Glucose

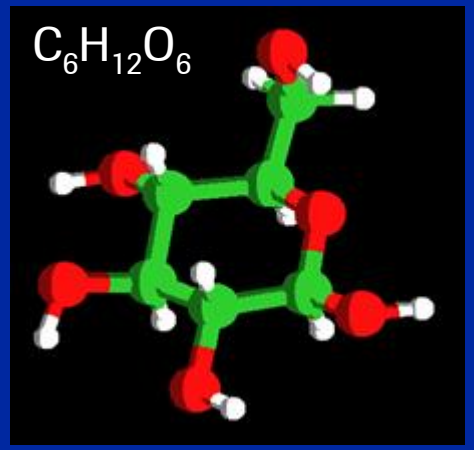
- eine Delikatesse der Biophotonik

Priv.-Doz. Dr. Wolfgang Petrich
Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, und
Kirchhoff-Institut für Physik, Universität Heidelberg

I. Glucose

Glucose ist der wichtigste Parameter für die Erkennung und Behandlung der Volkskrankheit Diabetes mellitus

- gestörter Glucose-Metabolismus
  ⇔ Diabetes mellitus
- ~ 200 Mio. Menschen mit Diabetes mellitus weltweit
- Langzeitkomplikationen
  - Retinopathie (→ Erblindung)
  - Neuropathie (→ Amputation)
  - Herz-Kreislauf Erkrankungen (→ Herzinfarkt)
- häufige Kontrolle der Glucosekonzentration im Blut
  → Risikominimierung für Langzeitkomplikationen



ß-D-Glucopyranose (62%)
"Traubenzucker"

I. Glucose

– eine Delikatesse der Biophotonik

- **Reagens-basierter optischer Nachweis** → **II.**
  - Lichtstreuung *Remissionsphotometrie*
  - Fluoreszenz *Fluoreszenzspektroskopie*
  - …
- **Reagens-freier Zugang zur Glucosekonzentration** → **III.**
  - optische Aktivität *Polarimetrie*
  - Brechungsindex *Refraktometrie*
  - Dipolmoment *Infrarotspektroskopie*
  - Polarisierbarkeit *Ramanspektroskopie*
  - …..

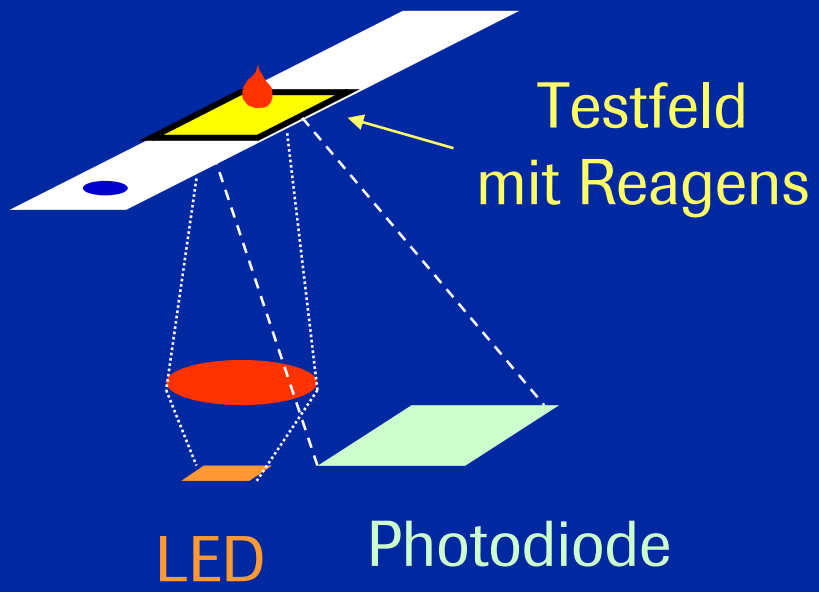
II. Reagens-basierte Optosensorik

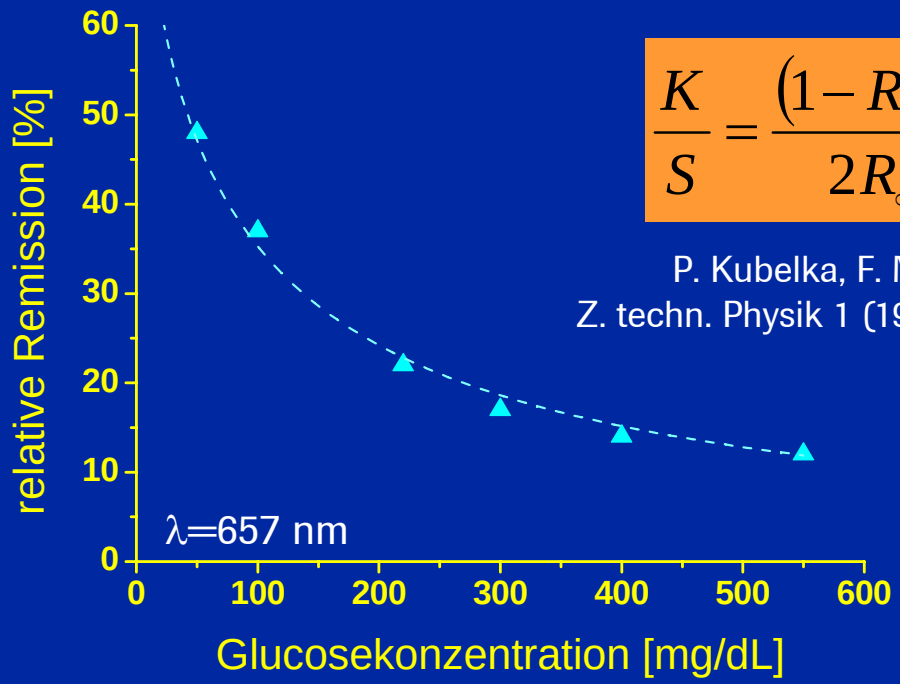
Remissionsphotometrie an Glucoseteststreifen

$$\alpha - D\text{-}\ glucose \leftrightarrow \beta - D - glucose$$

$$\beta - D - glucose + H_2O + O \xrightarrow{GOD} \beta - D - gluconolactone + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + dye_{red} \rightarrow H_2O + dye_{ox}$$





