

Analyse und praktische Anwendung
cutaner Spektroskopie zur non-invasiven
zellulären Messung von Mikronährstoffen
mit dem Zell-/SO-Check Verfahren

Dr. Dirk Kuhlmann (Hrsg.)
Prof. Dr. Marcel Capt (Hrsg.)

Kuhlmann, Dirk (Hrsg)
Capt, Marcel (Hrsg.)

Analyse und praktische Anwendung cutaner Spektroskopie zur non-invasiven zellulären Messung
von Mikronährstoffen mit dem Zell-/SO-Check Verfahren
1. Aufl. Neuberend: Bio-Medoc, 2020

Copyright © 2020 by Bio-Medoc-Verlag, Klosterreihe 25, 24879 Neuberend

Vorwort

Die optische Spektroskopie ist eine Technik zur Messung der Lichtintensität im ultravioletten, sichtbaren, nahen Infrarot- und infraroten Wellenlängenbereich. Spektrometer werden in zahlreichen Industrie- und Handelsbereichen eingesetzt. Sie ist in diesen Anwendungsgebieten zu einer „Alltagstechnik“ geworden. In Segment der medizinischen Diagnostik, der Präventionsmedizin und Gesundheitsberatung ist diese Technologie allerdings noch nicht in der ganzen potentiellen Breite erkannt und etabliert.

Das Zell/SO-Check Messverfahren hat seinen Weg aus seiner ursprünglich US-amerikanischen Entwicklung über Kanada und schließlich Frankreich nach Deutschland und fast ganz Europa gefunden und findet nun als innovatives Geräteverfahren ständig neue Anwender.

Wir stehen heute erst am Anfang einer neuen Geräte-, Mess- und Diagnose-Ära. Entwickler von Consumer Physics formulieren es treffend: „Wir glauben, dass die Tage, in denen nur Labore oder erfahrene Fachleute Spektrometer verwendet haben, hinter uns liegen. Jetzt kann jeder einen Materialsensor tragen und eine Welt entdecken, die das Auge nicht sehen kann – die Möglichkeiten sind endlos“.

Daher ist es unser Anliegen dem Interessierten und natürlich auch dem überzeugten Anwender in der folgenden Bestandsanalyse die physikalisch/technischen Hintergründe, die Forschung und Entwicklung der Technologie und die Einordnung in die medizinischen Anwendungsmöglichkeiten und den aktuellen Entwicklungsstand am Beispiel zahlreicher Publikationen näherzubringen und Sie für diese Zukunftstechnologie zu begeistern.

Dr. Dirk Kuhlmann, Flensburg, Mai 2020
Prof. Dr. Marcel Capt, Lausanne, Mai 2020

Inhaltsverzeichnis

Vorwort

1 Spektrometrie

- 1.1 Einführung
- 1.2 Was ist Spektroskopie?
- 1.3 Absorptionsspektroskopie
- 1.4 Das Lambert-Beersche Gesetz
- 1.5 Grundsätzliche Vorgänge bei der Absorption
- 1.6 Diffuse Reflexionsspektroskopie
- 1.7 Raman-Spektroskopie
- 1.8 Chemometrische Grundlagen
- 1.9 Qualitative Spektrometrie
- 1.10 Quatitative Spektrometrie
- 1.11 Aktueller Stand der Forschung und Entwicklung - VIS/NIR/Raman Spektroskopie als Materialanalyseverfahren im chemischen, technischen und ingenieurwissenschaftlichen Bereich
 - 1.11.1 Internationale Beispiele für den Entwicklungsstand und Anwendungsgebieten Medizin und Landwirtschaft
- 1.12 Anwendungsgebiete Spektrometrie auf Gewebsebene
- 1.13 Spektralphotometrie-Geräte-Systeme auf Gewebsebene auf dem Markt
- 1.14 Anwendungsgebiete am Beispiel einiger Publikationen

2 Mikronährstoffversorgung in Deutschland im Überblick

3. Mikronährstoff-Laborwerte und Zell-Check-Messungen

- 3.1 Sind Blut-/Urinlaborwerte für die Beurteilung der Mikronährstoffe genügend aussagefähig oder gibt es hier Schwächen der Beurteilung?
 - 3.1.1 Blutuntersuchungen
 - 3.1.2 Urin- und Haarmineralanalyse
 - 3.1.3 Die Vergleichbarkeit der Messresultate
- 3.2 Zell-Check Messungen
- 3.3. Reproduzierbarkeit der Messungen

4 Zell-/SO-Check in der Praxis

- 4.1 Anwendung und Interpretation der Zell-Check Ergebnisse
- 4.2. Fallbeispiele aus der Praxis
- 4.3. Beobachtungsstudien über die Korrelationen von Blutlabormesswerten und Spektralphotometriemessungen
 - 4.3.1 Wie sich nitrosativer Stress in einer spektralphotomertrischen Messung erkennen lässt
 - 4.3.2 Warum wir häufig eine umgekehrte Korrelation zwischen Zink- und Kupferüberschuss spektralphotometrisch und einen Zinkmangel und Kupfermangel im Vollblut finden.
 - 4.3.3 Zusammenhang zwischen Insulinresistenz, Chrom und Glutathionmangel
 - 4.3.4 Zusammenhang zwischen HPU und typischem Mikronährstoffmangel
- 4.4 Ausgewählte Arbeiten/Publikationen mit dem Zell/SO-Check Messsystem
 - 4.4.1 Cutaneous spectrophotometry, the new method to

- monitor heavy metals in our skin. Dr. Philippe Blanchemaison et.al.
- 4.4.2 Cutaneous spectrophotometry, a new method to monitor the iodine in human skin P. Blanchemaison, J. Frucot
- 4.4.3 Application of OligoCheck spectrophotometric analysis to discover new questions for in-depth research ; Andrzej R. Kozłowska,1,2 and Anna S. Łoban-Kozłowska¹
- 4.4.4 Ergebnis und Gutachten über die non-invasive zelluläre Mikronährstoffanalyse Dr. med. Marion Ljuba
- 4.4.5 Warum sich eine Schwermetallausleitung mit einer Spektralphotometrische Messung gut verfolgen lässt – Vorteile gegenüber den klassische Provokationstest mit DMPS und warum es häufig mit einer DMPS-Provokation keine Vergleichbarkeit gibt. Jesse de Groot

5. Anhang

1 Spektrometrie

1.1 Einführung

Seit mehr als zwei Jahrzehnten findet Spektroskopie in biologischen und medizinischen Anwendungen breite Anwendung. Die Instrumentierung und die statistischen Auswertungsverfahren sind ausgereift und ermöglichen den langwierigen Übergang von der Ex-vivo- Demonstration zu In-vivo- Untersuchungen. Dieser Übergang geht Hand in Hand mit vielen technologischen Entwicklungen und eng gebundenen Anforderungen für eine erfolgreiche Implementierung in einem klinischen Umfeld (Eliana Cordero et. al. 2018).

Obwohl spektroskopische Methoden in der Chemie seit Beginn des 20. Jahrhunderts etabliert sind, wurden sie bis vor wenigen Jahren lediglich für In-vitro-Messungen benutzt. Ein direkter Stoffnachweis in biologischer Matrix galt lange als undenkbar, da das interessierende Signal von einem Rauschen von Störsignalen überlagert ist.

Im Laufe der letzten Jahre wurden Lösungen für zahlreiche der Probleme spektroskopischer Messungen in biologischer Matrix gefunden. Dies ist neben der Einführung hochempfindlicher und driftarmer „coupled charge device“- (CCD)-Arrays in erster Linie auf Fortschritte in der elektronischen Datenverarbeitung zurückzuführen, welche die mathematisch komplexe Analyse von Reflexionsspektren erst ermöglichen. Aufgrund dieser Entwicklungen sind neben natürlich im Organismus vorkommenden Substanzen auch Fremdstoffe einem nichtinvasiven spektroskopischen Nachweis zugänglich.

Eliana Cordero; Ines Latka; Christian Matthäus; Iwan W. Schie; Jürgen Popp
In-vivo Raman spectroscopy: from basics to applications
J. of Biomedical Optics, 23(7), 071210 (2018). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.7.071210>
Ganzer Artikel incl. weiterführender Literatur s. Anhang

(KAKIZOE et al. 1992, ROBINSON et al. 1992, WEERSINK et al. 1997, MOURANT et al. 1999; s. Frank Niedorf, Entwicklung eines Verfahrens zur quantitativen Auswertung nicht-invasiver reflexionsspektroskopischer Messungen von Beta-Carotin in der Haut; Dissertation Hannover 2001)

1.2 Was ist Spektroskopie?

„Laserspektroskopische Verfahren ermöglichen chemische Analysen von Materialien in allen Aggregatzuständen. Reflexions-, Transmissions- und Absorptionsmessungen sowie spezielle Formen der Emissionsmessung wie Fluoreszenz- und Ramanspektroskopie lassen charakteristische Merkmale und Zusammensetzungen von Atomen und Molekülen bestimmen.“
Fraunhofer Institut Light & Surfaces München

Ein Atomspektrum ist das Emissionsspektrum eines einzelnen isolierten Atoms, also die Intensität des von ihm ausgesandten (emittierten) Lichts als Funktion der Wellenlänge (oder Frequenz). Die einzelnen Spektrallinien des Spektrums entsprechen dabei jeweils der Energiedifferenz zwischen zwei verschiedenen Zuständen des Atoms, die beispielsweise durch ein absorbiertes Lichtteilchen nw. Photon aufgebracht und anschließend in Form eines anderen Photons, mit jener Energie, wieder abgegeben, also emittiert werden kann. Diese Energiedifferenz (oder im Spektrum die Linie) ist diskret, kann also nicht beliebige Werte annehmen, so dass jedes Atom - entsprechend seiner spezifischen Elektronenkonfiguration - nur Photonen ganz bestimmter diskreter Wellenlängen emittieren kann, die dabei charakteristisch für die einzelnen chemischen Elemente sind.
http://www.ostralo.net/3_animations/swf/spectres.swf

Spektroskopie ist im engeren Sinne die Lehre von der Erzeugung, Beobachtung, Aufzeichnung und Interpretation von Spektren. Ihre Grundlage ist die Interaktion zwischen elektromagnetischer Strahlung und Materie (F.Niedorf 2001). Das, was man gemeinhin als (farbiges) Licht bezeichnet, ist nur ein kleiner Teil des Spektrums elektromagnetischer Strahlung. Bei dem in Abbildung 1 gezeigten Spektrum nimmt die Energie der Strahlung von links nach rechts zu.

