chemických detergentů, nebo enzymů, které narušují struktury buněčné stěny a tím usnadňují homogenizaci. Práci usnadní také třeba krátkodobé působení ultrazvukových vln, nebo opakované zmrazování a rozmrazování materiálu. [16]



Obr.14: Homogenizátor Heidolph – Verkon

Dále můžeme vzorek podrobit extrakci, kdy se složky směsi oddělují na základě jejich rozdílné rozpustnosti v určitém rozpouštědle. K oddělení pevných částic využijeme procesu sedimentace neboli usazování. Pevné složky jsou rozptýleny v plynu nebo kapalině a na základě působení gravitačních sil se usazují dle jejich rozdílné hustoty (nejdříve částice s největší hustotou). [16] Precipitace čili vysrážení požadované složky pomůže k její izolaci nebo odstranění. Separaci pevných částic či precipitátu můžeme provést i filtrací.

Centrifugace neboli odstředování patří k nejběžnějším operacím prováděných v biochemických laboratořích. Je rychlejší a pohodlnější než filtrace a umožňuje oddělení i velmi jemných částic roztoku. Operaci provádíme v centrifugách, nebo ultracentrifugách a sediment je zde vytvořen na základě odstředivých sil. Centrifugy existují v různých velikostech a provedeních (např. úhlové, výkyvné). Čas odstředování a počet otáček za minutu je variabilní, nastavitelný operátorem. Analytické centrifugy jsou navíc opatřeny optickým zařízením, které umožňuje sledovat rozhraní jednotlivých sedimentujících částic. [16]



Obr.15: Centrifuga

Šetrnou metodou pro přípravu suchých preparátů látek a biologického materiálu, který je citlivý na zvýšení teploty je tzv. lyofilizace, neboli mrazová sublimace. Podstatou je sublimace rozpouštědla ze zmraženého vzorku za vakua. Odpařování probíhá za teploty kolem 0°C, takže ve vzorku neprobíhají enzymatické reakce, bílkoviny nedenedaturují a vzorky tím pádem nepění, je omezena možnost mikrobiální infekce a nežádoucí oxidace vzdušným kyslíkem. Lyofilizace se používá hlavně k dehydrataci roztoků proteinů a mikrobiálních kultur. Takto usušené preparáty lze poměrně dlouho skladovat, neboť si ponechávají určité procento vody a tím si lépe uchovávají své vlastnosti i biologickou aktivitu. [16]



Obr.16: Lyofilizátor Bench Top Pro

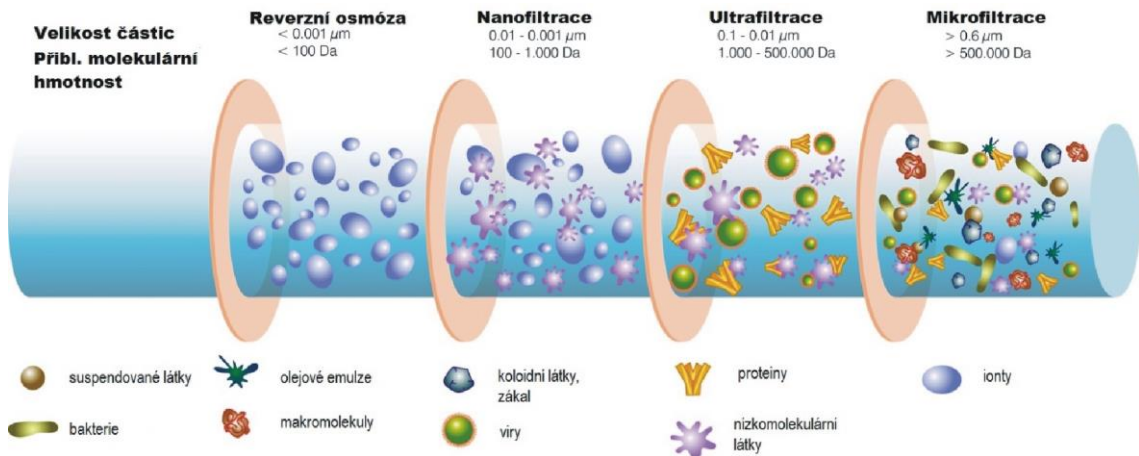
### 5.2.3 Separační techniky, chromatografie

Látky se v přírodě vyskytují povětšinou ve směsích a to často velmi složitých, proto je nutné umět jednotlivé složky rozdělit, nebo oddělit jednu látku z látkové směsi. K tomu jsou separační techniky.

Nenáročnou metodou fázové separace je precipitace. Metoda nemá sice velké rozlišení, ale umožňuje snadné a rychlé zakonzervování preparátu po provedení extrakce. Vysrážení proběhne při změně teploty, pH, v přítomnosti organických rozpouštědel nebo neutrálních solí. [16] Precipitát se posléze oddělí filtrací či centrifugací. Pokud je žádoucí složka obsahem precipitátu, lze jej rozpustit a získat koncentrovaný roztok. Látku pak můžeme dokonale oddělit například gelovou chromatografií (viz kapitola 5.2.5).

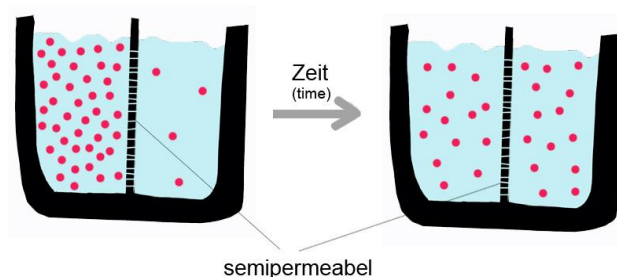


Membránová filtrace, která je někdy označována také jako ultrafiltrace, umožňuje oddělení molekul v roztoku dle jejich velikosti průchodem přes polopropustnou membránu s póry o známé velikosti, často za mírně zvýšeného tlaku který celý proces urychlí. Membránový filtr zadrží většinu makromolekulárních látek, avšak většina malých molekul projde přes membránu do filtrátu. Velmi malé molekuly (např. soli, aminokyseliny, sacharidy) obvykle přejdou do filtrátu kvantitativně. [16]



Obr. 17: Membránová filtrace- rozdělení membránových procesů podle stupně separace

Difúze nízkomolekulárních látek přes membránu na základě rozdílných koncentrací roztoků (přestup molekul z roztoku o vyšší koncentraci do roztoku s nižší koncentrací) využívá technika dialyzační. Proces se zastaví v okamžiku, kdy se koncentrace propouštěných látek na obou stranách membrány vyrovnají. Dialýza obvykle trvá desítky hodin, proto se provádí za nízkých teplot, aby se zabránilo případné denaturaci bílkovin nebo mikrobiální kontaminaci. Metoda se nejčastěji používá při zbavování vysokomolekulárních látek nízkomolekulárních nečistot. Materiálem pro výrobu membrán byl dříve např. pergamen, celofán, nebo střívkva, vaječná blanka i jiné živočišné struktury. Nyní jsou komerčně vyráběny membrány tvaru trubice s vhodnou velikostí pórů a různým průměrem.