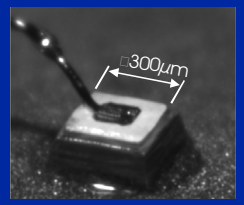
$$\frac{K}{S} = \frac{(1-R_\infty)^2}{2R_\infty}$$

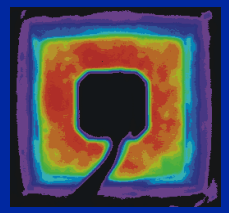
P. Kubelka, F. Munk,
Z. techn. Physik 1 (1931) 593-601

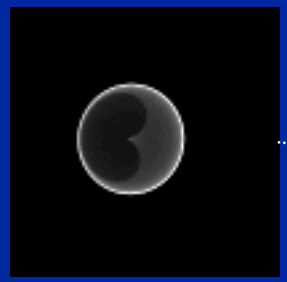
II. Reagens-basierte Optosensorik

Simulation des optischen Layouts der Beleuchtung

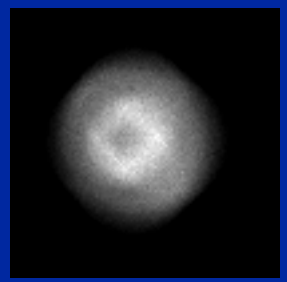
Simulation mit Punktlichtquelle



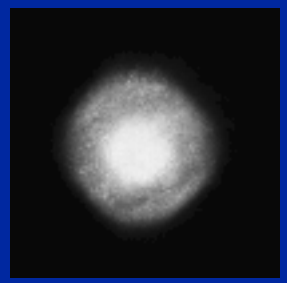


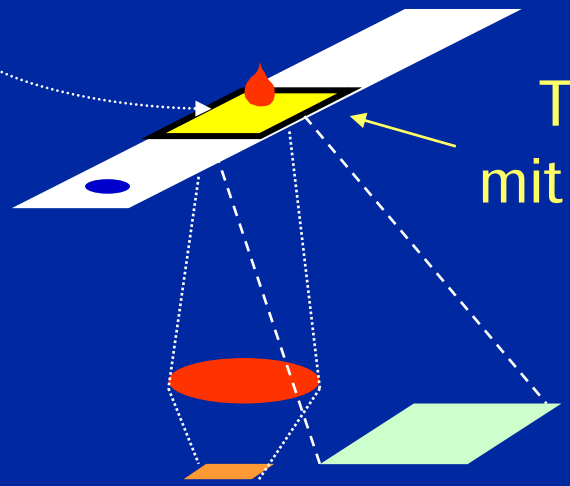


Simulation mit goniometrisch bestimmter Abstrahlcharakteristik der LED



Experimentelle Beobachtung des Leuchtflecks



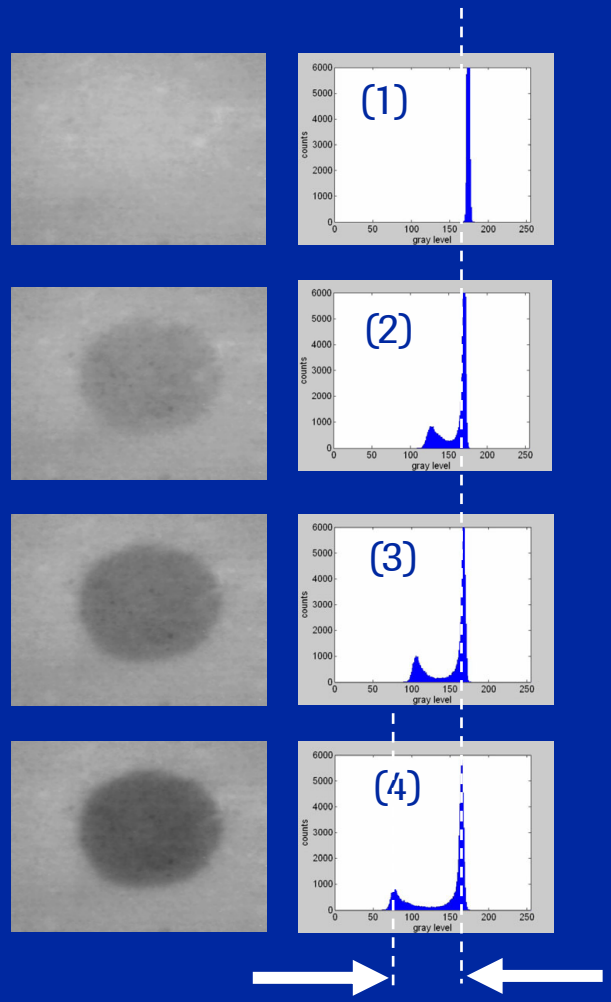


O. Diehl, M. Weigel, Diplomarbeiten, Hochschule Ravensburg-Weingarten

in Zusammenarbeit mit Prof. E. Hamer und Opsira GmbH

II. Reagens-basierte Optosensorik

Systemintegration erfordert ortsaufgelöste Detektion und Bildanalyse

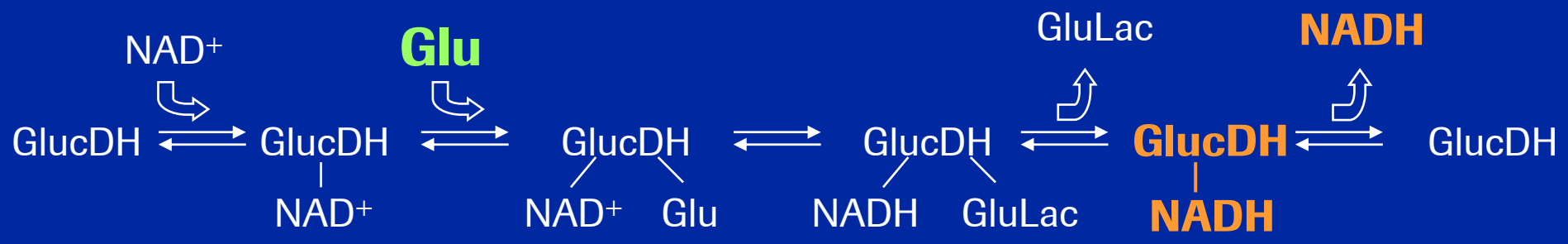


	classical	*histogram*
Speicherbedarf	≥ 10.000 byte	2 × 256 byte
CPU Taktrate	20 MHz	1 MHz
Strombedarf	> 10 mA	< 1mA

