

# 3.

## Glukóza, glykovaný hemoglobin, glykované proteiny

Glukóza: referenční hodnoty, definitivní a referenční metoda, glukózaoxidázová metoda a interference stanovení, glukózadehydrogenázová metoda, elektrochemické metody, reflexní fotometrie.

Glykace hemoglobinu, hemoglobin u dospělých, referenční meze pro HbA1c, stanovení GHb: iontově výměnnou chromatografií, afinitní chromatografií, elektroforézou, inhibicí aglutinace.

Glykované proteiny – mechanismus glykace, stanovení ve formě formazanů.

Konečné produkty rozvinuté glykace a jejich stanovení: fluorimetricky, radioreceptorovou analýzou, ELISA.

**Počet hodin:** 1

**Přednášející:** Štern

## Cholesterol, fosfolipidy, triacylglyceroly, mastné kyseliny, lipoproteiny, apolipoproteiny

Cholesterol: charakteristika, referenční metoda, enzymová metoda, stanovení frakcí cholesterolu, ultracentrifugace.

Apolipoproteiny: imunochemicky, izoelektrickou fokuzací, elektrolýzou v PAGE.

Fosfolipidy: charakteristika, metody: extrakce s fotometrií, enzymová metoda, TLC.

FFA: extrakce s fotometrií, titrace, GLC, TLC.

Triacylglyceroly: charakteristika, enzymové metody, TLC, GLC.

Žlučové kyseliny: charakteristika, taurinové a glycinové deriváty, GLC, HPLC, enzymová metoda a možnosti zesílené detekce, RIA, ELISA.

Analytické příčiny odchylek při stanovení lipidů, problémy při stanovení apolipoproteiny, možnosti standardizace stanovení lipidů.

**Počet hodin:** 2

**Přednášející:** Štern

## Stanovení iontů

Sodné a draselné ionty: iontově selektivní elektrody (přímé a nepřímé metody), enzymové metoda, kryptandy, plamenová fotometrie.

Lithné ionty: iontově selektivní elektroda a plamenová fotometrie.

Vápník: Ca<sup>2+</sup> elektroda, definitivní a referenční metoda, plamenová fotometrie, chelatometrické

titrace, fluorescenční a fotometrické metody.

Hořčík: referenční metoda, enzymové stanovení a klasické fotometrické metody, fluorimetrické stanovení, komplexometrie, gravimetrie, plamenová fotometrie, iontově selektivní elektroda.

Železo: AAS, fotometrické metody, vazebná kapacita železa. Měď: AAS, fotometrické metody, polarografie. Zinek: AAS.

Chloridy: referenční metoda, iontově selektivní elektroda, argentometrie, fotometrické metody, merkurimetrie. Hydrouhličitan: titračně, plynovou sondou. Fosfáty: metody bez redukce a redukční metody, izotachoforéza, enzymové metody.

**Počet hodin:** 4

**Přednášející:** Štern

### **Celková bílkovina, albumin, fibrinogen**

Celková bílkovina: referenční rozmezí, charakteristika, biuretová reakce a interference, Folin-Lowryho modifikace, referenční metoda, turbidimetrie, nefelometrie, použití absorpčních barviv.

Albumin: charakteristika, elektroforéza, použití absorpčních barviv, frakční vysolování.

Fibrinogen: referenční hodnoty, charakteristika, klasická metoda stanovení a její varianty, vysolovací techniky, imunochemické stanovení, využití tepelné lability, elektroforéza, enzymová metoda.

**Počet hodin:** 1

**Přednášející:** Štern

### **Aminokyseliny, specifické proteiny**

Analýzy aminokyselin v biologických materiálech: screeningové testy, kvantitativní testy pro sledování nebo potvrzení diagnózy, kvantitativní testy pro jednotlivé aminokyseliny (příklady). Přehled metod specifických proteinů. Obecná charakteristika imunochemických metod stanovení proteinů, stanovení imunoglobulinů, analýza proteinů komplementu, paraproteiny.

**Počet hodin:** 2

**Přednášející:** Vávrová

### **Volné kyslíkové radikály**

Chemie, biochemie, metabolismus volných kyslíkových radikálů (VKR). Charakteristika, zdroje VKR, enzymy významné pro vznik VKR, ochranné mechanismy, působení reaktivních forem kyslíku a poškození DNA. Přehled parametrů a metod stanovení ukazatelů oxidativního stresu (SOD, GPx, glutathion, vitaminy, celková antioxidační kapacita, MDA, diagnostika poškození DNA vlivem působení volných radikálů).