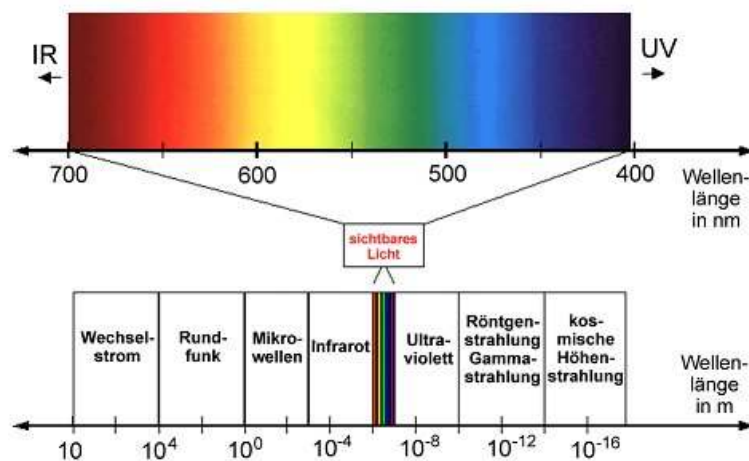


Abb.1 : Das elektromagnetische Spektrum.

<https://www.uni-bielefeld.de/chemie/lehre/basispc/media/Spektrometer/>

Licht interagiert auf vielfältiger Weise mit biologischem Gewebe. Spektroskopische Methoden für die Differenzierung biologischen Gewebes basieren auf der Tatsache, dass Licht (bspw. ein monochromatischer Laserstrahl mit bekannter Wellenlänge) mit der zu untersuchenden Probe interagiert und dadurch gewebespezifisch verändert wird. Dieses gewebespezifisch veränderte Licht kann detektiert und in seine spektralen Bestandteile dispergiert werden.

(J. Motz, 2019 Differenzierung physiologischer Gewebearten mit der Raman-Spektroskopie: Grundlagenuntersuchung für die Entwicklung einer optischen Biopsie oraler Malignome; Dissertation Erlangen-Nürnberg)

Verantwortlich für den "Energiegehalt" der Strahlung ist ihre Wellenlänge. Ihr Formelzeichen ist das kleine griechische Lambda: λ . Die Wellenlänge ist der räumliche Abstand zwischen zwei Wellenbergen oder -tälern einer Welle (siehe Abbildung 2). Ihre Einheit muss folglich eine Länge sein. Die Angabe der Wellenlänge erfolgt in der Spektroskopie aus praktischen Gründen nicht der SI-Einheit "Meter" sondern in Nanometern (nm); ein Nanometer ist der milliardste Teil eines Meters: $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$.

(<https://www.uni-bielefeld.de/chemie/lehre/basispc/media/Spektrometer/9>)

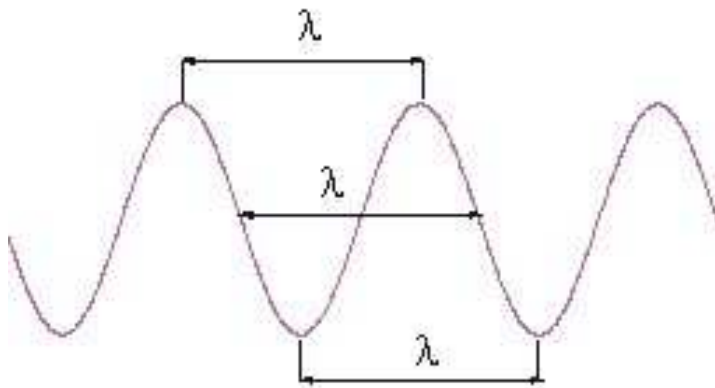


Abb.: Wellenlänge λ .

1.3 Absorptionsspektroskopie

Frank Niedorf, 2001: Unter Absorptionsspektroskopie versteht man die qualitative und quantitative Messung des Absorptionsvermögens eines Stoffes als Funktion der Wellenlänge.

Reflexion bezeichnet die Rückstrahlung elektromagnetischer Wellen an den Grenzflächen zweier Medien mit unterschiedlichen Brechungsindizes. Man unterscheidet zwei Grenzfälle, die vom Größenverhältnis der auftreffenden Welle zu den Unebenheiten auf der Grenzfläche abhängen. Bei der regulären oder gerichteten Reflexion (Spiegelung) sind die Unebenheiten auf der Grenzfläche klein gegenüber der Wellenlänge des auftreffenden Lichtes. Es gilt das Reflexionsgesetz, nach dem einfallender und reflektierter Strahl denselben Winkel mit dem in der Ebene liegenden Einfallslot bilden. Sind die Unebenheiten auf der Grenzfläche gegen die Wellenlänge des auftreffenden Lichtes hingegen groß, wird die Strahlung diffus in alle Richtungen des Halbraumes reflektiert. Beide Grenzfälle werden niemals erreicht; alle realen Grenzflächen besitzen also eine gemischte, als Glanz bezeichnete Reflexion. Der spektrale Reflexionsgrad ist abhängig vom Verhältnis der Brechungsindizes der aneinandergrenzenden Medien, vom Einfallswinkel und vom Absorptionskoeffizienten. Ist die daraus resultierende Wellenlängenabhängigkeit groß, so spricht man von selektiver Reflexion.

Der Begriff Streuung bezeichnet Licht-Materie-Interaktionen, die zu einer Ablenkung der einfallenden Strahlung führen. Streuung von ultravioletten Strahlen (UV) und sichtbarem Licht (VIS) ist eine quasi-simultane Aufnahme und Wiederabgabe von

Photonen durch Atome oder Moleküle mit einer Zwischenzeit von etwa 10^{-10} s. Zur Absorption und Emission treten keine Resonanzeffekte auf. Bei mit konventionellen Lichtquellen erreichten Lichtintensitäten handelt es sich um einen elastischen Prozess, der die Energie weder des Photons noch des Atoms oder Moleküls verändert.

Ähnlich wie bei der diffusen Reflexion ist die Intensität der Streustrahlung (IS) neben Teilchenform, Brechungsindex und Absorptionseigenschaften hauptsächlich vom Größenverhältnis

des Teilchenradius zur Wellenlänge abhängig. Eine exakte theoretische Beschreibung existiert für die stark vereinfachten Systeme der Streuung an isotrop-kugelförmigen Teilchen beliebiger Größe (Mie-Streuung) und der Streuung einzelner Moleküle in Gasen, deren Moleküldurchmesser wesentlich kleiner als die Wellenlänge ist (Rayleigh-Streuung). Die Streuung größerer Partikel, beispielsweise einer kolloidalen Lösung, wird als Tyndall-Streuung bezeichnet. Bei Messungen eines trüben Mediums treten im UV- VIS-Bereich Rayleigh- und Tyndall-Streuung auf. In komplexen Strukturen wie biologischen Geweben liegen kombinierte Streueffekte vor.

1.4 Das Lambert-Beersche Gesetz

Das Lambert-Beersche Gesetz beschreibt die Abschwächung der Intensität einer Strahlung bei dem Durchgang durch ein Medium mit einer absorbierenden Substanz, in Abhängigkeit von der Konzentration der absorbierenden Substanz und der Schichtdicke. Das Gesetz bildet die Grundlage der modernen Photometrie als analytische Methode. Es ist ein Spezialfall der Strahlungstransport-Gleichung.

Geschichte

Das Bouguer-Lambertsche Gesetz wurde von Pierre Bouguer vor dem Jahre 1729 formuliert und beschreibt die Schwächung der Strahlungsintensität mit der Weglänge beim Durchgang durch eine absorbierende Substanz. Es wird auch Johann Heinrich Lambert zugeschrieben, teils sogar kurz als Lambertsches Gesetz bezeichnet, obwohl Lambert selbst Bouguers Werk „Essai d'optique sur la gradation de la lumière“ in seiner „Photometria“ (1760) anführt und sogar daraus zitiert.

Als Lambertsches Gesetz wird auch das Lambertsche Kosinusetz bezeichnet.

Im Jahre 1852 erweiterte August Beer das Bouguer-Lambertsche Gesetz, indem er die Konzentration des Absorbanten in Abhängigkeit zum transmittierten Licht stellte. Dieser Zusammenhang wird als Lambert-Beersches Gesetz oder seltener als Bouguer-Lambert-Beersches Gesetz bezeichnet.

Das Gesetz

Die Extinktion E_λ (Absorbanz des Materials für Licht der Wellenlänge λ) ist gegeben durch

$$E_\lambda = \lg(I_0/I) = \epsilon_\lambda \cdot c \cdot d$$

mit

I : Intensität des transmittierten Lichtes (Einheit: $W \cdot m^{-2}$)

I_0 : Intensität des einfallenden (eingestrahlt) Lichtes (Einheit: $W \cdot m^{-2}$)

c : Stoffmengenkonzentration der absorbierenden Substanz in der Flüssigkeit (Einheit: $mol \cdot l^{-1}$)

ϵ_λ : dekadischer Extinktionskoeffizient ϵ (oft auch als spektraler Absorptionskoeffizient bezeichnet) bei der Wellenlänge λ . Dieser ist eine für die absorbierende Substanz spezifische Größe und kann unter anderem vom pH-Wert oder vom Lösungsmittel abhängen. Bei einer Konzentrationsangabe in Mol wird ϵ_λ als dekadischer molarer Extinktionskoeffizient angegeben, beispielsweise in der Einheit $m^2 \cdot mol^{-1}$

d : Schichtdicke des durchstrahlten Körpers (Einheit: m)

https://www.chemie-schule.de/KnowHow/Lambert-Beersches_Gesetz

Je konzentrierter die Probe, desto mehr Licht absorbiert sie gemäß Lambert-Beerschem Gesetz. Dieses beschreibt die Abschwächung der Intensität einer Strahlung beim Durchgang durch ein

Medium mit einer absorbierenden Substanz in Abhängigkeit von der Konzentration der absorbierenden Substanz und der Schichtdicke.