Obr.18: Difúze přes polopropustnou membránu

## Chromatografie

Poprvé způsob separace na bázi chromatografie popsal a pojmenoval ruský vědec a botanik Michail Semjonovič Cvět, který působil na Varšavské univerzitě. Bylo to na počátku 20. století. Cvět při studiu fotosyntézy rozdělil chlorofylová listová barviva na vrstvě porézního materiálu a zjistil, že jednotlivá barviva lze po separaci vizuálně rozeznat, proto postup nazval „chromatografie“ („barvo-psaní“). Pro dělení složek směsi bylo využito rozdílných absorpčních schopností jednotlivých barviv. [24]

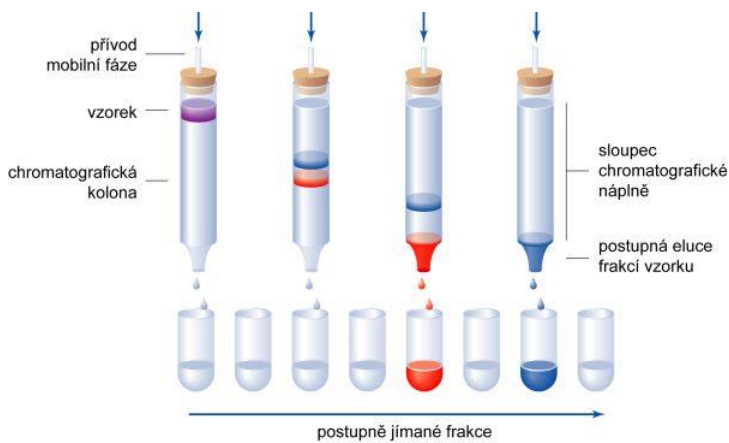
Principem chromatografického procesu je distribuce složek směsi mezi dvěma fázemi, z nichž je jedna označována jako fáze mobilní a druhá jako stacionární. Zatímco mobilní fáze je většinou kapalina nebo plyn, stacionární fáze může mít v různých typech chromatografií velmi rozdílnou formu (např. částičky tuhé fáze, tenká vrstva kapaliny na pevných částicích, film kapaliny na vnitřní straně kapiláry). Proto byl zaveden pojem „sorbent“ a to pro jakoukoli formu stacionární fáze. Během chromatografického dělení dochází k opakovanému ustalování rovnováhy mezi oběma fázemi.

Na počátku 70. let došlo k výraznému posunu v separačních možnostech kapalinových chromatografických metod zavedením nových materiálů s mnohem menší velikostí částic a zvýšenou mechanickou odolností. Tyto techniky se označují jako „vysokoúčinné chromatografie“ (HP= high performance). Pro nejpoužívanější a nejznámější sloupcovou chromatografii se používá označení HPLC (high performance liquid chromatography).

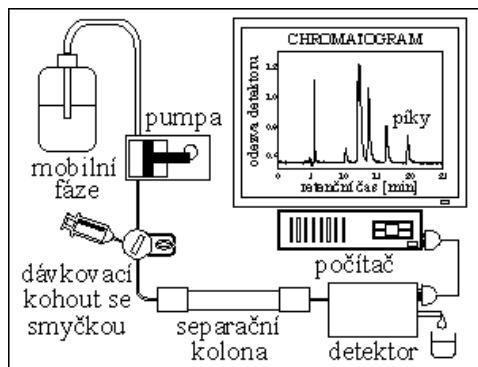
V současnosti existuje celá škála nejrůznějších variant chromatografických metod a jejich rozdělení je možno provést různě. Jedním z kritérií může být například skupenství fází (plynová a kapalinová chromatografie). Zatímco plynová chromatografie pracuje v systému plyn-pevná látka, nebo častěji plyn-kapalina, kapalinová chromatografie pak v systému kapalina-kapalina, nebo pevná látka-kapalina. Dalším kritériem je pak separační mechanismus, tj. charakter interakce dělené látky se stacionární fází. Podle tohoto principu rozlišujeme chromatografii adsorpční (založena na různé schopnosti látek adsorbovat se na povrch pevné fáze- adsorbentu), rozdělovací (dělení látek mezi dvě nemísitelná, nebo omezeně mísitelná rozpouštědla), afinitní (využívá jedinečnou schopnost řady přírodních látek specificky rozpoznat jiné molekuly) a ionexovou (založena na iontových interakcích mezi iontoměničem a separovanou látkou, která nese opačný náboj). Dále lze tuto metodu rozdělit dle

techniky provedení na sloupcovou chromatografii (na koloně) a chromatografii v plošném uspořádání (papírová chromatografie, TLC- chromatografie na tenké vrstvě).

Chromatografické metody dosáhly v posledních letech neobyčejného rozšíření a přinesly řadu možností. Moderní chromatografické techniky slouží nejen k preparativním účelům, ale také k účelům analytickým. Prostřednictvím těchto technik je možné získat jak kvalitativní, tak i kvantitativní informace, tzn. kromě určení složení směsi lze stanovit i koncentraci jednotlivých složek. Pro úplnou a spolehlivou informaci je však nezbytné propojení s dalšími metodami analytické chemie, např. hmotnostní spektrometrií, UV-VIS spektrometrií apod. [16]