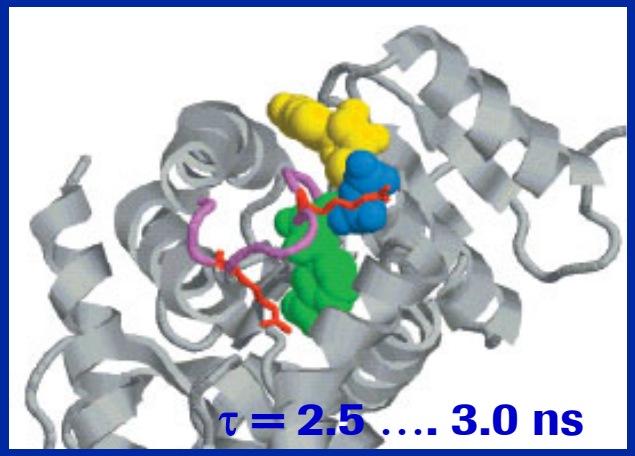
W. Petrich, H.-P. Haar, J.-M. Asfour, G. Kocherscheidt, Europäische Patentanmeldung EP 1 843 148

II. Reagens-basierte Optosensorik

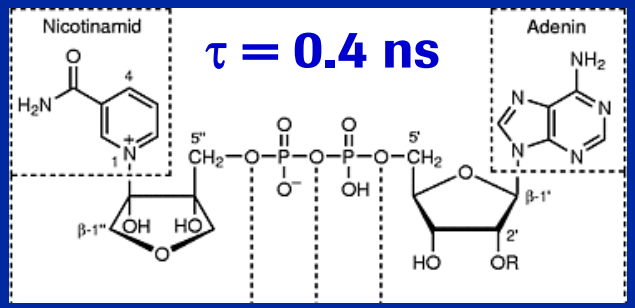
Fluoreszenzlebensdauer erlaubt Unterscheidung zwischen freiem und komplexiertem NADH ⇒ Glucosebestimmung



Glu:	Glucose
GlucDH:	Glucosedehydogenase
GluLac:	Gluconolactone
NAD+:	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADH:	Dihydro-Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid



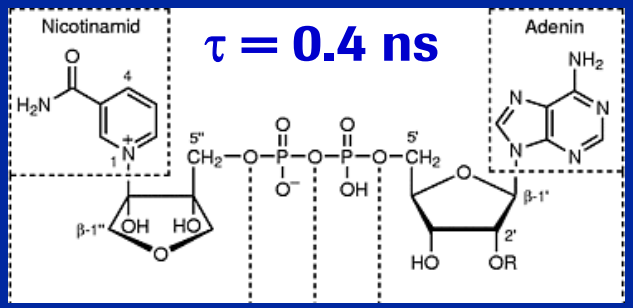
GlucDH-NADH Komplex:



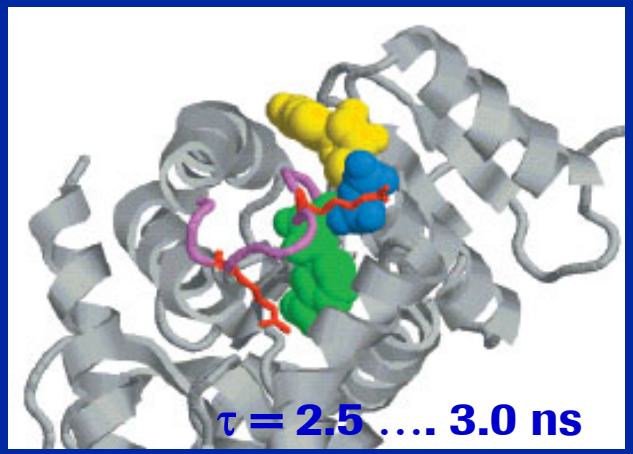
freies NADH in Wasser

II. Reagens-basierte Optosensorik

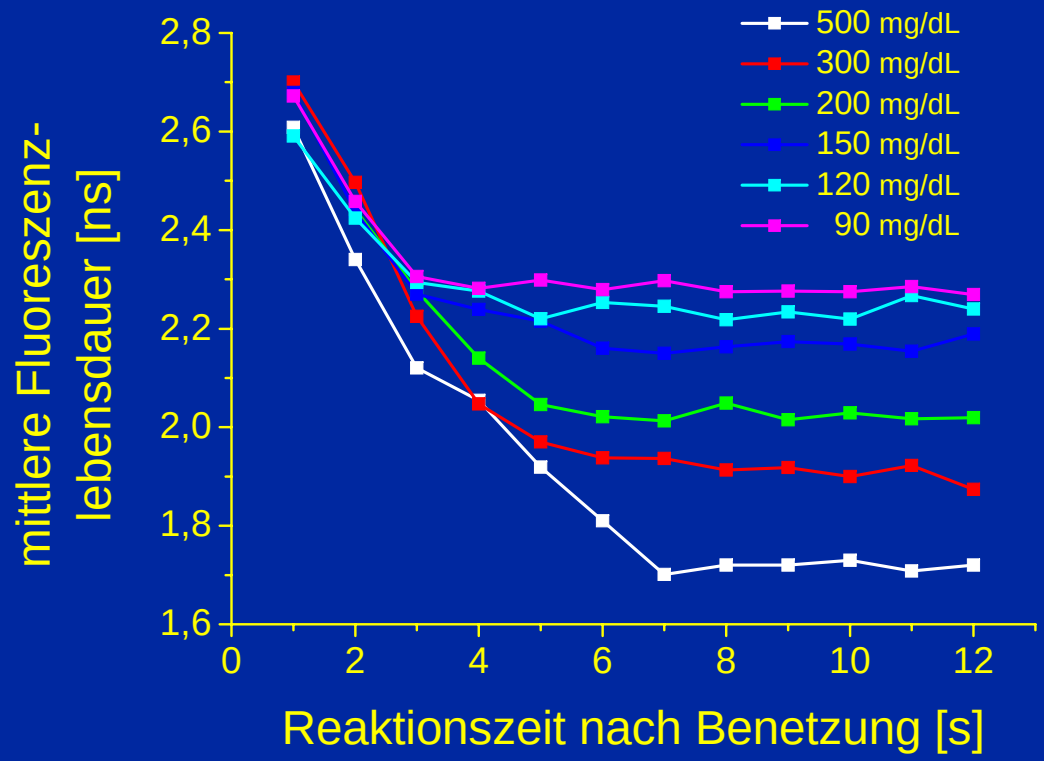
Fluoreszenzlebensdauer erlaubt Unterscheidung zwischen freiem und komplexiertem NADH ⇒ Glucosebestimmung



freies NADH in Wasser



GlucDH-NADH Komplex:

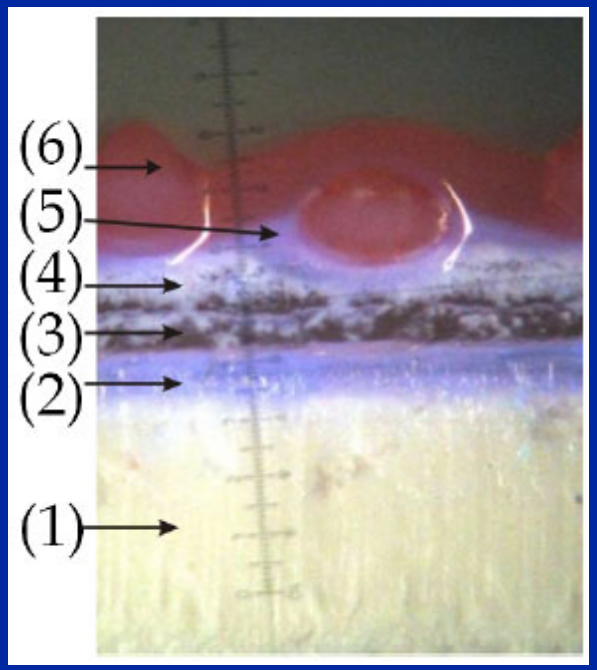


in Zusammenarbeit mit:

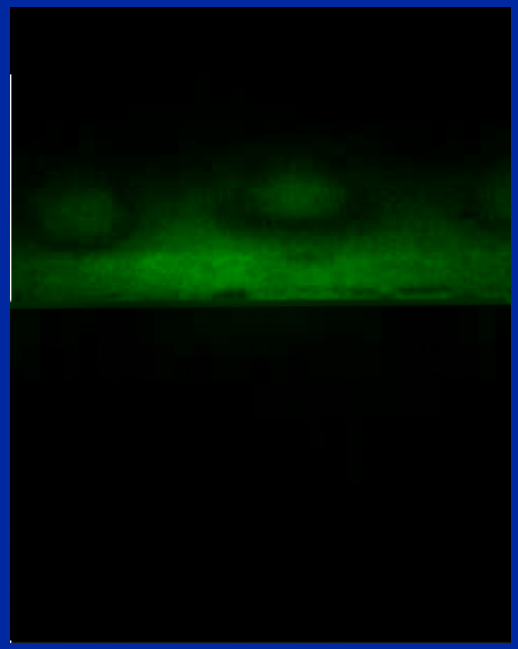
M. Wagner, Prof. H. Schneckenburger, Hochschule Aalen
D. Siegberg, PD Dr. D. Herten, Universität Heidelberg

II. Reagens-basierte Optosensorik

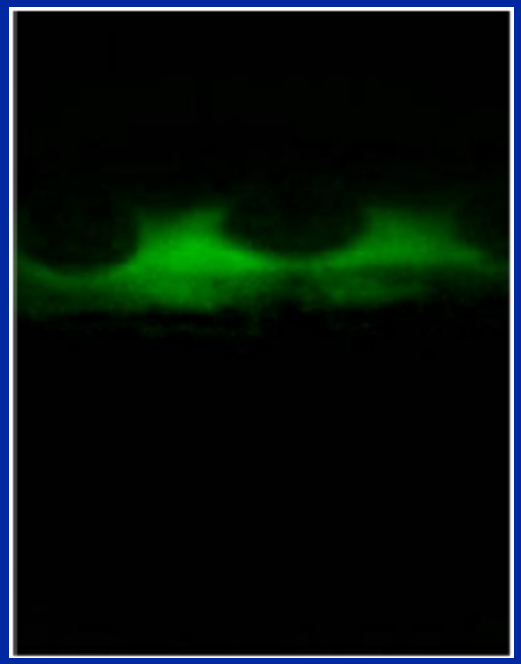
Messung der Fluoreszenzlebensdauer als „Nanosensor“



Auflichtbild



“immobilisierter” Fluorophor



frei beweglicher Fluorophor

(1): Trägerfolie (2): Klebeschicht
(3): Detektionsfilm (4): Reagenzschicht
(5): Benetzungsschicht
(6): Spreitnetz

in Zusammenarbeit mit:

M. Wagner, Prof. H. Schneckenburger, Hochschule Aalen
D. Siegberg, PD Dr. D. Herten, Universität Heidelberg

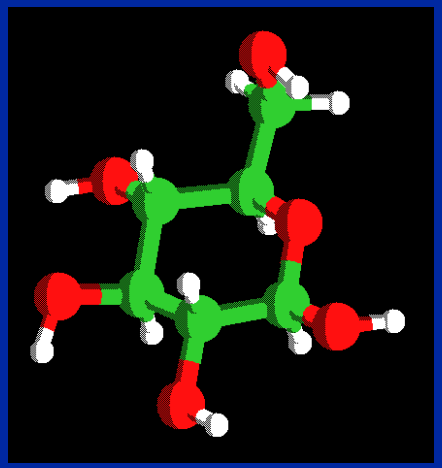
I. Glucose

– eine Delikatesse der Biophotonik

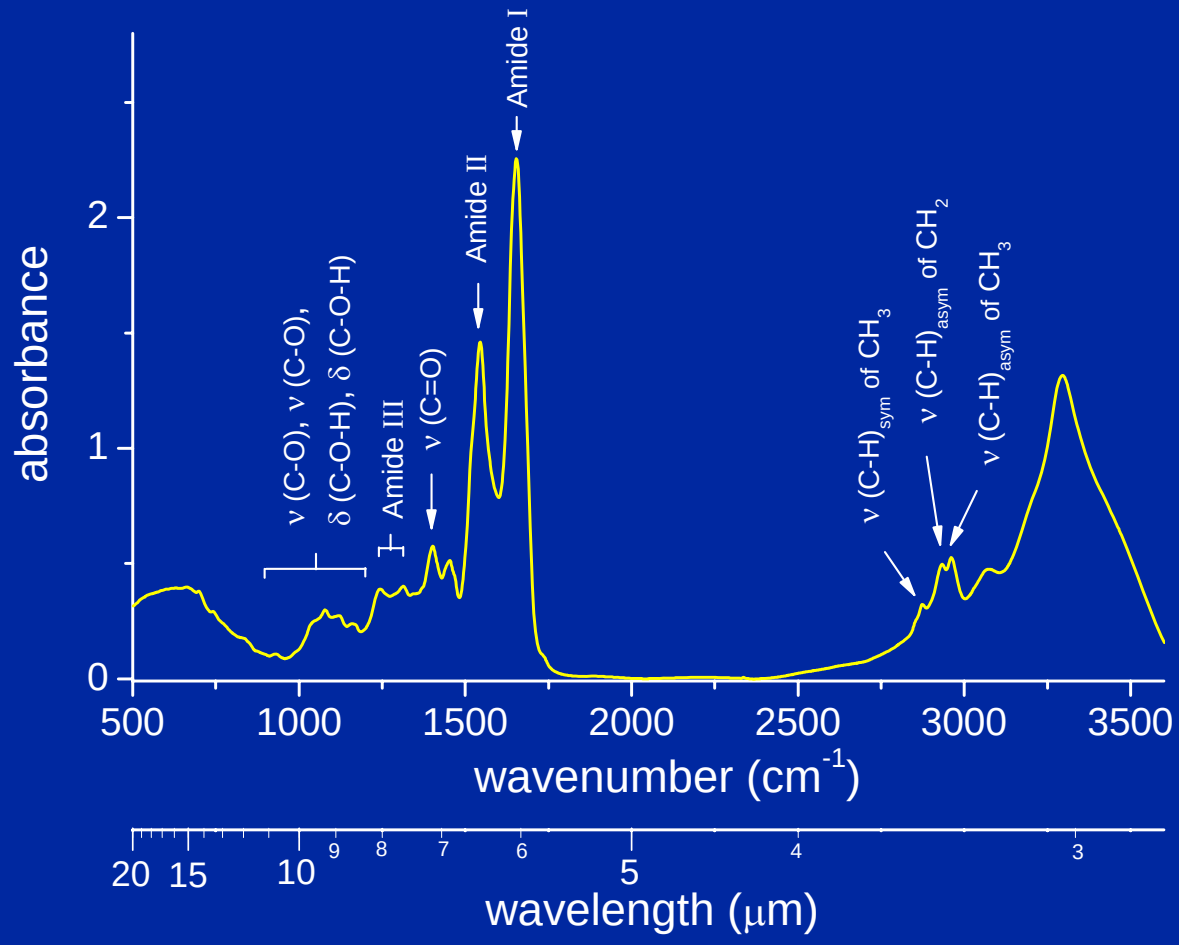
- **Reagens-basierter optischer Nachweis** → **II.**
  - Lichtstreuung *Remissionsphotometrie*
  - Fluoreszenz *Fluoreszenzspektroskopie*
  - …
- **Reagens-freier Zugang zur Glucosekonzentration** → **III.**
  - optische Aktivität *Polarimetrie*
  - Brechungsindex *Refraktometrie*
  - Dipolmoment *Infrarotspektroskopie*
  - Polarisierbarkeit *Ramanspektroskopie*
  - …..

III. Reagens-freie Optosensorik

Mittelinfrarotspektroskopie zur Glucosebestimmung in Serum



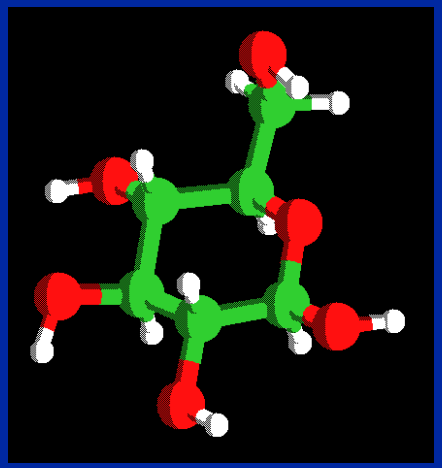
- periodische Änderung das molekularen Dipolmoments
- Nachweis im infraroten Spektralbereich
- Quantifizierung von Blutbestandteilen (u.a. Glucose)