1.5 Grundsätzliche Vorgänge bei der Absorption

Moleküle existieren in diskreten Energieniveaus. Die Lage dieser Energieniveaus ist abhängig von der Anzahl und Konjugation der Elektronen sowie von der räumlichen Struktur des Moleküls. Beim Wechsel zwischen zwei Energieniveaus müssen Moleküle diejenige Energie aufnehmen oder abgeben, die der Energiedifferenz zwischen den jeweiligen Energiezuständen entspricht. Die Absorption von Strahlung durch ein Molekül ist mit der Aufnahme von Photonen verbunden. Die Energie elektromagnetischer Strahlung ist ihrer Frequenz proportional, wie durch die Bohr-Einstein-Relation definiert.

Die absorbierten Wellenlängen sind somit ebenfalls stoffabhängig. Elektromagnetische Strahlen im UV-VIS Bereich interagieren mit π - und n-Elektronen. Die Energie von Strahlung dieser Frequenzen ist den Energiedifferenzen zwischen den äußeren Elektronenschalen äquivalent, zwischen denen die zugehörigen Übergänge stattfinden.

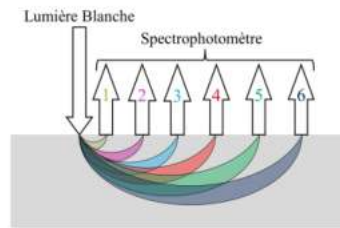
(Frank Niedorf, 2001, Entwicklung eines Verfahrens zur quantitativen Auswertung nicht-invasiver reflexionsspektroskopischer Messungen von Beta-Carotin in der Haut; Dissertation Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Hochschule Hannover 2001)

1.6 Diffuse Reflexionsspektroskopie

Johanna Motz, 2019: Die Diffuse Reflexionsspektroskopie (DRS) basiert auf der charakteristischen Absorption und Reflexion eines Lichtstrahls an der Oberfläche des Analyts. Sie liefert Informationen über die Morphologie von Gewebe auf zellulärer und subzellulärer Ebene, die sich bei Krankheit spezifisch verändert und daraus resultierend auch das Spektrum. Im Gegensatz zur Raman-Spektroskopie (RS) und zu Fluoreszenztechniken ist über das Spektrum der DRS kein direkter Rückschluss auf die biochemische Zusammensetzung des untersuchten Gewebes möglich. Über den Umweg der Anwendung analytischer Modelle, welche den Lichttransport in biologischem Gewebe beschreiben oder numerischen Methoden, können einige Bestandteile wie bspw. Hämoglobin oder Melanin bestimmt werden. Das Potential mittels DRS unterschiedliche Gewebearten zu differenzieren, um u. a. eine gewebeschonendere, chirurgische Vorgehensweise zu ermöglichen, erforschten bereits mehrere Autoren mit überzeugenden Ergebnissen.

(J. Motz, 2019 Differenzierung physiologischer Gewebearten mit der Raman-Spektroskopie: Grundlagenuntersuchung für die Entwicklung einer optischen Biopsie oraler Malignome; Dissertation Erlangen-Nürnberg)

→ **Diffuse Reflexionsspektroskopie – DRS** unter Ausnutzung **des Raman-Effekts**



Schematisches DRS-Diagramm. Das dargestellte Beispiel zeigt eine Sammlungsgeometrie, die sechs verschiedene Quelle-zu-Detektor-Entfernungen erzeugt¹

¹Blandine Roig. Caractérisation de tissus cutanés par spectroscopie bimodale. Réflectance Diffuse et Raman. Biophysique [physics.bio-ph]. Université de Reims Champagne Ardenne URCA, 2015. Français. tel-01475307

Abb.: Diffuse Reflektionsspektroskopie unter Ausnutzung des Raman-Effektes

1.7 Raman-Spektroskopie

Bestrahlt man Moleküle mit monochromatischem Licht, so wird das eingestrahlte Licht gestreut. Nach Zerlegung des Streulichts zeigen sich neben der intensiven Spektrallinie der Lichtquelle zusätzliche Spektrallinien, die gegenüber der Frequenz der Lichtquelle verschoben sind. Die letzteren Linien nennt man Raman-Linien. Sie sind nach dem indischen Physiker Chandrasekhara Venkata Raman benannt, der im Jahr 1928 als erster über die experimentelle Entdeckung dieser Linien berichtete.

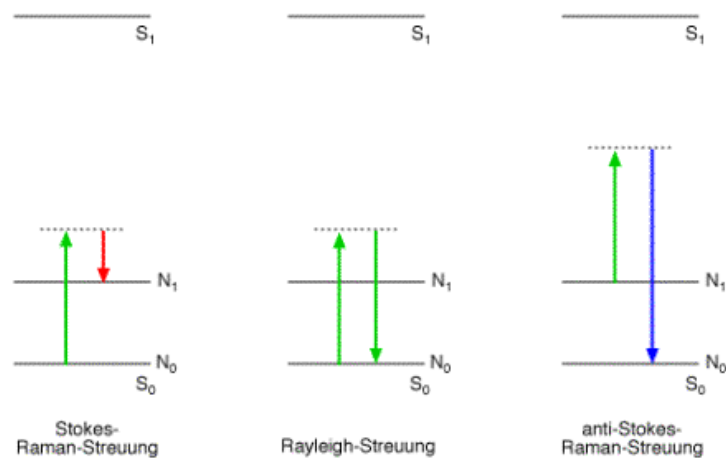


Abb.: Schematische Darstellung der Energiezustände bei der Rayleigh- und Raman-Streuung. Bei der Raman-Streuung kann die Wellenlänge des eingestrahlt Lichts (grüner Pfeil) entweder zum langwelligen Spektralbereich (Stokes-Raman-Streuung; roter Pfeil) bzw. zum kurzwelligen

Spektralbereich (anti-Stokes-Raman-Streuung: blauer Pfeil) verschoben sein. S_0, N_0 : elektronischer bzw. Schwingungsgrundzustand; S_1, N_1 : 1. elektronischer- bzw. schwingungsangeregter Zustand.

Die Wechselwirkung zwischen Materie und Licht kann als ein Stoßvorgang angesehen werden. Dabei ergeben sich drei Möglichkeiten:

1. Beim elastischen Stoß eines Photons mit der Energie $h\nu_0$ (grüner Pfeil) verändert sich der Energiezustand des Moleküls nicht. Auch die Frequenz der Streustrahlung verändert sich nicht zur Frequenz der Lichtquelle. Diese Streuung wird als Rayleigh-Streuung bezeichnet.

Die beiden anderen Möglichkeiten stellen den Raman-Effekt dar, der als unelastischer Stoß zwischen einem Photon und einem Molekül aufgefasst werden kann. Die Energie, die dabei abgegeben oder aufgenommen wird, entspricht der Differenz zwischen zwei Energieniveaus einer Molekülschwingung.

2. Das Molekül besitzt nach dem Stoß eine höhere Schwingungsenergie. Das Streulicht ist dabei energieärmer geworden (roter Pfeil) und weist damit eine geringere Frequenz auf. Die beobachtbaren Spektrallinien werden als Stokes-Linien bezeichnet.

3. Das Molekül besitzt nach dem Stoß eine niedrigere Schwingungsenergie. Die Energie des gestreuten Lichts ist dabei größer geworden (blauer Pfeil) und weist eine höhere Frequenz auf. Die beobachtbaren Spektrallinien werden als Anti-Stokes-Linien bezeichnet. Dieser Fall ist nur möglich, wenn das Molekül vor dem Stoß sich in einem höheren Energiezustand befindet.

http://www.pci.tu-bs.de/aggericke/PC2/Kap_IV/Raman-Spektroskopie.htm

Raman-Spektroskopie (RS) ist also ein laserbasiertes und kostengünstiges Materialanalyseverfahren, für das weder eine Markierung oder Präparation der Probe nötig ist, noch deren Schädigung in Kauf genommen werden muss. Dabei wird monochromatische Strahlung – meist im sichtbaren Spektralbereich – auf die zu untersuchende Probe fokussiert und die gestreute Strahlung detektiert. Das resultierende Streuspektrum gibt Aufschluss über molekülspezifische Energiezustände des Analyts, wodurch Informationen über die chemische Zusammensetzung und molekulare Struktur von Zellen und Gewebe mit hoher Sensitivität gewonnen werden können. Da pathologische Vorgänge chemische und strukturelle Veränderungen auf molekularer Ebene zur Folge haben, verändert sich entsprechend auch das Raman-Spektrum. Dadurch wird mithilfe von RS die Beurteilung von pathologischen Veränderungen möglich

(J. Motz, 2019 Differenzierung physiologischer Gewebearten mit der Raman-Spektroskopie: Grundlagenuntersuchung für die Entwicklung einer optischen Biopsie oraler Malignome; Dissertation Erlangen-Nürnberg).

Raman-Effekt – Identifizierung der Verbindungen

Die Raman-Spektroskopie analysiert die Dynamik von Atomen durch die Wechselwirkung zwischen einfallendem Monochromstrahl und der Variabilität der Polarisierbarkeit chemischer Bindungen (verbunden mit der Verformung der Elektronenwolke).

1. Zwischen den chemischen Bindungen und der einfallenden Strahlung findet eine Energiewechselwirkung (Schwingungsenergien) statt, die die Energie der gestreuten Photonen um etwa 1 „Raman-Photon“ pro 10^8 emittierten Photonen verändert².
2. Diese Wechselwirkungen sind **charakteristisch** für die Bindungen zwischen den Atomen³⁻⁶
–**Identifizierungstabellen verfügbar**
3. C.V. Raman und sein Kollege K.S. Krishnan, indische Physiker aus Kalkutta, beobachteten dieses Phänomen im Jahr 1929 in Flüssigkeiten⁷.
4. Raman erhielt 1930 den Nobelpreis für Physik für seine Entdeckungen dieses Effekts, der seinen Namen trägt.