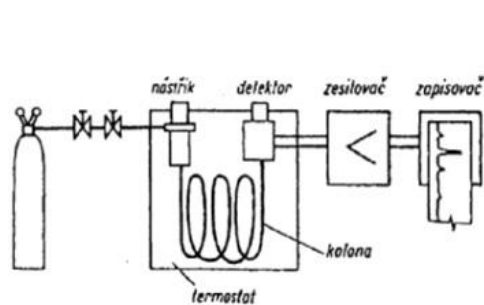
Obr. 19: Princip chromatografie



Obr.20: Schéma HPLC



Obr.21: Zařízení HPLC



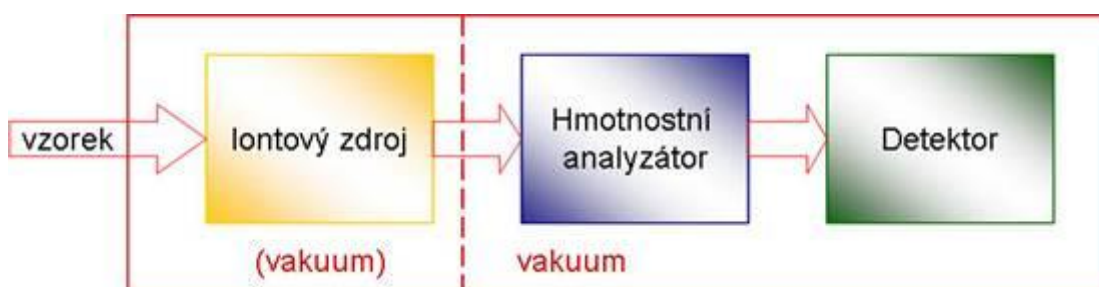
Obr.22: Schéma plynového chromatografu



Obr.23: Plynový chromatograf

## 5.2.4 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je metoda, která pracuje s dělením fragmentu podle poměru hmotnost/ náboj. Používá se pro určení hmotnosti částic, či stanovení elementárního složení vzorku a pro objasnění chemické struktury molekul, jako např. peptidů a jiných chemických sloučenin. Princip hmotnostní spektrometrie je založen na ionizujících chemických sloučeninách, výrobě nabitě molekuly nebo jejího fragmentu a poté měření hmotnosti vzhledem k náboji.



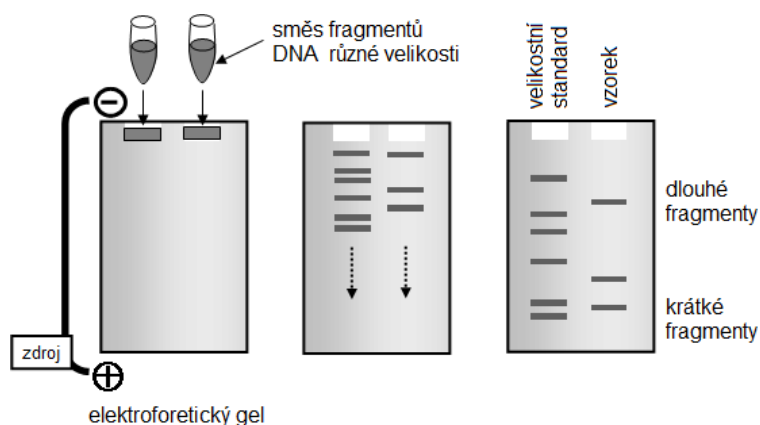
Obr.24: Schéma principu hmotnostní spektrometrie

## 5.2.5 Elektromigrační metody, elektroforéza

Elektromigračními či elektroforetickými metodami nazýváme soubor technik, které využívají pohybu ionizovaných částic v elektrickém poli. Metody lze využít k separaci jak nízkomolekulárních, tak vysokomolekulárních látek. Pokud jsou látky nesoucí náboj rozpuštěny v elektrolytu a umístěny v elektrickém poli, začnou se pohybovat konstantní rychlostí úměrnou jejich náboji, kationty ke katodě a anionty k anodě. [16] Proužky jednotlivých látek vzniklé při elektroforetickém dělení se pak dají zviditelnit a následně identifikovat různými technikami, obvykle barevnou reakcí s vizualizačním činidlem, nebo navázáním značené protilátky.

Profesor Moskevské univerzity Ferdinand Fridrich Reuss popsal to, co dnes známe jako elektroforézu, pomocí vzorků jílu a volta článku- provrtaných stříbrných rublů proložených zinkovými plíšky. Dokázal tím pohyb molekul vody a částic jílu v elektrickém poli k negativnímu pólu (r.1807). Položil tak základy elektroforetické separační metody, jedné ze základních metod separace v biochemii. [26] K zásadnímu pokroku v elektromigračních metodách došlo až přibližně za sto let, ve třicátých letech 20. století, díky práci Arneho Tiselie, který dokázal elektroforeticky separovat sérové

proteiny a opticky sledovat pohyblivé rozhraní jednotlivých molekul. V roce 1948 byl Tiselius oceněn Nobelovou cenou za chemii. Na jeho poznatky navázal např. také Linus Pauling, který v roce 1949 demonstroval odlišnou elektroforetickou migraci hemoglobinu u zdravých jedinců a pacientů se srpkovitou anémií. [26] Díky těmto vědeckým poznatkům a následným rozvíjením a usilovnou prací se vyvinuly další dvě elektromigrační metody, založené na dvou odlišných vlastnostech. Izoelektrická fokusace (IEF) dělí bílkoviny na základě jejich náboje, nebo přesněji na základě jejich izoelektrického bodu a SDS-PAGE (Elektroforéza v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti deodecyl-síranu sodného) dělí bílkoviny dle jejich molekulových hmotností. Kombinace těchto dvou metod nám dává princip tzv. dvourozměrné elektroforézy. Komplexní směsi proteinů totiž nelze řádně rozdělit jednorozměrnou elektroforézou, užívá se proto varianty dvourozměrné, s odlišným uspořádáním v každém směru. Tímto způsobem lze rozdělit přes tisíc proteinů na jediném gelu, kde se každý protein pohybuje na své jedinečné místo. [2]



Obr.25: Gelová elektroforéza

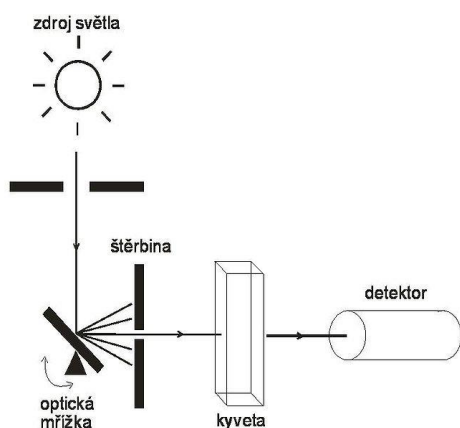
### 5.2.6 Optické metody, spektrofotometrie, turbidimetrie a nefelometrie

Jako optické metody nazýváme soubor instrumentálních metod, jejichž společným rysem je mechanismus, založený na interakci hmoty a záření. Jde buď o schopnost molekul, atomů nebo iontů přecházet z kvantových stavů s menší energií do energeticky bohatších dodáním zářivé energie, nebo opačně vyzářením energie do energeticky nižšího stavu; anebo záření při interakci podléhá jiným změnám (změna směru, rychlosti, optické otáčivosti). [15]