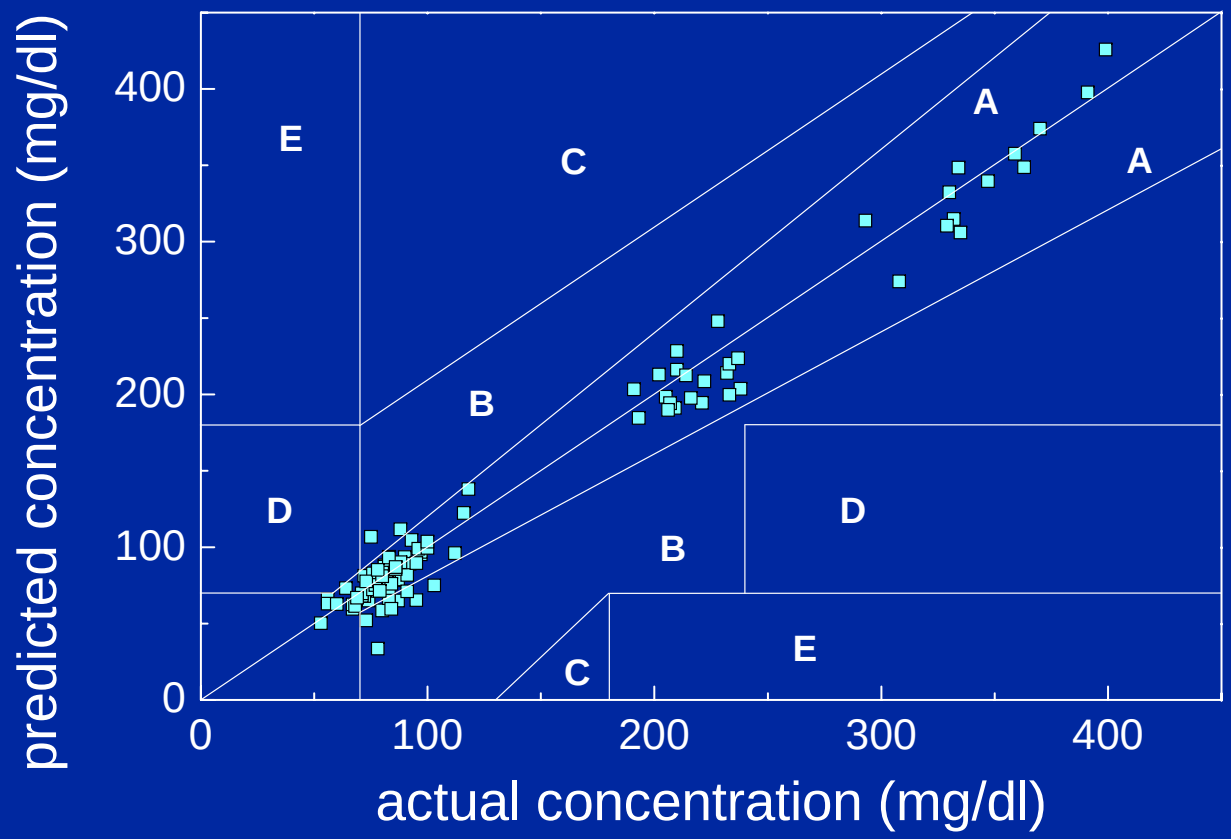
W. Petrich *et al.*, Appl. Opt. 39 (2000) 3372-3379

III. Reagens-freie Optosensorik

Mittelinfrarotspektroskopie zur Glucosebestimmung in Serum



- periodische Änderung das molekularen Dipolmoments
- Nachweis im infraroten Spektralbereich
- Quantifizierung von Blutbestandteilen (u.a. Glucose)



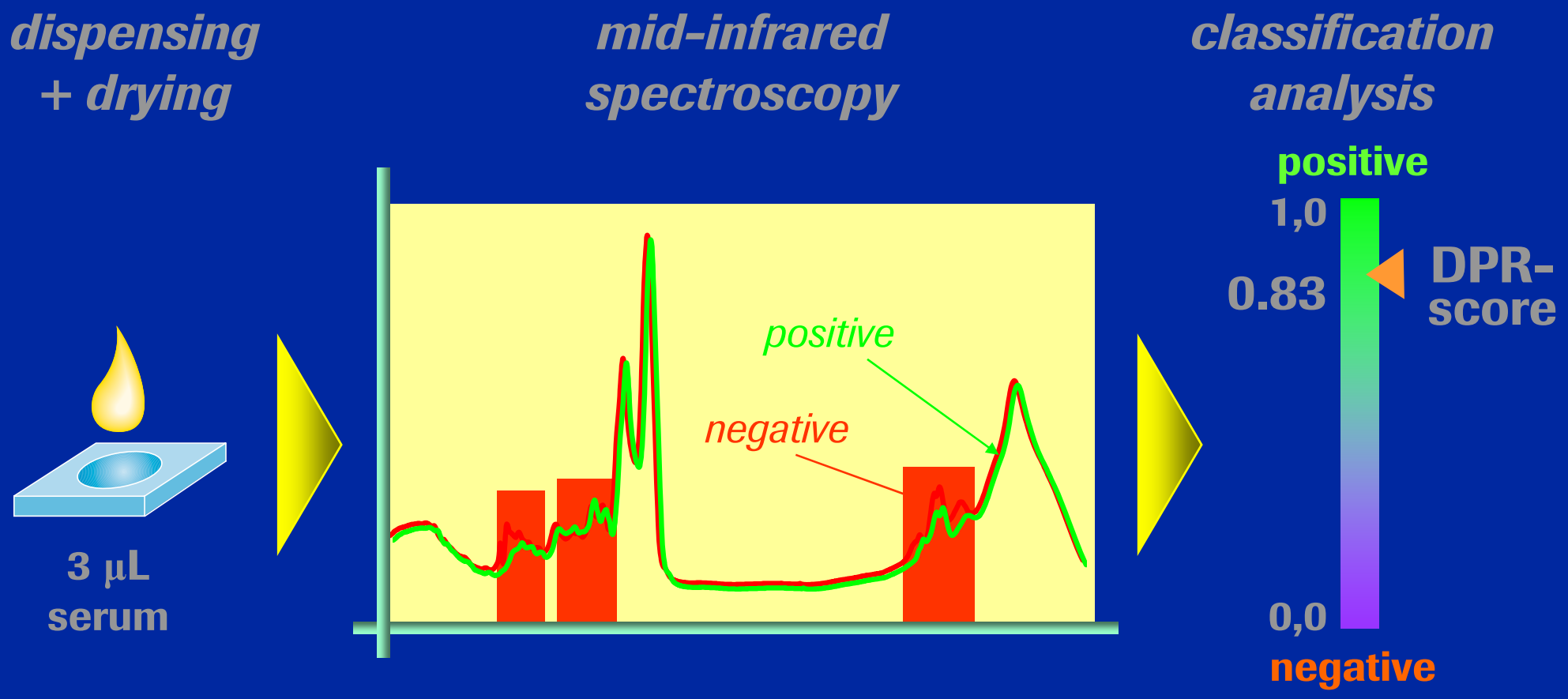
⇒ *Root mean square error of prediction: RMSEP = 14,7 mg/dl*