²Olga A. Maslova. Spectroscopie et imagerie Raman de matériaux inhomogènes Autre. Université d'Orléans, 2014. Français. NNT : 2014ORLE2036 . tel-01128067

³R. Loudon, Raman effect in Crystals, Adv. Phys. 13, 423 (1964).

⁴G. Turrell and J. Corset, Raman microscopy. Developments and Applications (Academic Press, 1996).

⁵P. Colombari, The on-site/remote Raman analysis with mobile instruments: a review of drawbacks and success in cultural heritage studies and other associated fields, J. Raman Spectrosc. 43, 1529 (2012).

⁶P. Colombari and J. Corset, Foreword to the special on Raman (micro)spectrometry and materials science, J. Raman Spectrosc. 30, 863 (1999)

⁷C.V. Raman and K. S. Krishnan, A theory of light-scattering in liquids, Philos. Mag. 5, 498 (1928)

Zell-Check: Die Absorption der gemessenen Mineralien, Spurenelemente und Schwermetalle liegt zwischen 180 und 1000 Nanometer. Für jedes Element gibt es eine sehr spezifische Wellenlänge, weswegen die Konzentrationen im Gewebe quantitativ erfasst werden können. Einige Beispiele der Wellenlängen: Ca: 422,7 nm ; Mg: 285,2 nm ; Mn: 279,5 nm ; K: 766,5 nm ; Na: 589,0 nm ; Fe: 248,0 nm ; Cu: 324,7 nm ; Zn: 213,9 nm.

so/check
wellbeing preventive platform

Raman-Effekt – Quantifizierung der Verbindungen

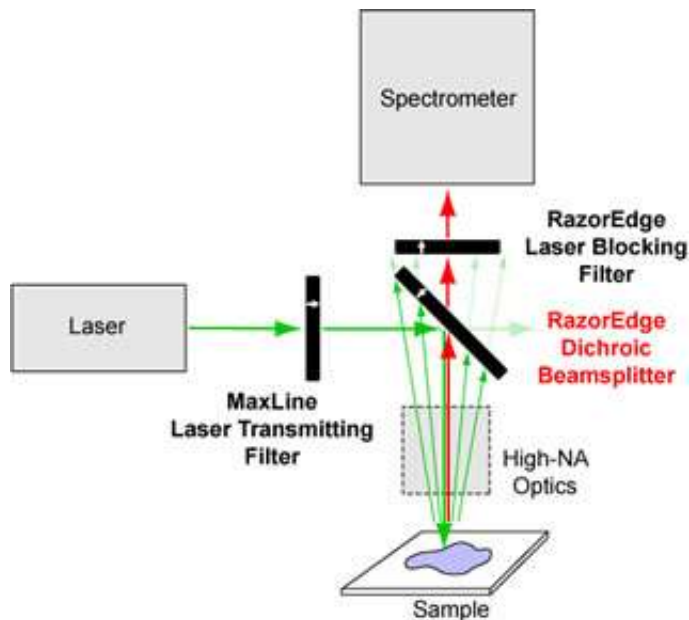
1. Die Intensität der beobachteten Linien ist **proportional zur Konzentration** der Probe^{8,9}.
2. Die Qualität der Beobachtung von Raman-Linien steht in direktem Zusammenhang mit der inversen Wellenlänge λ_i des einfallenden Strahls³:
 - a) blau (λ_i innerhalb von 400 nm), die Raman-Linien sind intensiv und das beobachtete Spektrum enthält aufgrund der Autofluoreszenz des gekreuzten Mediums markierte Linien.
 - b) rot und Infrarot (λ_i innerhalb von 700–900 nm), Autofluoreszenz ist in Bezug auf die Linienintensität weniger effizient und Raman-Linien werden besser wahrgenommen (obwohl sie weniger ausgeprägt sind).

Oligo/Check verwendet weißes Licht, um auf eine Vielzahl von Wellenlängen zuzugreifen und die gewünschten Raman-Linien für die quantitative Analyse der in der Haut vorhandenen Verbindungen zu erkennen.

⁸Stone, N. Raman spectroscopy of biological tissue for application in optical diagnosis of malignancy. Ph.D. Dissertation, Cranfield University (2001)

⁹LaPlant, F. (2010). Emerging Raman applications and techniques in biomedical and pharmaceutical fields – Chapter 1: Lasers, Spectrographs, and Detectors. (M. D. Morris, Ed.) Springer.

Ein Beispiel für den Aufbau einer High Performance Raman Spectroscopy von der amerikanischen Firma IDEX Health & Science, LLC, New York:



„Die Raman-Spektroskopie ermöglicht die Detektion und Identifizierung von Molekülen durch ihre einzigartige Schwingungs- und Rotationsenergiestruktur. Im Gegensatz zu Fluoreszenzverfahren, die die Zugabe eines separaten Fluoreszenzmoleküls als "Tag" erfordern, das

an das eigentliche Molekül von Interesse angefügt ist, ermöglicht die Raman-Spektroskopie den direkten Nachweis eines Moleküls ohne chemische Veränderung. Ein weiterer wichtiger Unterschied ist jedoch, dass das verstreute Raman-Signal (als Prozentsatz der Anregungsleistung) mehrere Größenordnungen schwächer ist als das entsprechende Fluoreszenzsignal. Aus diesem Grund werden Laser in der Regel als Anregungsquellen verwendet, um eine hohe Leistung an einem eng fokussierten Ort zu liefern, und sehr empfindliche Detektoren werden verwendet, um das sehr schwache Signal zu erkennen. Eine hervorragende Filterung ist daher unerlässlich, um das sehr intensive Laserlicht zu blockieren und gleichzeitig eine hohe Übertragung des leicht wellenlängenversetzten Raman-Streusignals zu ermöglichen“.

Quelle: <https://www.semrock.com/high-performance-raman-spectroscopy.aspx>

1.8 Chemometrische Grundlagen

„Chemometrie“ ist ein oft gebrauchter Überbegriff für all jene mathematischen Methoden, welche zur Extraktion chemischer Informationen aus Messdaten Anwendung finden. Zu ihr gehören demnach sämtliche Schritte der (spektroskopischen) Datenanalyse, beginnend mit der Präprozessierung des Raman-Signals. Diese lässt die anschließende Analyse (der Gesamtheit der Daten) durch multivariate Analysetechniken sowie die Interpretation durch die abschließende statistische Auswertung stabiler und präziser werden. Die Chemometrie ist somit für die Umsetzung des Ziels, der zuverlässigen Klassifikation verschiedener Gewebeproben anhand ihres Raman-Spektrums.

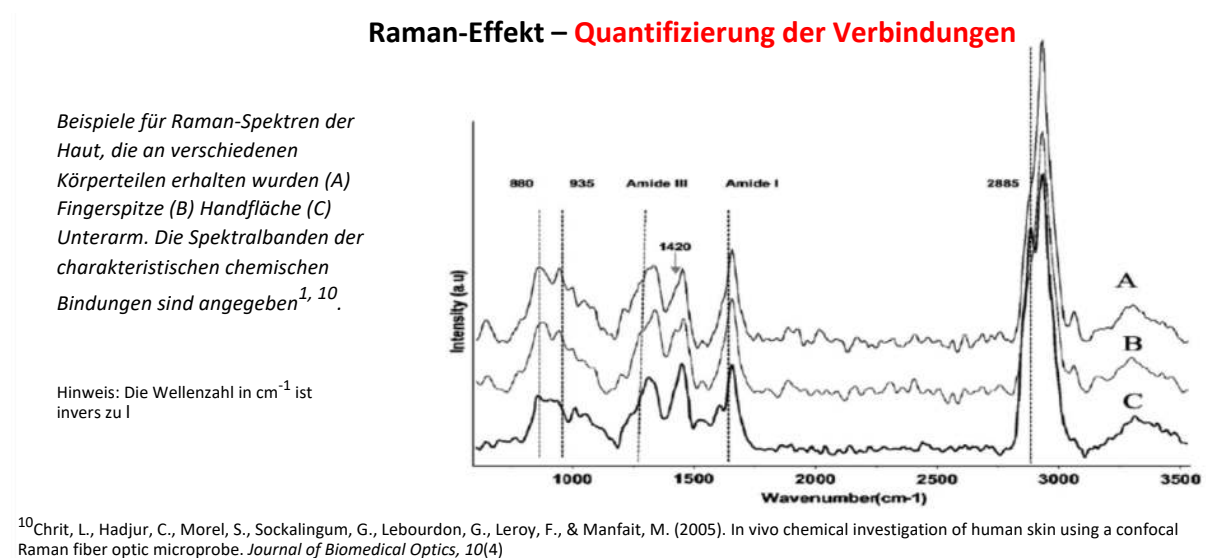
(J. Motz, 2019 Differenzierung physiologischer Gewebearten mit der Raman-Spektroskopie: Grundlagenuntersuchung für die Entwicklung einer optischen Biopsie oraler Malignome; Dissertation Erlangen-Nürnberg)

1.9 Qualitative Spektroskopie

Aufgrund des unterschiedlichen atomaren und räumlichen Aufbaus von Molekülen sind die durch Elektronen-, Schwingungs- oder Rotationsanregung erzeugten Spektren stoffcharakteristisch. Absorptionsspektren liefern daher eine Aussage über die in der Probe enthaltenen Substanzen. Bei Substanzgemischen addieren sich die Extinktionsspektren der Einzelsubstanzen zu einem Summenspektrum (Frank Niedorf, Dissertation Hannover, 2001)

1.10 Quantitative Spektroskopie - Ermittlung von Spektren

Spektren werden ermittelt, indem Lichtintensitäten vor und nach der Interaktion mit einer absorbierenden Substanz gemessen werden. Aus diesen Intensitäten lässt sich der Anteil des durch die Probe hindurchtretenden (Transmission) und der des in der Probe absorbierten Lichtes errechnen (Frank Niedorf, Dissertation Hannover 2001).