Do optických metod založených na absorpci záření patří nejpoužívanější technika oboru biochemie- **spektrofotometrie (absorpční fotometrie)**. Absorpční fotometrie náleží k nejstarším fyzikálně-chemickým metodám. Dokazuje to i fakt, že první fotometrická měřicí metoda byla popsána již v roce 1845. Nejintenzivnější vývoj absorpční fotometrie však nastal až po 2. světové válce a to jak v přístrojové technice, tak i v metodice. Na trhu se objevuje mnoho nových přístrojů, od jednoduchých až po ty nejsložitější spektrofotometry. Absorpční fotometrie prošla od této doby vývojem delším než kterákoli jiná fyzikálně-chemická analytická metoda. V dnešní době, především díky rozvoji mikroprocesorové techniky, jde vývoj v této oblasti měření stále dopředu. [20]

Základem všech metod absorpční spektrální analýzy je absorpce zářivé energie v určitém prostředí. Prochází-li homogenním prostředím zářivá energie definované vlnové délky, zeslabuje se její počáteční intenzita o podíl, který je tímto prostředím absorbován. Absorpcí záření se zvýší energie molekuly nebo atomu, čímž se dostávají ze svého základního stavu o nejmenší energii, do stavu excitovaného o vyšší energii. Při absorpci záření v ultrafialové (UV) a viditelné (VIS) oblasti spektra dochází v molekule k elektronovým přechodům (valenční elektrony), zároveň dochází také ke změnám ve vibračních a rotačních stavech molekuly. Seskupení v molekulách, které jim dává schopnost absorpce a to především v rozsahu vlnové délky 200-800 nm se nazývá chromofor. Sloučeniny bez chromoforů absorbují také záření, ale v oblasti vlnových délek pod 200 nm, využívají se hlavně jako rozpouštědla pro UV-spektrofotometrii. K měření světelné absorpce se používá řada přístrojů od jednoduchých fotometrů až po automaticky registrující spektrofotometry. Detektorem měřícím intenzitu světla, které prošlo roztokem je u jednodušších přístrojů fotočlánek, který převádí světelnou energii na elektrickou, měří se intenzita proudu. U spektrofotometrů se dále jako měrné zařízení používá analogový nebo digitální galvanometr, který přímo odečítá procenta propustnosti, nebo absorbance. Přístroje jsou dnes běžně opatřeny zapisovačem pro automatickou registraci (např. absorbančních křivek) a tiskárnou.

Metoda má jak kvalitativní, tak kvantitativní využití. Spektrofotometrie v UV a VIS oblasti má výhodu ve své citlivosti a jednoduchosti provedení, proto má velmi široké využití. V biochemii našla metoda uplatnění především v klinické analýze organických látek, stanovení aniontů a kationtů ve vodách, v analýze léčiv, potravin, určování stopových množství kovů v nejrůznějších materiálech atd.



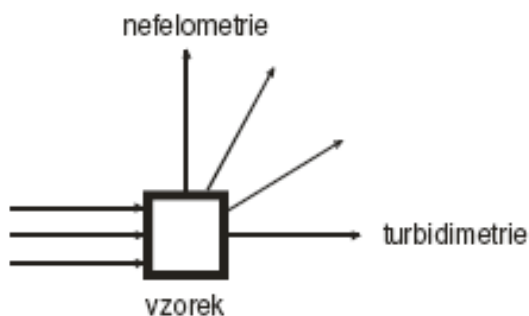
Obr.26: Schéma principu spektrofotometrie



Obr.27: Spektrofotometr 6850

### Turbidimetrie a nefelometrie

Turbidimetrie a nefelometrie je založena na stejném principu a to na měření stupně opalescence roztoku, ve kterém jsou přítomny více či méně drobné částice (nehomogenní roztok). Intenzita měřeného světla je závislá na stupni zákalu roztoku. U nefelometrie je intenzita světla pozorována kolmo na dopadající světlo, měří se tedy odraz světla od koloidních částic (tzv. Tyndallův efekt). Turbidimetrie měří zeslabení přímo procházejícího paprsku světla zakaleným roztokem.



Obr.28: Schéma detekce paprsků turbidimetrie (paprsky prošlé kyvetou) a nefelometrie (paprsky odražené)

### 5.2.7 Metody založené na jiných elektromagnetických zářeních, rentgenová krystalografie, NMR spektroskopie

Následující dvě metody slouží především k analýze trojrozměrné struktury proteinů. V biochemickém oboru nalézají také své místo, s postupující dobou stále více.

### **Rentgenová krystalografie**

Tato technika je hlavní metoda, která se dnes používá k objasnění trojrozměrné struktury molekul proteinu. Rentgenové záření, stejně jako světlo, je druh elektromagnetického záření o velmi malé vlnové délce. Jestliže zaměříme svazek paralelních rentgenových paprsků na dobře vyvinutý krystal čistého proteinu, některé paprsky budou rozptýleny určitým způsobem atomy v krystalu. Rozptýlené paprsky vytváří obrazec difrakčních skvrn, které vypovídají o poloze jednotlivých atomů v krystalu proteinu. Počítačem lze tuto informaci zpracovat do trojrozměrné mapy a sestavit tak atomový model, k interpretaci se často užívají zjednodušené verze. [2]

### **NMR- spektroskopie**

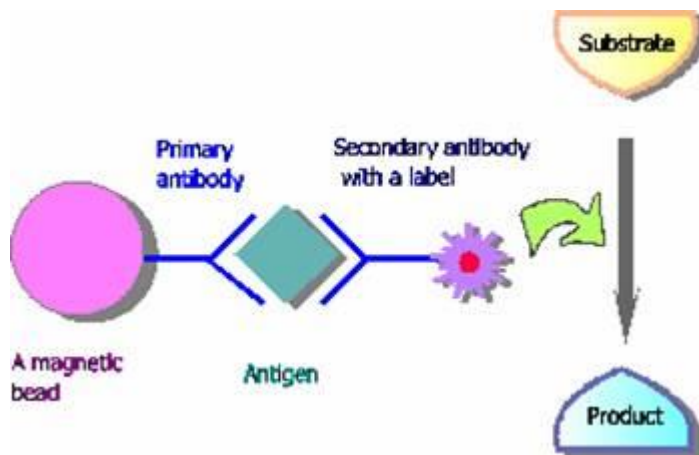
Nukleární magnetická rezonance se dříve používala k analýze struktury malých molekul, nyní je stále více využívána pro stanovení struktury malých proteinů či jejich domén. K metodě stačí pouze velice malé množství roztoku proteinu. Roztok se umístí do silného magnetického pole, kde je vystaven pulzům rádiové frekvence. Signály z atomových jader vodíku v různých aminokyselinách lze identifikovat a určit tak vzdálenost mezi interagujícími páry vodíkových atomů. Takto poskytuje NMR-spektroskopie informace o vzdálenostech mezi různými součástmi proteinové molekuly. Srovnáním této informace se znalostí aminokyselinové sekvence lze odvodit trojrozměrnou strukturu proteinu. [2]