D. Rohleder *et al.*, J. Biomed. Opt. 10 (2005) 031108

III. Reagens-freie Optosensorik

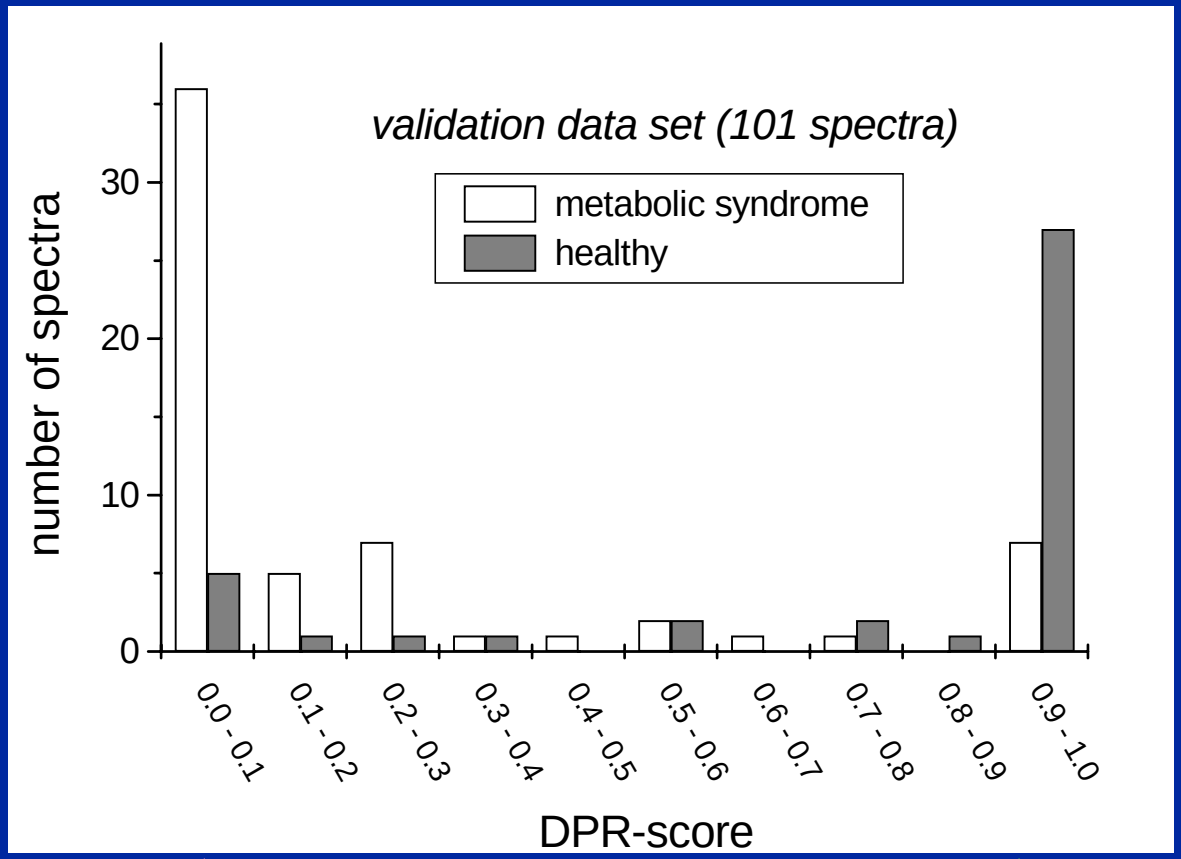
Mittelinfrarotspektroskopie und multivariate Klassifikation:

"Diagnostic Pattern Recognition"



III. Reagens-freie Optosensorik

Früherkennung des Diabetes (→ metabolisches Syndrom) mittels "Diagnostic Pattern Recognition"



metabolisches Syndrom ← → **gesund**

(Cut-off score: 0.5)