1.11 Aktueller Stand der Forschung und Entwicklung - VIS/NIR/Raman Spektroskopie als Materialanalyseverfahren im chemischen, technischen und ingenieurwissenschaftlichen Bereich

RS gilt in vielen Bereichen bereits als etabliertes Materialanalyseverfahren. In der Pharmazie- und Kosmetikbranche findet die RS u. a. aufgrund der einfachen Anwendung ohne Probenpräparation und der Möglichkeit, neben der Qualität auch die Quantität von Inhaltsstoffen bspw. pharmazeutischer Präparate zu untersuchen, breite Anwendung (D.Patel et al, Vankeirsbilk et al, Li Y-S et al).

Die Mineralogie stellt ein breites Feld dar in dem die RS Anwendung findet, um bspw. mineralische Einschlüsse zu untersuchen, wodurch Rückschlüsse über die geologische Entstehung der entsprechenden Minerale gezogen werden können (Vandenabeele et al.)

Auch in Bereichen mit sicherheitstechnischem Hintergrund findet die RS Anwendung. So ermöglichen tragbare und kommerziell vertriebene Raman-Geräte, mit wenigen Einschränkungen, die Erkennung der meisten Sprengstoffe. Voll zum Tragen kommt hierbei auch die Tatsache, dass RS ohne Probenpräparation und durch transparente Verpackungen wie Glas, Plastik sowie dünne, transluzente Materialien wie Briefumschläge hindurch möglich ist ohne selbige zu beschädigen. Damit stellt die RS eine große Hilfe bei bspw. Grenz- und Sicherheitskontrollen dar (Moore DS et al).

In der Archäometrie findet die RS Anwendung, um so viele Informationen wie möglich über fragile und einzigartige kunsthistorische Artefakte zu gewinnen (Vandenabeele et al). Im Bereich der Werkstoffwissenschaften wird sie u. a. zur Charakterisierung amorpher Carbons angewendet (Ferrari AC Robertson J.).

J. Motz, 2019 Differenzierung physiologischer Gewebearten mit der Raman-Spektroskopie: Grundlagenuntersuchung für die Entwicklung einer optischen Biopsie oraler Malignome; Dissertation Erlangen-Nürnberg

D. Patel B, J. Mehta P. An Overview: Application of Raman Spectroscopy in Pharmaceuti- cal Field. CPA 2010; 6(2):131–41. doi: 10.2174/157341210791202654.

Vankeirsbilck T, Vercauteren A, Baeyens W, Van der Weken, G, Verpoort F, Vergote G et al. Applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis. TrAC Trends in Ana- lytical Chemistry 2002; 21(12):869–77. doi: 10.1016/S0165-9936(02)01208-6.

Li Y-S, Church JS. Raman spectroscopy in the analysis of food and pharmaceutical na-nomaterials. J Food Drug Anal 2014; 22(1):29–48. doi: 10.1016/j.jfda.2014.01.003.

Vandenabeele P, Edwards, Howell G M, Moens L. A decade of Raman spectroscopy in art and archaeology. Chem Rev 2007; 107(3):675–86. doi: 10.1021/cr068036i.

Moore DS, Scharff RJ. Portable Raman explosives detection. Anal Bioanal Chem 2009; 393(6-7):1571–8. doi: 10.1007/s00216-008-2499-5.

Ferrari AC, Robertson J. Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon. Phys. Rev. B 2000; 61(20):14095–107. doi: 10.1103/PhysRevB.61.14095.

Als praktisches Beispiel für die Anwendungsbreite wird hier die Fa. Senorics aus Dresden vorgestellt, die als noch recht junges start-up die Spektroskopie als praktikable Anwendungsvarianten entwickelt hat und schon mit unzähligen Preisen ausgezeichnet wurde:

- Ausgründung des 2017 gegründeten Integrierten Zentrums für Angewandte Physik und Photonische Materialien der Technischen Universität Dresden.
- Spezialisiert auf die Entwicklung und Herstellung von optischen spektroskopischen Sensorlösungen für industrielle Anwendungen wie Qualitätskontrolle und Prozessüberwachung.
- Zu den Produkten und Dienstleistungen gehören kundenspezifische Sensoren, entsprechende Software und Kalibrierungsmodelle.
- Entwicklung einer proprietären neuen Sensortechnologie zur Erkennung von sichtbarem und nahem Infrarotlicht.

EINZIGARTIGE SENSOR-EIGENSCHAFTEN

Die Tatsache, dass wir unseren Kunden eine Reihe von Lösungen anbieten können, beruht auf der einzigartigen Kombination von Sensoreigenschaften, die mit unserer Technologie ermöglicht wurden:



Vollständig anpassbar

Einzelsensoren für individuelle Anwendungen. Unsere Technologie ermöglicht es uns, vollständig angepasste Sensorchips in Bezug auf Pixelanzahl, abgedeckte Wellenlängen, Größe und mehr zu erstellen.



Robust, klein, mobil

Weniger Komponenten, mehr Flexibilität. Unsere Technologie kann auf optische Elemente wie Gitter verzichten. Die resultierenden monolithischen Sensoren sind robust, klein und mobilfreundlich.



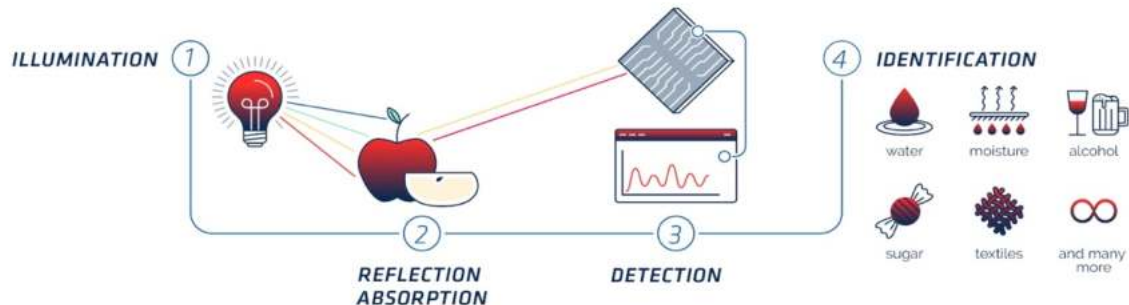
Breite spektrale Abdeckung

Licht von 450 nm bis 1800 nm erfassen - unsere Sensoren können mit einem integrierten Chip sowohl das sichtbare (VIS) als auch das nahe Infrarot (NIR) Spektrum abdecken.



VIS / NIR-SPEKTROSKOPIE

Die folgende Darstellung beschreibt den allgemeinen Prozess der VIS- und NIR-Spektroskopie, der auch für unsere Sensorlösungen verwendet wird



<https://senorics.com/#applications>

1.11.1 Internationale Beispiele für den Entwicklungsstand und Anwendungsgebieten Medizin und Landwirtschaft

Im Folgenden ist eine kleine Auswahl an internationalen Beispielen für den Entwicklungsstand Spektrometrietechnik für medizinische und landwirtschaftliche Anwendungsgebiete zusammengestellt:

L.J. Wang et al. berichten über die Entwicklung einer Messapparatur aus einem Smartphone mit integriertem Spektrometer in Kombination mit einem Küvettenhalter um ca. 180 Serumwerte mobil messen zu können.

Amish Halder et.al. forschen über eine flexible spektrometrische Lichtleitertechnik, um in der Präventivmedizin die Lebererkrankung Gelbsucht in der Augenhornhaut messen zu können.

Alexander Bauer et. al berichten über zwei Methoden zur Analyse von Glukose in der interstitiellen Flüssigkeit der Haut auf der Grundlage der Mittelinfrarot-Erregung mit einem abstimmbaren Quantenkaskadenlaser und photoakustischer oder photothermischer Detektion. Diese Methoden wurden auf optimale Hautstandorte untersucht, um reproduzierbare Glukoseinformationen zu erhalten.

J.Jung et al. überprüfen in dieser Studie den möglichen Einsatz holographischer Spektroskopietechniken in der biologischen Forschung und für damit verbundene praktische Anwendungen. Sie versprechen sich hiermit eine etikettenfreie nichtinvasive optische Detektion und Quantifizierung bestimmter Moleküle in lebenden Zellen und Geweben (z. B. Hämoglobinprotein).

John Wallace und Ingenieure aus Wisconsin haben ein Spektrometer entwickelt, das so klein und einfach ist, dass es sich ohne Einbußen in die Kamera eines typischen Mobiltelefons integrieren lässt. Das Instrument hat einen Spektralbereich von 550 bis 750 nm und eine Auflösung von 1 nm. Das One-shot-Schuss-On-Chip-Spektrometer ist Kandidat für Smartphones, Gesundheitsgeräte und Fertigungsmonitore. Basierend auf photonischen Kristallplatten wird ein Miniaturspektrometer über 100% CMOS-kompatible Verfahren hergestellt. "Dies ist ein kompaktes, single-shot Spektrometer, das eine hohe Auflösung bei niedrigen Herstellungskosten bietet", sagt Zhu Wang, einer der Forscher.

Die Firma Consumer Physics hat das SCiO-Messgerät entwickelt, das nach ihren Aussagen weltweit erste vernetzte Mikrospektrometer im Taschenformat. Ihre Mission ist es, jeden mit materiellen Wahrnehmungsfähigkeiten zu befähigen, wo und wann immer du sie brauchst. Sie glauben, dass die Tage, in denen nur Labore oder erfahrene Fachleute Spektrometer verwendet haben, hinter uns liegen. Jetzt kann jeder einen Materialsensor tragen und eine Welt entdecken, die das Auge nicht sehen kann – die Möglichkeiten seien endlos. Die momentanen Anwendungsgebiete sind in der Kontrolle von Mais- und Getreideproduktion sowie in der Futtermittelanalyse. Weitere Applikationen werden zur Zeit entwickelt.

