

1. ÚVOD . . . . .	7
1.1 Vnější a vnitřní metabolické vztahy organismu - předmět zkoumání klinické biochemie . . . . .	8
1.2 Rozdělení a složení tělesných tekutin . . . . .	10
1.3 Kompartmentace, modely . . . . .	13
1.4 Příprava biologického materiálu . . . . .	16
1.5 Stabilita látek ve vzorcích . . . . .	17
1.6 Deproteinace vzorku . . . . .	19
1.7 Analytické metody v klinické biochemii . . . . .	20
2. OPTICKÉ METODY V KLINICKÉ BIOCHEMII . . . . .	22
2.1 Přístrojové vybavení . . . . .	22
2.1.1 Absorpční spektrofotometrie . . . . .	22
2.1.2 Fluorimetrie a luminometrie . . . . .	25
2.1.3 Turbidimetrie, nefelometrie . . . . .	26
2.1.4 Emisní plamenová spektrofotometrie . . . . .	26
2.1.5 Atomová absorpční spektrofotometrie . . . . .	27
2.1.6 Reflexní fotometrie . . . . .	29
2.2 Analytické aspekty optických metod . . . . .	30
2.2.1 Metoda kalibrační křivky . . . . .	30
2.2.2 Metoda standardního přídavku . . . . .	31
2.2.3 Přímý výpočet z Bouguer-Lambert-Beerova zákona . . . . .	32
2.2.4 Metoda s použitím vnitřního standardu . . . . .	32
2.2.5 Metoda jednoho standardu . . . . .	32
2.3 Citlivost optických metod . . . . .	32
2.4 Mez stanovitelnosti (postřehu) . . . . .	33
2.5 Přímé měření . . . . .	34
2.6 Chemické reakce . . . . .	34
2.6.1 Rychlé reakce . . . . .	34
2.6.2 Pomalé reakce . . . . .	34
2.6.3 Následné reakce . . . . .	35
2.7 Určování koncentrace z reakční kinetiky . . . . .	36
2.8 Enzymová reakce . . . . .	38
2.8.1 Využití enzymových reakcí pro stanovení koncentrace substrátů . . . . .	39
2.8.2 Přímé měření - end point . . . . .	39
2.8.3 Tažení reakce - trapping . . . . .	40
2.8.4 Následné enzymové reakce . . . . .	41
2.8.5 Regenerační testy . . . . .	42
2.8.6 Určování koncentrace substrátů kontinuálním měřením reakcí katalyzovaných enzymy . . . . .	42
2.9 Měření katalytických aktivit enzymů optickými metodami . . . . .	43
2.9.1 Přímé měření . . . . .	43
2.9.2 Měření s indikační chemickou reakcí . . . . .	45
2.9.3 Měření s indikační následnou enzymovou reakcí . . . . .	45