**Počet hodin:** 2

**Přednášející:** Vávrová

### **Testování spolehlivosti analytických metod**

Výklad pojmů validace, pracovní rozsah, linearita, analytická citlivost, detekční limit, mez stanovitelnosti, blank, analytická specifita, interference, zpětný výtěžek, kalibrace. Spolehlivost analytického měření - přesnost, opakovatelnost, reprodukovatelnost, měření mezi dny, správnost, pravdivost, bias. Srovnání metod. Řešený příklad: glukóza v séru, příklad imunochemické aplikace diagnostické soupravy.

**Počet hodin:** 2

**Přednášející:** Vávrová

### **Fyzikální vyšetření moče: bílkoviny, cukry, ketolátky, porfyriny, žlučová barviva, osmolalita moče, dusitany, mikroskopie moče, průtoková cytometrie. Konkrementy.**

Získání moče pro vyšetření. Podmínky odběru a transportu moče. Vyšetření reagenčními proužky, principy chemického stanovení jednotlivých analytů a skupin analytů, interference. Zajištění jakosti při chemickém vyšetření moče. Úprava moče pro morfologické vyšetření. Vlastní způsob morfologického vyšetření, vydávání výsledků a standardizace. Možnosti přístrojové analýzy. Typy konkrémentů a jejich vlastnosti, možnosti průkazu a kvantifikace jednotlivých složek.

**Počet hodin:** 2

**Přednášející:** Jabor

### **Základy imunochemických metod**

Specifita protilátek, vlastnosti imunokomplexu, typická molekula antigenu a protilátky – vlastnosti její vazebné kapsy, faktory ovlivňující vazbu, výroba monoklonálních protilátek.

Značení při imunoanalýzách, jejich citlivost, specifita a spolehlivost, imunochemické analyzátoary.

Imunoturbidimetrie a imunonefelometrie, radioimunochemie,  $\gamma$ -počítače, enzymová homogenní a heterogenní imunoanalýza, fluorescenční homogenní a heterogenní imunoanalýza, zesílená luminiscence, magnetická luminiscenční imunoanalýza, chemiluminiscence zesílená enzymem, elektroluminiscence.

**Počet hodin:** 4

**Přednášející:** Štern

## **Aplikace imunoanalytických metod**

Přehled metod se značkou – RIA, ELISA, CLIA, FPIA, CEDIA, EMIT. Výhody a nevýhody systémů. Využití jednotlivých postupů, aplikace v provozu laboratoře. Stanovení hormonů. Stanovení léků. Aplikace pro POCT. Stanovení vybraných analytů.

**Počet hodin: 3**

**Přednášející:** Šprongl

## **Miniaturizace imunometod, mikročipy**

Přehled technik vedoucích k miniaturizaci. Mikročipy, biosensory, microarray. Popis přípravy technik a principů měření. Oblasti využití a konkrétní postupy. Dostupná přístrojová technika.

**Počet hodin: 1**

**Přednášející:** Šprongl

## **Enzymy**

AST a ALT: charakteristika, patologické změny, metody IFCC, orientační stanovení.

ALP: charakteristika, výskyt, referenční hodnoty, patologické změny, použití 4-nitrofenylfosfátu a dalších substrátů ke stanovení ALP – požadavky na pufrы, elektroforéza, inaktivace teplem, inhibiční a srážecí metody.

ACP: charakteristika, izoenzymy, patologické změny, použití 4-nitrofenylfosfátu a dalších substrátů ke stanovení, interference.

GMT: funkce, výskyt, normální hodnoty, metoda s karboxylovaným nitroanilidem.

GMD: výskyt, klinický význam, stanovení.

AMS: výskyt, klinický význam, chromogenní metody, kinetika při 340 nm, přímé stanovení; izoenzymy: elektroforéza, gelová filtrace, ionexová chromatografie, izoelektrická fokuzace, inhibiční metody.

LPS: funkce, klinický význam, titrační metody, turbidimetrické metody, enzymová imunoanalýza, fotometrická stanovení.

CK: funkce, klinický význam, časový průběh patologických změn, stanovení; izoenzymy: elektroforéza, imunoinhibice, imunoprecipitace, iontoměničová chromatografie.

LD: klinický význam, optický test; izoenzymy: elektroforéza, imunochemické metody, iontově výměnná chromatografie, dělení dle termostability, inhibiční metody, dělení dle substrátové specifity.

CHS: pravá a pseudocholinesteráza, klinický význam, metody stanovení hydrolýzou esterů thiocholinu.

LAS: klinický význam, použití různých substrátů při stanovení aktivity LAS.

Elastáza: funkce, dvě formy elastázy, patologické změny, imunochemické stanovení ve stolici.

**Počet hodin:** 4

**Přednášející:** Štern