Hierzu die entsprechenden Publikationen:

[J Biophotonics](#). 2018 Aug;11(8):e201700382. doi: 10.1002/jbio.201700382. Epub 2018 Apr 29.

An ultra-low-cost smartphone octochannel spectrometer for mobile health diagnostics.

[Wang LJ](#)¹, [Naudé N](#)², [Chang YC](#)¹, [Crivaro A](#)², [Kamoun M](#)², [Wang P](#)², [Li L](#)¹.

Author information

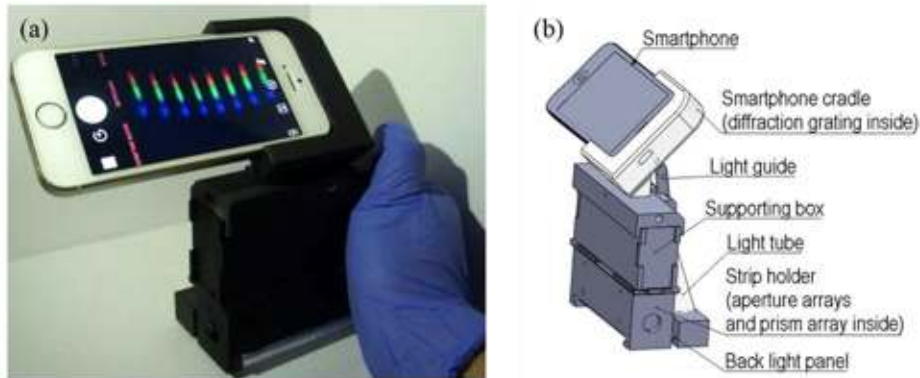
Abstract

With the rapid development and proliferation of mobile devices with powerful computing power and the ability of integrating sensors into mobile devices, the potential impact of mobile health (mHealth) diagnostics on the public health is drawing researchers' attention. We developed a Smartphone Octo-channel Spectrometer (SOS) as a mHealth diagnostic tool. The SOS has nanoscale wavelength resolution, is self-illuminated from the smartphone itself, and is ultra-low cost (less than \$20). A user interface controls the optical sensing parameters and precise alignment. After calibrating and testing the SOS by quantifying protein concentrations, we clinically validated the SOS by comparing the diagnostic performance of our device with that of a clinical spectrophotometer. About 180 serum samples from de-identified patients with 4 types of autoantibodies were blindly read the ELISA results. The accuracy of the SOS achieved 100% across the clinical reportable range compared with the FDA-approved instrument. Furthermore, the self-illuminated SOS only requires about half of the light intensity of the FDA-approved instrument to achieve clinical-level sensitivity. The low-energy-consumption and low-

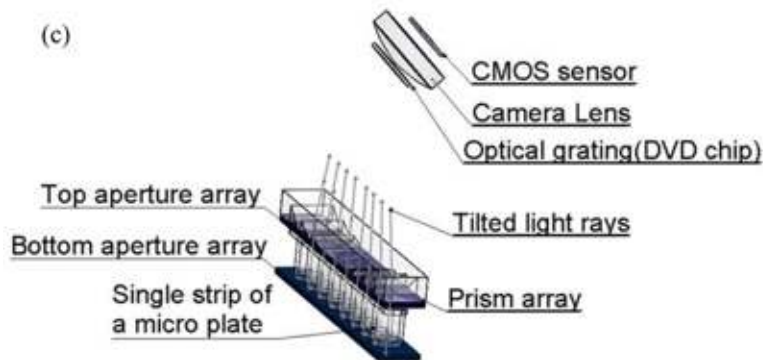
cost SOS enables point-of-care spectrophotometric sensing in low-resource areas, and can be integrated into point-of-care diagnostic systems for rapid multiplex readout and analysis at patient bedside or at home.

Bioelectronics and Medical Devices

From Materials to Devices - Fabrication, Applications and Reliability
Woodhead Publishing Series in Electronic and Optical



Materials



2019, Pages 483-492

autoantibody tests; mobile health; multichannel spectrometer; smartphone optosensor

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29603674>



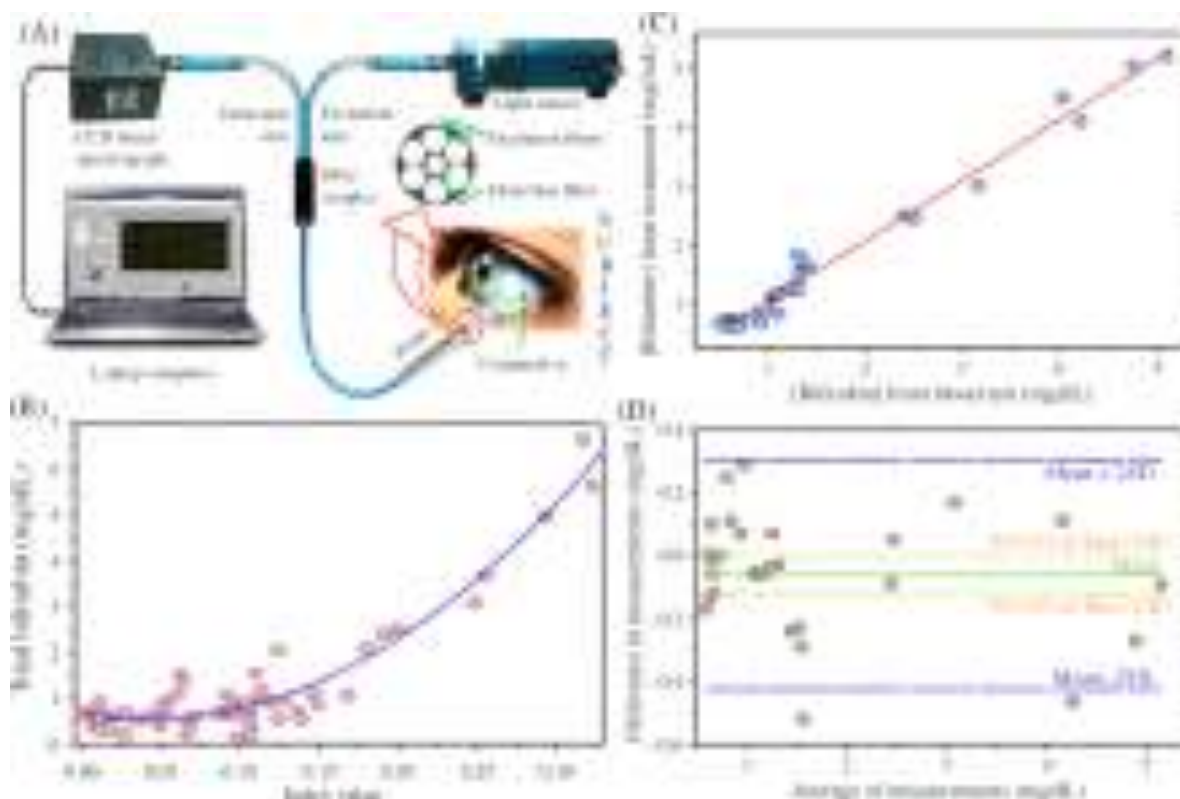
Development of spectroscopy-based medical devices for disease diagnosis in low resource point-of-care setting

I Animesh Halder^{1,2} Soumendra Singh^{1,3} Aniruddha Adhikari¹ Probir Kumar Sarkar^{1,4} Samir Kumar Pal¹

<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102420-1.00025-X> Get rights and content

Abstract

Early detection of diseases is always the most preferable way in order to make strategy for preventive measures. For example, early diagnosis of maternal anemia and neonatal jaundice is reported to reduce significant mortality rate, particularly in low-resource settings. It is well known that various spectroscopic methodologies are extremely useful for the development of disease diagnosis. In the present chapter, we briefly review our efforts to develop various diagnostic tools for the detection of anemia and jaundice either by minimally invasive or completely noninvasive ways. First, a low-cost spectrophotometric minimally invasive detection strategy using ultralow volume of whole blood (10 μL) for the diagnosis of anemia in human subjects is described. Second, our innovative way for the development of a spectroscopy-based noninvasive, even noncontact method for the measurement of hemoglobin levels in humans is discussed. Finally, we describe our development of a working prototype for the detection of jaundice in humans from the conjunctival spectroscopy in a noncontact/noninvasive way.



IR-spectroscopy of skin in vivo: Optimal skin sites and properties for non-invasive glucose measurement by photoacoustic and photothermal spectroscopy

Alexander Bauer, Otto Hertzberg [Alexander Bauer](#), [Otto Hertzberg](#) ArneKüderle, Domonik Strobel, Miguel A. Pleitez, Werner Mäntele

Article in [Journal of Biophotonics](#) 11(Suppl 2) · April 2017 with 135 Reads
DOI: [10.1002/jbio.201600261](https://doi.org/10.1002/jbio.201600261)

Abstract

We have reported two methods to analyze glucose in the interstitial fluid of skin based on mid-infrared excitation with a tunable quantum cascade laser and photoacoustic or photothermal detection. These methods were evaluated for optimum skin locations to obtain reproducible glucose information. The lower part of the arm, the hypothenar, the tips of the index finger and the thumb were tested. The thumb appears to be the optimal skin location, followed by the index finger. Basic requirements for an optimum site are good capillary blood perfusion, low Stratum corneum thickness and the absence of fat layers. To obtain a correlation on such a site, spectra were recorded on volunteers continuously after blood glucose manipulation. However, continuous measurements on an in vivo sample such as the skin have to cope with physiological alterations such as the formation of sweat. We have used both detection schemes to investigate the acid mantle reformation after washing during time scales similar to continuous measurements for calibration spectra. We found that reconstitution of the acid mantle of skin may be seen in less than one hour. Precleaning of the measurement site may thus be useful for intermittent, but not for long term continuous measurements.

https://www.researchgate.net/publication/316197596_IR-spectroscopy_of_skin_in_vivo_Optimal_skin_sites_and_properties_for_non-invasive_glucose_measurement_by_photoacoustic_and_photothermal_spectroscopy

Biomedical applications of holographic microspectroscopy [invited].