2.10	Výpočet katalytické aktivity . . . . .	46
2.11	Isoenzymy . . . . .	47
2.12	Interference léků při použití biochemických vyšetření . . . . .	48
2.12.1	Biologické mechanismy interference . . . . .	49
2.12.2	Analytická interference léčiv . . . . .	50
3.	ELEKTROCHEMICKÉ METODY . . . . .	51
3.1	Iontově selektivní elektrody . . . . .	51
3.2	Instrumentální aspekty použití iontově selektivních elektrod . . . . .	54
3.3	Analytické aspekty použití iontově selektivních elektrod . . . . .	54
3.4	Ampérometrické stanovení kyslíku . . . . .	55
3.5	Enzymové elektrody . . . . .	57
3.6	Polarografie . . . . .	57
4.	ELEKTROFOREZA . . . . .	59
4.1	SeparáčnÍ postupy . . . . .	59
4.2	Základní údaje . . . . .	59
4.3	Detekční postupy . . . . .	61
4.4	Vyhodnocení . . . . .	65
5.	IMUNOCHEMICKÉ TECHNIKY . . . . .	67
5.1	Interakce antigen - protilátka, základ imunochemických analytických postupů . . . . .	67
5.2	Specifičnost interakce antigen - protilátka, křížové reakce, monospecifické a monoklonální protilátky . . . . .	69
5.3	Precipitace v kapalnÉ fázi . . . . .	72
5.4	Precipitační analýzy v gelu . . . . .	72
5.4.1	Metody kvalitativní analýzy . . . . .	73
5.4.1.1	Imunoelektroforeza . . . . .	73
5.4.1.2	Protisměrná elektroforeza . . . . .	74
5.4.1.3	Dvojitá radiální imunodifúze . . . . .	74
5.4.2	Metody kvantitativní analýzy . . . . .	74
5.4.2.1	Jednoduchá imunodifúze . . . . .	74
5.4.2.2	Radiální imunodifúze . . . . .	75
5.4.2.3	Elektroimunodifúze . . . . .	76
5.4.2.4	Dvojozměrná imunoelektroforeza . . . . .	77
5.5	Imunochemické analytické metody se značenými molekulami . . . . .	77
5.5.1	Radioimunochemické stanovení . . . . .	77
5.5.2	Enzymimunochemické stanovení . . . . .	79
5.5.3	Fluoroimunochemické stanovení . . . . .	80
5.5.4	Jiná značení používaná v imunochemii . . . . .	81
6.	METÓDY REKOMBINANTNEJ DNA PRI ANALÝZE ĽUDSKÉHO GENÓMU A MAPOVANÍ GÉNOV V KLINICKEJ GENETIKE . . . . .	83
6.1	Úvod . . . . .	83
6.2	Molekulárna a funkčná anatómia ľudského genómu . . . . .	83
6.3	Klasifikácia genetických ochorení . . . . .	85
6.4	Mapovanie génov v klinickej medicíne . . . . .	85
6.5	Identifikácia neznámeho génu a jeho produktu metódami rekombinantnej DNA . . . . .	86

6.6	Diagnostika gónových porúch pomocou DNA sond a restrikčných endonukleáz . . . . .	87
6.7	Voľba DNA diagnostickej metódy . . . . .	90
6.8	Mapovanie gónov a ich terapia . . . . .	91
6.9	Hlavné metódy molekulárnej genetiky . . . . .	93
7.	ANALYTICKÉ METODY STANOVENÍ NEJBĚŽNĚJŠÍCH KONSTITUENTŮ V KRVI . . . . .	98
7.1	Metabolity . . . . .	98
7.2	Stanovení léčiv . . . . .	111
7.3	Elektrolyty . . . . .	112
7.4	Stanovení katalytických aktivit enzymů . . . . .	116
8.	VYŠETRENIE MOČA . . . . .	125
8.1	Fyzikálne vyšetrenie moča . . . . .	125
8.2	Chemické vyšetrenie moča . . . . .	127
8.2.1	Bežné vyšetrenia . . . . .	128
8.3	Vyšetrovanie solutov . . . . .	131
8.4	Funkčné vyšetrenie obličiek . . . . .	132
8.5	Špeciálne vyšetrenia . . . . .	132
8.6	Morfologické vyšetrenia moča . . . . .	133
9.	PŘÍSTROJOVÁ TECHNIKA V KLINICKO-BIOCHEMICKÝCH LABORATOŘÍCH . . . . .	136
9.1	Analytické systémy . . . . .	137
9.1.1	Průtokové analyzátory . . . . .	138
9.1.2	Diskrétní analyzátory . . . . .	140
10.	VYUŽITÍ STATISTICKÝCH VÝPOČTU V KLINICKÉ BIOCHEMII . . . . .	142
10.1	Základní pojmy . . . . .	142
10.2	Referenční hodnoty . . . . .	145
10.2.1	Stanovení referenčních hodnot . . . . .	145
10.2.2	Tvar rozdělení . . . . .	145
10.2.3	Problém odlehlých hodnot . . . . .	147
10.3	Korelace hodnot . . . . .	147
10.4	Charakteristika analytické metody . . . . .	148
10.5	Optimalizace metod . . . . .	149
10.6	Srovnání dvou souborů . . . . .	151
10.6.1	Test významnosti dvou rozptylů . . . . .	151
10.6.2	Test významnosti rozdílu středních hodnot dvou souborů . . . . .	152
10.7	Laboratorní kontrola kvality analýz . . . . .	153
11.	STATISTICKÉ TABULKY . . . . .	155