## **5.2.8 Imunochemické metody, imuniprecipitace**

Hlavní podstatou všech imunochemických metod je interakce mezi antigenem a protilátkou. Antigenem je myšlena jakákoli substance, se kterou je protilátka schopna tvořit komplex. Protilátky jsou bílkoviny (glykoproteiny) krevního séra, nebo jiných tělních tekutin. Pro imunochemické techniky slouží protilátky izolované z různých živočišných druhů, dodávané komerčně. Při laboratorním stanovení antigenů pomocí protilátek (nebo naopak stanovení protilátek pomocí antigenů) vzniká tedy komplex antigen-protilátka, jehož přítomnost je nutné zviditelnit. K tomu slouží buď již značená specifická protilátka v komplexu, nebo další tzv. sekundární protilátka, která se



následně připojí do komplexu také. Přidá se vizualizační činidlo, které reaguje se „značkou“ na protilátce a v přítomnosti komplexu dojde k barevné, nebo jiné viditelné reakci (např. fluorescenci). Reakce se hodnotí buďto pouhým okem jako pozitivní/negativní, nebo častěji kolorimetricky v kolorimetru, jež nám dá informaci také o kvantitě- koncentraci imunokomplexů.



Obr.29: Schéma tvorby imunokomplexu a jeho zviditelnění

### **Imunoprecipitace**

Jednodušší způsob sledování imunochemické reakce je imunoprecipitace v roztoku. Antigen s protilátkou reaguje za vzniku nerozpustného precipitátu. Kvalitativně hodnotit lze opět pouze zrakem, kvantitativní hodnocení se pak provádí turbidimetricky, nebo nefelometricky.

## 6 ZÁVĚR

Zkoumání procesů vzniku, vývoje a současnosti laboratorních (biochemických) metod dává možnost konstatovat některá zjištění. Biologický lidský materiál, v návaznosti na to i dalších živočichů, se stal předmětem pozorování a hodnocení již od nejstarších dob. Na dlouhé věky však bylo zkoumání tohoto materiálu omezeno schopností lidských smyslových orgánů. Nové možnosti v tomto směru nastolila iatrochemie, iatrofyzika, rozvoj přírodních věd a medicíny, zejména 18. a 19. století. Zde se také laboratorní metody začaly používat.

V české medicínské minulosti, vedle osob, které se podílely na vědeckém pokroku v sledovaném období, nelze přehlédnout významný mezník- vznik instituce zabývající se chemií v lékařství. Nicméně praktické využívání biochemických laboratorních metod se v československých podmínkách období 2. Světové války omezovalo na hlavní klinická zařízení, lékařské fakulty a Státní zdravotní ústav.

Rozmach oboru biochemické laboratorní metody nastal v Československu postupně od přelomu 40. a 50. let, největší zásluhu na tom má uznávaný zakladatel laboratorních vyšetřovacích metod – prof. MUDr. Jaroslav Hořejší. Obor se metodicky, obsahově, personálně i po technické stránce etabloval v 50. letech minulého století, v současné době představuje naprosto nepostradatelnou součást zdravotnické diagnostiky se širokou škálou vyšetřovacích metod.

## 7 POUŽITÉ PRAMENY A LITERATURA

1. *50 let České společnosti klinické biochemie*. Vyd. 1. Editor Richard Průša. Praha: ČSKB ČLSJEP, 2008, 140 s. ISBN 978-80-254-2771-2.
2. ALBERTS, Bruce. *Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky*. 2. vyd. Překlad Arnošt Kotyk, Bohumil Bouzek, Pavel Hozák. Ústí nad Labem: Espero, c1998, 1 sv. (různé stránkování). ISBN 80-902-9062-0.
3. Alchymie. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* (online) [cit. 2013-04-28]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Alchymie>
4. BALÍKOVÁ, Marie. *110 let české lékařské chemie a biochemie: stručné dějiny*. 1. vyd. Praha: Galén, 1994, 112 s. ISBN 80-858-2411-6.
5. BANÝR, J., NOVOTNÝ, V. R. *Stručné dějiny chemie a chemické výroby*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1986. 146 s
6. BRONCOVÁ, D. (editor): *Dějiny farmacie v Českých zemích*. Praha, Milpo-Media 2003, 155 s. ISBN 80-86098-30-3
7. BUDIŠ, J. a kol. *Historie chemie slovem a obrazem*. Brno: PdF MU, 1995. 100 s. ISBN 80-210-1080-2.
8. BUDIŠ, J. a kol. *Stručný přehled historie chemie*. Brno: PdF MU, 1996. 53 s. ISBN 80-210-1463-6..
9. CÍDLOVÁ, H., B. Kohoutková, P. Křivánková, K. Štěpánek, B. Valová, 2011. *Historie chemie* [online]. 2011 [cit. 2013-04-28]. Dostupné z: <http://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/hist/default.htm>
10. Čtyři základní tělesné šťávy. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. [cit. 2013-05-01]. Dostupné z: [http://cs.wikipedia.org/wiki/%C4%8Cty%C5%99i\\_z%C3%A1kladn%C3%AD\\_t%C4%9Blesn%C3%A9\\_%C5%A1%C5%A5%C3%A1vy](http://cs.wikipedia.org/wiki/%C4%8Cty%C5%99i_z%C3%A1kladn%C3%AD_t%C4%9Blesn%C3%A9_%C5%A1%C5%A5%C3%A1vy)
11. EIM, Josef. *Vývoj zdravotního systému v ČR*. Brno, 2008. Dostupné z: [http://is.muni.cz/th/100355/pravf\\_m/Diplomova\\_prace.pdf](http://is.muni.cz/th/100355/pravf_m/Diplomova_prace.pdf). Diplomová práce. Právnická fakulta Masarykovy univerzity.
12. FERUS, M.: *Shrnutí dějin evropské alchymie*, PřF UK, Praha 2005
13. GONZALEZ-CRUSSI, F. *Medicina: stručné dějiny*. 1. slovenské vyd. Bratislava: Slovart, 2008, 318 s. ISBN 978-80-8085-634-2.