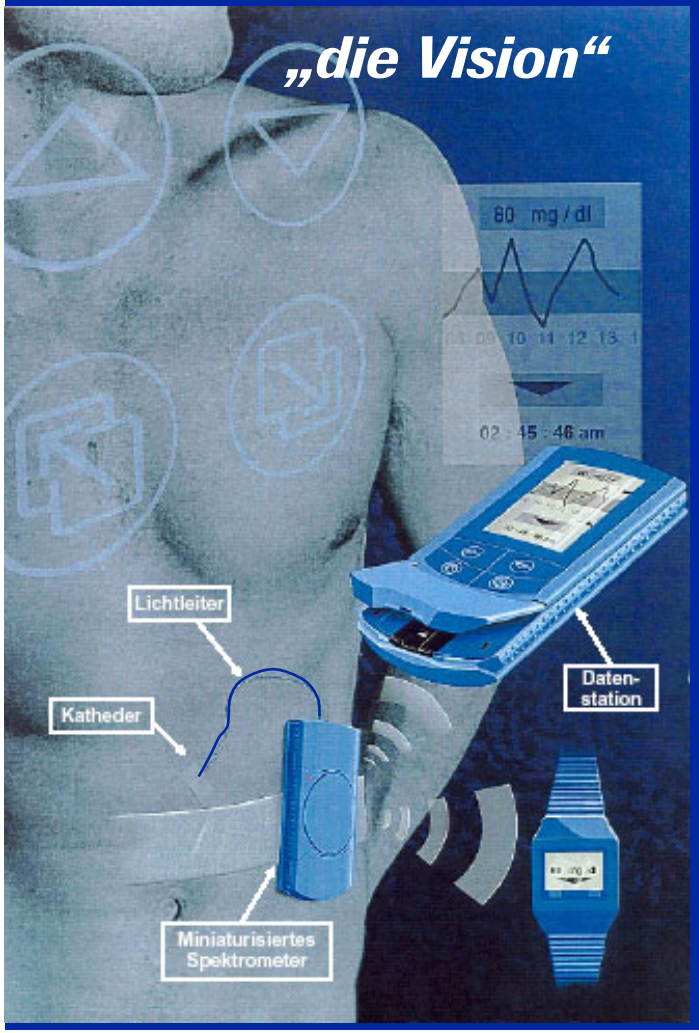
Sensitivity: 80 %

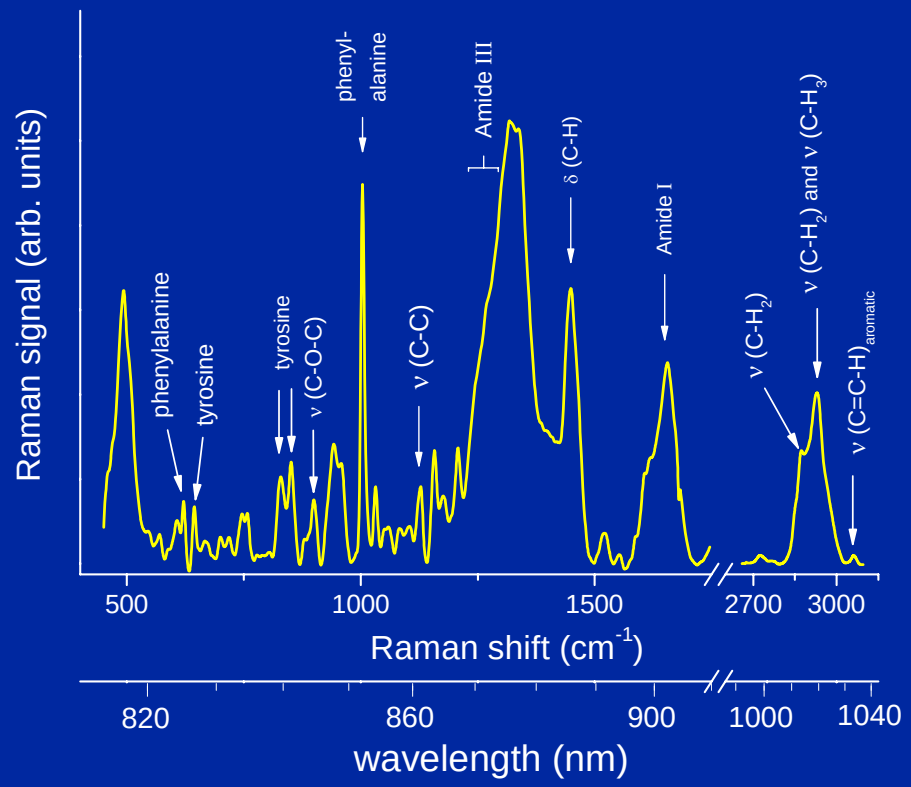
specificity : 82 %

J. Früh et al.,
Proc. SPIE **4614** (2002) 63-69

III. Reagens-freie Optosensorik

erste in-vitro Ergebnisse in Richtung transkutanen Spektroskopie von Glucose mittels Ramanstreuung

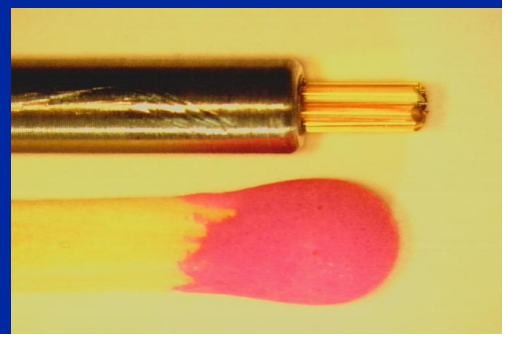


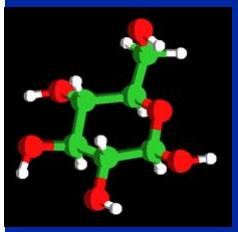


in Zusammenarbeit mit
Prof. W. Kiefer (Universität Würzburg)

D. Rohleder, W. Kiefer, M. Schoemaker, W. Petrich, Proc. SPIE **5321** (2004) 75-84

D. Rohleder, W. Kiefer, W. Petrich, Analyst **129** (2004) 906-911





Glucose

– *eine Delikatesse der Biophotonik*

- **Reagens-basierter optischer Nachweis**
  - Lichtstreuung *Remissionsphotometrie*
  - Fluoreszenz *Fluoreszenzspektroskopie*
  - …

- Goniometrie von LEDs
- CMOS Sensortechnik
- optische Eigenschaften dünner Schichten
- zeitaufgelöste Fluoreszenzspektroskopie („Nanosensor“)

- **Reagens-freier Zugang zur Glucosekonzentration**
  - optische Aktivität *Polarimetrie*
  - Brechungsindex *Refraktometrie*
  - Dipolmoment *Infrarotspektroskopie*
  - Polarisierbarkeit *Ramanspektroskopie*
  - …..

- FT-IR Analytik von Serum
- Diagnostic Pattern Recognition
- in-vivo Sensorik mit Ramanspektroskopie