[Jung J](#), [Kim K](#), [Yu H](#), [Lee K](#), [Lee S](#), [Nahm S](#), [Park H](#), [Park Y](#).

Abstract

The identification and quantification of specific molecules are crucial for studying the pathophysiology of cells, tissues, and organs as well as diagnosis and treatment of diseases. Recent advances in holographic microspectroscopy, based on quantitative phase imaging or optical coherence tomography techniques, show promise for label-free noninvasive optical detection and quantification of specific molecules in living cells and tissues (e.g., hemoglobin protein). To provide important insight into the potential employment of holographic spectroscopy techniques in biological research and for related practical applications, we review the principles of holographic microspectroscopy techniques and highlight recent studies.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25322118>

Single-shot on-chip spectrometer is candidate for smartphones, health-care devices, and manufacturing monitors

Based on photonic-crystal slabs, a miniature spectrometer is made via 100% CMOS-compatible processes.

[John Wallace](#)

Apr 8th, 2019

Engineers at the University of Wisconsin-Madison have developed a spectrometer that is so small and simple that it could [integrate with the camera of a typical cell phone](#) without sacrificing accuracy. The device contains photodetector arrays overlaid with [photonic-crystal slabs](#) placed on top of the detector pixels, giving each pixel region a different spectral response.¹ The individual spectral responses are complicated and finely patterned ("random" spectral filters) and an algorithm is used to extract the spectral profile of the incoming light.

"This is a compact, single-shot spectrometer that offers high resolution with low fabrication costs," says Zhu Wang, one of the researchers.

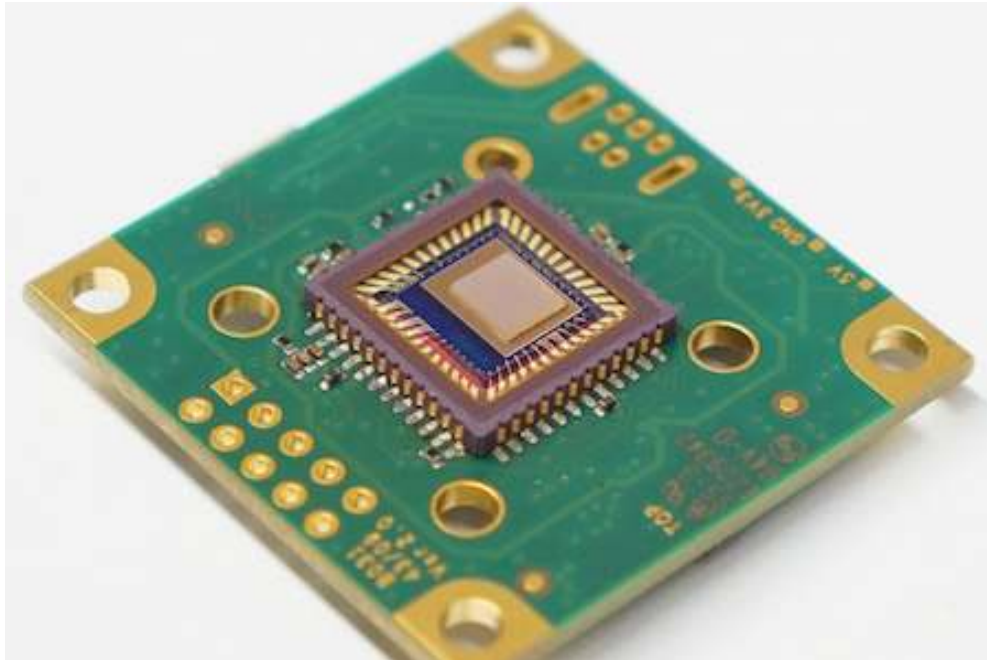
The team's devices can be configured for hyperspectral imaging (where each pixel captures spectral information, resulting in spectral info across a whole image).

[Spectrometers usually rely on prisms or gratings](#) to split light emitted from an object into spectral bands. A camera then can capture and analyze those bands; for example, the spectral fingerprint of the element sodium consists of two bands with wavelengths of 589 and 590 nm.

To have both high spectral sensitivity and large bandwidth, conventional spectrometers usually must be relatively large with a long optical path length. The new spectrometer is a mere 210 μm on a side

and thin enough to lie directly on a sensor from a typical digital camera. The small size was possible because the researchers based their device on photonic-crystal slabs that force incoming light to bounce back and forth several times before reaching the sensor, elongating the path length without adding bulk, boosting the devices' resolution. The instrument has a spectral range of 550 to 750 nm and a resolution of 1 nm. Next, the team hopes to boost the device's spectral resolution as well as the resolution of the images it captures.

Source: <https://www.engr.wisc.edu/broadening-spectrum-professional-quality-pin-sized-sensor-everyday-applications/>



Single-shot on-chip spectrometer is candidate for smartphones, health-care devices, and manufacturing monitors

Das Single-Shot-On-Chip-Spektrometer ist ein Kandidat für Smartphones, Gesundheitsgeräte und Fertigungsmonitore

<https://www.laserfocusworld.com/test-measurement/test-measurement/article/16566944/singleshot-onchip-spectrometer-is-candidate-for-smartphones-healthcare-devices-and-manufacturing-monitors>

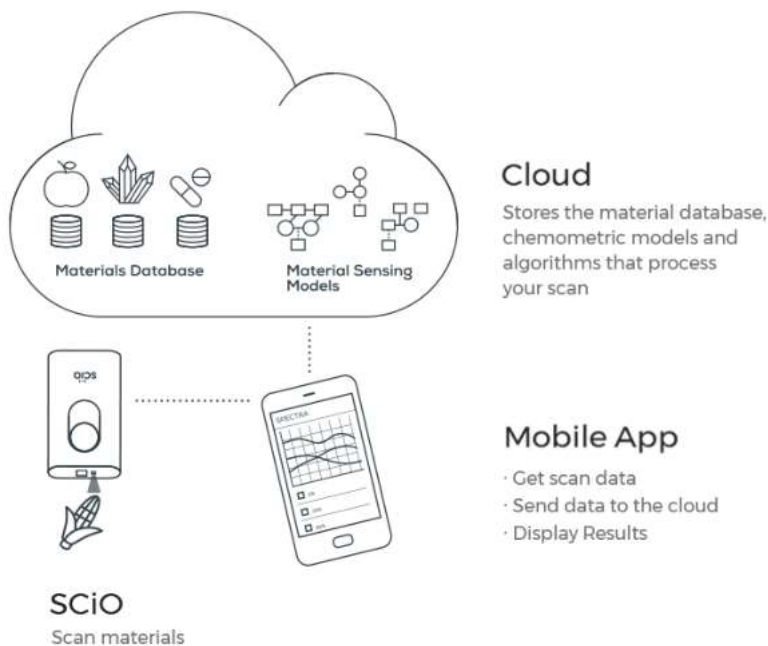
Consumer Physics

We are the company that developed SCiO, the world's first pocket-sized connected micro-spectrometer. Our mission is to empower everyone with material sensing capabilities, wherever, and

whenever you need it. We believe that the days when only labs or skilled professionals used spectrometers are behind us. Now everyone can carry a material sensor and uncover a world the eye cannot see – the possibilities are endless

How we've done it

Utilizing the latest optical, algorithmic, and computer technologies, we took the traditional NIR Spectrometer and miniaturized it into SCiO. Agriculture businesses around the world have already successfully integrated SCiO. Deployment has allowed them to improve the way they grow crops and harvest them, handle quality control, monitor trends and performance, and more, through a powerful connected ecosystem.



Our patented solution combines two integrated technological components, the revolutionary SCiO Sensor, and our powerful cloud. Together these disruptive technologies provide a comprehensive end to end solution that gives you everything your business needs for instant material analysis

The SCiO Sensor

We took the traditional Near Infrared Spectrometer and, using advances in micro-optical technology, miniaturized it. The patented optical head is just a few millimeters in size and provides sensitivity and accuracy levels on par with the best bench spectrometers. The low power consumption and zero

warm up time make it highly responsive and extremely efficient, allowing it to perform hundreds of scans from a small rechargeable battery



Our backend cloud provides the analytical processing power and hosts the material databases

Material Databases

These databases can be collected by Consumer Physics, or by our customers. Some databases are publicly available, and some are proprietary and available only to a specific organization

Algorithms and Models

Our cloud hosts the chemometric models and algorithms that analyze spectra and convert them into useful material data. These are developed by our team of experts according to individual business requirements.

Our chemometric models run on a linearly scalable architecture, which allows us to provide fast response times to a practically infinite number of users and devices

Tools: Corn – Animal Feed – Grains - -Developers

Instant animal feed nutrient analysis

Instant, real-time dry matter analysis on location

- Ensure your livestock gets the best nutrition regime possible
- Adjust, mix, and add rations smartly
- Optimize ration cost, supplementary feeding and performance

Advanced model development tools

An advanced suite of tools for you to collect your own data and build your own models.

- Easy to use tool that enables model development to meet your specific material analysis needs
- Once collected, the dev tools create the models, analyze the spectral data and generate the algorithm

- Models can then be deployed in the cloud and used to analyze materials using the SCiO devices

<https://www.consumerphysics.com/technology/>

Zum SCiO Sensor eine Pressemitteilung vom 14.03.2018

Pressemitteilung | Mar 14. 2018 13:03 GMT

Nahinfrarot-Spektrometer im Taschenformat eröffnet durch Echtzeit-Futtermittelanalyse direkt im Haltungsbetrieb neue Möglichkeiten – Chr. Hansen will zuerst seine Ernährungswissenschaftler und Vertriebshändler und dann alle Kunden damit ausrüsten.

Chr. Hansen und Consumer Physics vereinen ihre Kräfte zur Nutzung und für den Vertrieb von SCiO™, einer revolutionären Lösung für die Futtermittelanalyse auf Grundlage des derzeit kleinsten Nahinfrarot-Spektrometers im Taschenformat. Die Lösung kommt zuerst in den Vereinigten Staaten auf den Markt (mit der Perspektive einer weltweiten Einführung), zunächst bei Chr. Hansens Großkundenbetreuern und Vertriebshändlern und schließlich bei Chr. Hansens Kunden.