14. Hmotnostní spektrometrie. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. [cit. 2013-05-05]. Dostupné z:  
[http://cs.wikipedia.org/wiki/Hmotnostn%C3%AD\\_spektrometrie](http://cs.wikipedia.org/wiki/Hmotnostn%C3%AD_spektrometrie)
15. KARLÍČEK, Rolf. *Analytická chemie pro farmaceuty*. 3. vyd. Praha: Karolinum, 2007, 281 s. ISBN 978-80-246-1453-3
16. KÁŠ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga VALENTOVÁ. *Laboratorní techniky biochemie*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2005, 258 s. ISBN 80-708-0586-2.
17. KAŠPÁRKOVÁ, Svatava. *Historický vývoj přírodovědného poznání: od starověku do konce 19. století*. Fakulta humanitních studií UTB, Zlín.
18. Kol., *Kronika medicíny.*, Praha, Fortuna Print 1994
19. Kol: *60 let Ústřední vojenské nemocnice*. Pražská vydavatelská společnost, Praha 1998, 71s.
20. LAŠTUVIČKA, Petr. *Produkce Měření koncentrace roztoků spektrofotometrem*. Pardubice, 2009. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice, Fakulta elektrotechniky a informatiky
21. LE FANU, James. *Vzestup a pád moderní medicíny*. 1. vyd. Praha: Academia, 2001, 310 s., 16 s. obr. příl. ISBN 80-200-0879-9.
22. MASOPUST, Jaroslav. *Klinická biochemie: Požadování a hodnocení biochemických vyšetření. I. část*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1998, 429 s. ISBN 80-718-4648-1.
23. MUSIL, Jan a Olga NOVÁKOVÁ. *Biochemie: doplněk učiva chemie pro 2. ročník středních zdravotnických škol*. Vyd. 1. Praha: Scientia medica, 1995, 111 s. Učebnice pro střední zdravotnické školy. ISBN 80-855-2650-6.
24. NIKLÍČEK, Ladislav; ŠTEIN, Karel. *Dějiny medicíny v datech a faktech*. Praha : Avicenum, zdravotnické nakladatelství, n. p., 1985. 376 s.
25. Pavel, Jiří, 1929-, *Biochemie : návody do cvičení*, Vysoká škola zemědělská v Praze. Agronomická fakulta.. Vyd. 1. Praha : Státní pedagogické nakladatelství, 1985. 105 s. ; ISBN (Brož.)
26. PETRÁK, Jiří. *Proteomika- historie a současnost*. Praha, 2012. Součást habilitační práce autora.

27. Porter Roy: *Největší dobrodiní lidstva. Historie medicíny od starověku po současnost*. Prostor, Praha 2001.
28. RACEK, Jaroslav. *Klinická biochemie: stručné dějiny*. 2., přeprac. vyd. Praha: Galén, 2006, 329 s. ISBN 80-726-2324-9.
29. SCHNEIDERKA, Petr. *Kapitoly z klinické biochemie: Požadování a hodnocení biochemických vyšetření. I. část*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2000, 284 s. ISBN 80-246-0140-0.
30. SVOBODNÝ, Petr a Ludmila HLAVÁČKOVÁ. *Dějiny lékařství v českých zemích*. Praha: Triton, 2004, 246 s. ISBN 80-7254-424-1
31. VAN BERGH, H., FINKE, K. *Lidé, kteří změnili svět: 50 slavných osobností, jejich stručné životopisy a obrazové dokumenty*. Bratislava: Mladé letá, 1996. ISBN 80-06-00711-X
32. VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie pro studenty středních škol a všechny, které láká tajemství živé přírody*. 1. vyd. Editor Richard Průša. Praha: Scientia, 1998, 161 s. ISBN 80-718-3083-6.
33. ZABLUDOVSKIJ, Pavel Jefimovič. *Dějiny lékařství: vybrané kapitoly*. 1. vyd. Praha: SZdN, 1955, 63, [1] s.
34. Nemocnice Frýdek-Místek, dostupné z: [www.nemfm.cz/](http://www.nemfm.cz/) oddělení klinické biochemie, (online), [cit. 2013-15-04]

## Obrazový materiál

Obrázek 1: Ebersův papyrus [18]

Obrázek 2: Nákres destilační aparatury podle Zoisma z Panapolis,

<http://en.wikipedia.org/wiki/File:Zosimosapparat.jpg> (1.4.2013)

Obrázek 3: Vyšetření moči středověkým léčitелеm, ŠPIRKOVÁ, Jana:., ÚSTAV KLINICKÉ BIOCHEMIE A DIAGNOSTIKY LÉKARSKÉ FAKULTY A FAKULTNÍ NEMOCNICE HRADEC KRÁLOVÉ. *Vyšetření moče* [prezentace powerpoint]. Hradec Králové, (1.4.2013)

Obrázek 4: Avicenna, DOBIÁŠ, Václav: *Stručné dějiny lékařství a vojenského lékařství*, VLA, Hradec Králové, 1955 (10.5.2013)

Obrázek 5: Galén, DOBIÁŠ, Václav: *Stručné dějiny lékařství a vojenského lékařství*, VLA, Hradec Králové, 1955 (10.5.2013)

Obrázek 6: Paracelsus, <http://www.answers.com/topic/paracelsus> (11.4.2013)

Obrázek 7: Rudolf Ludwig Virchow, <http://www.fmed.uniba.sk/index.php?id=4887> (11.4.2013)

Obrázek 8: Purkyňův mikroskop, DOBIÁŠ, Václav: *Stručné dějiny lékařství a vojenského lékařství*, VLA, Hradec Králové, 1955 (10.5.2013)

Obrázek 9: Leeuwenhoekův mikroskop: <http://www.fmed.uniba.sk/index.php?id=4887> (1.4.2013)

Obrázek 10: Louis Pasteur: [http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Louis\\_Pasteur.jpg](http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Louis_Pasteur.jpg) (1.4.2013)

Obrázek 11: Robert Koch: [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Robert\\_Koch\\_BeW.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Robert_Koch_BeW.jpg) (1.4.2013)

Obrázek 12: Ivan Horbaczewski:

[http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Horbachevsjkyj\\_ivan.jpg](http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Horbachevsjkyj_ivan.jpg) (6.5.2013)

Obrázek 13: biochemická laboratoř- Masarykova městská nemocnice v Jilemnici:

<http://www.nemjil.cz/cz/oddeleni-nemocnice/laboratore/> (6.1.2013)

Obrázek 14: homogenizátor Heidolph – Verkon:

<http://www.verkon.cz/homogenizatory-heidolph/> (2.4.2013)

Obrázek 15: centrifuga: <http://www.unicosci.com/espanol/centri/c8606.htm> (2.4.2013)

Obrázek 16: lyofilizátor Bench Top Pro: <http://www.biotrade.cz/lyofilizace/laboratorni-lyofilizatory/benchtop-pro-186/#fotografie> (2.4.2013)

Obrázek 17: Membránová filtrace- rozdělení membránových procesů podle stupně

separace: <http://www.asio.cz/cz/74.membranove-procesy-pro-upravu-pitne-vody>

(2.4.2013)

Obrázek 18: princip difuze:

<http://www.biologie.webz.cz/www/eukaryota/osmotickejevy.html> (2.4.2013)

Obrázek 19: princip chromatografie 2: [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002_v1/hesla/chromatografie.html)

[002\\_v1/hesla/chromatografie.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002_v1/hesla/chromatografie.html) (2.4.2013)

Obrázek 20: schéma HPLC: <http://www.lcresources.com/resources/getstart/1c01.htm>

(2.4.2013)

Obrázek 21: HPLC: [http://www.b4i.cz/jihoceska-univerzita-v-ceskych-](http://www.b4i.cz/jihoceska-univerzita-v-ceskych-budejovicich/zemedelska-fakulta/katedra-aplikovane-chemie/katedra-aplikovane-)

[budejovicich/zemedelska-fakulta/katedra-aplikovane-chemie/katedra-aplikovane-](http://www.b4i.cz/jihoceska-univerzita-v-ceskych-budejovicich/zemedelska-fakulta/katedra-aplikovane-chemie/katedra-aplikovane-)

[chemie/vysokocinna-kapalinova-chromatografie-hplc-spectra-system-p2000-thermo-separation-products](http://chemie.vysokocinna-kapalinova-chromatografie-hplc-spectra-system-p2000-thermo-separation-products) (7.4.2013)

Obrázek 22: plynová chromatografie schéma: <http://www.eldiag.cz/cz/texty/seznameni-s-plynovou-chromatografii> (7.4.2013)

Obrázek 23: plynový chromatograf: [http://www.lf.upol.cz/fileadmin/user\\_upload/LF-kliniky/soudni-lekarstvi/fotogalerie/Plynovy\\_chromatograf\\_Perkin\\_Elmer\\_GC\\_AS\\_XL\\_-\\_alkoholova\\_laborator.jpg](http://www.lf.upol.cz/fileadmin/user_upload/LF-kliniky/soudni-lekarstvi/fotogalerie/Plynovy_chromatograf_Perkin_Elmer_GC_AS_XL_-_alkoholova_laborator.jpg) (7.4.2013)

Obrázek 24: princip hmotnostní spektrometr: [http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD\\_DS4/hypertext/JVATE.htm](http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS4/hypertext/JVATE.htm) (7.4.2013)

Obrázek 25: gelová elektroforéza: [http://opvk2011.ptacisvet.cz/?title=popis\\_metod-gelova\\_elektroforeza&lang=cz](http://opvk2011.ptacisvet.cz/?title=popis_metod-gelova_elektroforeza&lang=cz) (11.4.2013)

Obrázek 26: schéma spektrofotometr: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Spektrofotometr.jpg> (20.4.2013)

Obrázek 27: spektrofotometr 6850 (Jenway/ Bibby Scientific): <http://www.eastport.cz/spektrofotometr-6850-jenway-bibby-scientific.html> (20.4.2013)

Obrázek 28: turbidimetrie a nefelometrie: [http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Turbidimetrie\\_a\\_nefelometrie.png](http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Turbidimetrie_a_nefelometrie.png) (2.2.2013)


Obrázek 29: princip imunochemie: <http://www.che.uc.edu/sensors/research.html> (7.5.2013)

Obrázek 30: barevný vzorník moči : [http://www.springermedizin.at/cms/layout/picture.php?pic\\_id=24292&pic=/img/db/pics/24296.jpg](http://www.springermedizin.at/cms/layout/picture.php?pic_id=24292&pic=/img/db/pics/24296.jpg) (17.1.2013)

## 8 PŘÍLOHY PRÁCE

### Příloha 1

Tabulka 1: Přehled vyšetřování lidského biologického materiálu

Materiál	období	místo	poznámky
moč	asi 500 př. n. I. starověk	Řecko, Řím	uroskopie 
	současnost		Při analýze moči se využívá celé spektrum metod od nejjednodušších barevných a srážecích zkušavkových reakcí až po náročné a automatizované metody, jako je průtoková cytometrie nebo imunochemické analýzy. Díky diagnostickým proužkům lze základní vyšetření provést nejen v podmínkách laboratoře, ale přímo v ordinacích či u lůžka nemocného.
krev	asi 400 př. n. I.	Řecko	starořecký filosof Empedokles ztotožnil krev s životem

Obrázek 30: Barevný vzorník moči



	do 15. století		koupele v krvi, pití krve lidé věřili v její léčivou schopnost, schopnost omlazení
	1616	Velká Británie	objev krevního oběhu (William Harvey)
	1665		první doložený krevní převod mezi dvěma psi
	1667		první krevní transfuze člověku z jehněte, nesetkalo se s velkým úspěchem- zanevření na studium krevních transfuzí, později uvědomění si že zvířecí krev nelze podat člověku
	od r. 1819		pouze z poloviny úspěšné transfuze lidí, neznalost krevních skupin!
	1901	Rakousko- Uhersko	objevení 3 krevních skupin (Karl Landsteiner)
	1907		objevení 4 krevních skupin (Jan Janský)
	1941	Rakousko	objevení Rh faktoru (Karl Landsteiner, A. S. Wiener)
sperma		Velká Británie	objevitel genetické informace Alec Jeffreys poprvé použil pro účely kriminálníky identifikaci osoby po masovém testování spermatu mužů, muž byl usvědčen a odsouzen za vraždu a znásilnění dvou mladých dívek
			dnes se sperma běžně testuje např. pro zjištění plodnosti
sliny, sklivec, vlasy, mozkomíšni mok, krev,	současnost		dnes využití pro různá vyšetření, např. v toxikologii

krevní sérum, moč			
stolice	současnost		pro mikrobiologická vyšetření, mikroskopická vyšetření, zjištění krvácení popř. zjištění přítomnosti vředu či nádoru
sputum			pro cytologická, mikrobiologická vyšetření
biopsie			pro histologická, cytologická, imunohistochemická vyšetření, důležitý význam v onkologii
části orgánů či jiného lidského materiálu (např. tumory)			pro histologická, cytologická, imunohistochemická vyšetření - často pitevní materiál - zjišťování onemocnění, popř. příčiny úmrtí

## Příloha 2

Tabulka 2: Přehled některých mezníků dějin laboratorních metod a souvisejících poznatků

Rok	Objev	Objevitel	Poznámky
1772	Objev kyslíku, jeho spotřebovávání živočichy a produkce rostlinami	Carl Wilhelm Scheele	- Někteří autoři uvádějí rok 1770 nebo 1774 a jméno Joseph Priestley - na obojím bude něco pravdy, J. Priestley svůj objev nejspíše jako první <i>publikoval</i>
1770-1790	Izolace glycerolu, kyseliny mléčné, citronové, močoviny	Carl Wilhelm Scheele, Rouelle	
1783	Důkaz, že trávení je chemický proces	Lazzaro Spallanzani	- Během procesu trávení dochází za pomoci hydrolytických enzymů k rozkladu potravy na jednodušší látky
1806	Izolace první aminokyseliny	Louis-Nicolas Vaquelin	- jednalo se o asparagin, byl vyizolován z chřestů - v roce 1812 William Hyde Wollaston objevil cystin v moči
1833	Izolace prvního enzymu	Anselme Payen	- enzym amyláza - roku 1835 A. Payen izoloval a pojmenoval celulózu
1864	První krystalizace proteinu	Felix Hoppe-Seyler	- protein hemoglobin
1869	Objev DNA	Friedrich Miescher	- struktura molekuly DNA byla objasněna až v polovině 50. let 20. století
1892	objev elektroforézy		- objev toho, že anorganické částice v koloidním roztoku působením elektrického pole nenáhodně putují - první elektroforetickou aparaturu sestavil roku 1937 Arne Tiselius - roku 1948 obdržel za svůj příspěvek Nobelovu cenu
1893	Důkaz, že enzymy jsou katalyzátory	Wilhelm Ostwald	- roku 1909 oceněn Nobelovou cenou za chemii
1897	Důkaz chemické povahy kvašení	Eduard Büchner	- důkaz o tom, že ke kvašení není třeba živých organismů,

			ale stačí jejich enzymy - roku 1907 oceněn Nobelovou cenou za chemii
1897	Objev elektronu	J. J. Thomson	- rozhodující vliv na další vývoj chemie a ostatních přírodních věd
1902	Důkaz polypeptidové povahy proteinů	Emil Fischer	
1903	Objev chromatografie	Michail Semjonovič Cvět	-viz kapitola 5.2.3
1905	Izolace prvního koenzymu	Arthur Harden, William Young	- koenzym NAD - koenzym= nízkomolekulární látka nebiřkovinné povahy, která tvoří součást složeného enzymu - koenzym NAD (nikotinamidadeninukleotid) přenáší redukční ekvivalenty z katabolických dějů do dýchacího řetězce
1905	První návrh metabolického schématu	Georg Franz Knoop	- metabolické schéma $\beta$ -oxidace  - $\beta$ -oxidace je zdrojem energie např. savců
1907	Objev 4 krevních skupin	Jan Janský	-viz kapitola 4.1
1922	Objev polarografie	Jaroslav Heyrovský	- J.Heyrovský obdržel roku 1959 Nobelovu cenu za chemii
1925	Objevení polynukleotidové povahy DNA	Phoebus Levene	- P. Levene rozpoznal, že DNA se skládá z cukrů, fosfátů a bází
1928	Izolace vitamínu C	A. Szent-Gyorgyim	- vitamin C byl prvním chemicky určeným vitamínem
1933	Prostudován močovinný cyklus	Hans Adolf Krebs, Kurt Henseleit	- močovinný cyklus napomáhá tělu zbavovat se přebytečného dusíku (vylučován močí)
1937	Prostudován Krebsův cyklus	Hans Adolf Krebs	- Krebsův cyklus (též citrátový cyklus) tvoří společnou metabolickou dráhu při aerobní oxidaci sacharidů, proteinů a lipidů
1944	Zjištění že DNA je nositel genetické informace	O. Avery a další	
1950	Zavedení plynové chromatografie		- umožněna rychlá analýza směsí, které byly dříve

			analyzovány jen s velkými obtížemi
1951	Návrh struktury $\alpha$ -helixu	Linus Pauling, Robert Corey	- $\alpha$ -helix (alfa šroubovice) je jeden ze základních prostorových uspořádání bílkovin
1953	První sekvence proteinu	Frederick Sanger	- protein inzulin - F. Sanger je dvojnásobným nositelem Nobelovy ceny, z roku 1958 za určení struktury inzulinu, z roku 1980 za metodu zjišťování struktury bílkovin, nukleových kyselin, virů,..spolu s ním cenu obdržel genetik W.Gilbert a P.Berg (jeden ze zakladatelů genového inženýrství)
1953	Návrh struktury dvojšroubovice DNA	James D. Watson, Francis Crick	- postupný vznik oboru „molekulární biologie“
1957	Objevení prostorové struktury proteinu	John Kendrew	- protein myoglobin - J. Kendrew byl v roce 1962 oceněn Nobelovou cenou za chemii, společně s M. Perutzem
1969	První syntéza enzymu	Robert Bruce Merrifield, Denckenwater	- enzym RNAza - R. B. Merrifield byl v roce 1984 oceněn Nobelovou cenou za chemii, za objevení SPPS (sekvenční syntéza peptidů)
1970	První syntéza genu	Har Gobind Khorana	- gen kódující aminokyselinu alanin - H. G. Khorana je nositelem Nobelovy ceny
1971	Model struktury biologických membrán	S. J. Singer, G. L. Nicolson	- „model tekuté mozaiky“
1975	Příprava monoklonálních protilátek	F. Köhler, Caesar Milstein	- monoklonální protilátka (MP)= protilátka získaná z klonální populace jedné buňky - v současnosti jsou MP hojně využívány např. v imunoterapii
1977	Objev metody sekvenování DNA	W. Gilbert, F. Sanger	- metoda slouží k určení přesné nukleotidové sekvence DNA (RNA) řetězce - F. Sanger v roce 1980 oceněn Nobelovou cenou - v tomto roce také zjištění úplné genové sekvence viru

1986	Objev PCR (polymerázová řetězová reakce)	Kary Mullis	- PCR slouží k mnohonásobnému zmnožení požadovaného úseku DNA (RNA) - jedna z nejvyužívanějších technik molekulární biologie - roku 1993 byl K. Mullis oceněn Nobelovou cenou
1995	Kompletní DNA sekvence bakterií		- <i>Haemophilus influenzae</i>
1996	Kompletní DNA sekvence eukaryot		- <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
1997	První klonovaný savec		- ovce Dolly
2000	Kompletní DNA sekvence <i>Drosophila melanogaster</i> („banánová muška“)		
2001	Kompletní DNA sekvence člověka		- Human Genome Project (HUGO) – mnoho laboratoří po světě si rozdělilo lidský genom na menší části - trvalo to více než 11 let
2010	Bakterie Synthia- první umělý organismus	tým biologa Craig Ventera (USA)	- bakterie žije díky zcela umělé DNA, kterou biotechnologové vložili do běžné bakteriální buňky pečlivě zbavené původního genetického materiálu