SCiO bietet auf Knopfdruck eine sofortige Analyse von Grünfutter und Trockenfutter. So ermöglicht es Ernährungswissenschaftlern und Beratern, bei ihren Besuchen im Haltungsbetrieb Schwankungen in der Zusammensetzung zu beseitigen und die Zuteilungen abzustimmen. Das Gerät erlaubt Echtzeit-Tests und ist sowohl genauer als auch einfacher verwendbar als die bisherigen schwerfälligen Alternativen im Haltungsbetrieb. <https://www.chr-hansen.com/de/media/2018/3/chr-hansen-selects-consumer-physics-to-introduce-cutting-edge-realtime-feed-analysis>

1.12 Anwendungsgebiete Spektrometrie auf Gewebesebene

Das Zell-Check-Spektrometer verwendet eine Kombination aus Diffuser Spektrometrie in Kombination mit dem Raman-Effekt. Zahlreiche Studien haben sich mit der Hautanalyse mit DRS und dem Raman-Effekt auseinandergesetzt, wie z.B.:

1. Hautanalyse, gefolgt vom Hydratationsgrad des Stratum Corneum anhand seines Wassergehalts als Funktion der Tiefe¹¹
2. Spektralanalysen im Zusammenhang mit Unterschieden in der molekularen Konformität zwischen Kollagenen vom Typ I und Typ IV (dermal-epidermaler Übergang)¹²

3. Analyse der Hautalterung über die vorhandenen molekularen Wechselwirkungen zwischen Wasser und Kollagen als Funktion der Alterung¹³
4. Erkennung von Hautkrebs mit der Möglichkeit, verschiedene Arten von Läsionen (gutartig und tumorös) zu diagnostizieren¹⁴
5. Charakterisierung mehrerer optischer Eigenschaften von biologischem Gewebe^{15, 16, 17,18}
6. Vergleich zweier Methoden zur nichtinvasiven Bestimmung von Carotinoiden in menschlicher und tierischer Haut: Raman-Spektroskopie gegenüber der Reflexionsspektroskopie 19
7. Differenzierung physiologischer Gewebearten mit der Raman-Spektroskopie: Grundlagenuntersuchung für die Entwicklung einer optischen Biopsie oraler Malignome 20
8. Entwicklung eines Verfahrens zur quantitativen Auswertung nicht-invasiver reflexionsspektroskopischer Messungen von Beta-Carotin in der Haut 21
9. Development of spectroscopy-based medical devices for disease diagnosis in low resource point-of-care setting 23 (Gelbsuchtmessung in der Augenhornhaut)
10. Biozoom-Gerät: Die Genauigkeit der Messung mit dem Antioxidantien Scanner wird durch ein neuartiges Messverfahren auf Basis der MSRRS Methode (Multiple Spatially Resolved Reflection Spectroscopy) erreicht. Während der Messung wird die Epidermis dabei von 18.000 unterschiedlichen Lichtwellen durchlaufen und sichert somit valide Messergebnisse. Weitere Informationen zur Messtechnik in der Studie „Multiple spatially resolved reflection spectroscopy for in vivo determination of carotenoids in human skin and blood“ aus dem Jahr 2016 . 22

11 Boncheva, M., Sterke, J. d., Caspers, P., & Puppels, G. (2009). Depth profiling of stratum corneum hydration in vivo: A comparison between conductance and confocal raman spectroscopic measurements. *Experimental Dermatology*, 18(10), 870–876

12 Nguyen, T., Gobinet, C., Feru, J., Pasco, S., Manfait, M., & Piot, O. (2012). Characterization of type I and IV collagens by Raman microspectroscopy: Identification of spectral markers of the dermo-epidermal junction. *Spectroscopy (New York)*, 27 (5–6), 421–427

13 Nguyen, T., Happillon, T., Feru, J., Brassart-Pascho, S., Angiboust, J.-F., Manfait, M., & Piot, O. (2013). Raman comparison of skin dermis of different ages: Focus on spectral markers of collagen hydration. *Journal of Raman Spectroscopy*, 44 (9), 1230–1237

14 Lieber, C., Majumder, S., Billheimer, D., Ellis, D., & Mahadevan-Jansen, A. (2008). Raman microspectroscopy for skin cancer detection in vitro. *Journal of Biomedical Optics*, 13(2)

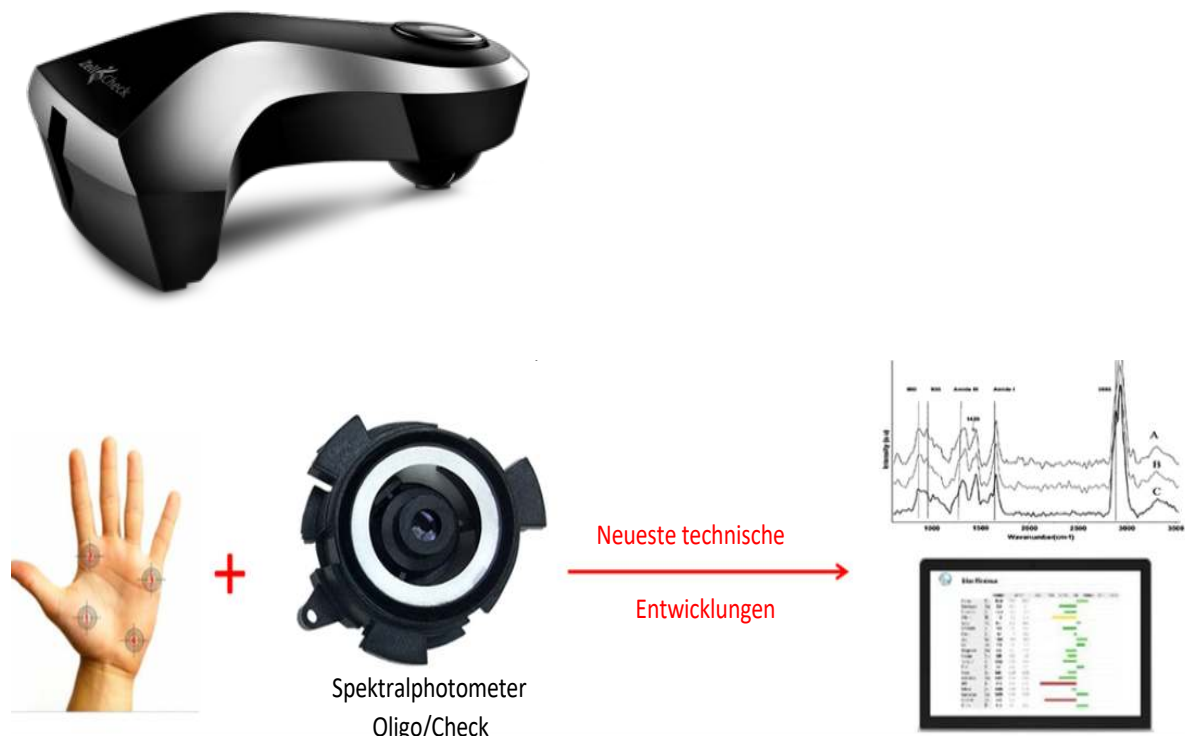
- 15 Zhang, Y., Chen, Y., Yu, Y., Xue, X., Tuchin, V. V., & Zhu, D. (2013). Visible and near-infrared spectroscopy for distinguishing malignant tumor tissue from benign tumor and normal breast tissues in vitro. *Journal of Biomedical Optics*, 18(7), 77003–77003
- 16 Verkruysse, W., Zhang, R., Choi, B., Lucassen, G., Svaasand, L., & Nelson, J. (2005). A library based fitting method for visual reflectance spectroscopy of human skin. *Physics in Medicine and Biology*, 50(1), 57-70
- 17 Taroni, P., Bassi, A., Comelli, D., Farina, A., Cubeddu, R., & Pifferi, A. (2009). Diffuse optical spectroscopy of breast tissue extended to 1100 nm. *Journal of Biomedical Optics*, 14(5)
- 18 Tseng, S.-H., Grant, A., & Durkin, A. (2008). In vivo determination of skin near-infrared optical properties using diffuse optical spectroscopy. *Journal of Biomedical Optics*, 13(1).
- 19 *J. Biophotonik* 5, Nr. 7, 550-558 (2012) / DOI 10.1002/jbio.201100080
- 20 J. Motz, 2019 Differenzierung physiologischer Gewebearten mit der Raman-Spektroskopie: Grundlagenuntersuchung für die Entwicklung einer optischen Biopsie oraler Malignome; Dissertation (Erlangen-Nürnberg)
- 21 Frank Niedorf, 2001, Entwicklung eines Verfahrens zur quantitativen Auswertung nicht-invasiver reflexionsspektroskopischer Messungen von Beta-Carotin in der Haut; Dissertation Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Hochschule Hannover
- 22 Multiple spatially resolved reflection spectroscopy for in vivo determination of carotenoids in human skin and blood
Maxim E Darwin¹, Björn Magnussen², Juergen Lademann¹ and Wolfgang Köcher²
- 21 Department of Dermatology, Venerology and Allergology, Center of Experimental and Applied Cutaneous Physiology, Charité—Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany ² Opsolution GmbH, Kassel, Germany E-mail: maxim.darwin@charite.de Received 8 June 2016, revised 4 July 2016 Accepted for publication 6 July 2016 Published 9 August 2016
- 23 Development of spectroscopy-based medical devices for disease diagnosis in low resource point-of-care setting ²³; ¹Animesh Halder¹² ²Soumendra Singh¹³ ³Aniruddha Adhikari¹ ⁴Probir Kumar Sarkar¹⁴ ⁵Samir Kumar Pal¹; *Bioelectronics and medical devices*, 2019, Pages 483-492

1.13 Spektralphotometrie-Geräte-Systeme auf Gewebsebene auf dem deutschen Markt

1.13.1 Der Zell/SO-Check

Das Diagnosesystem Zell-/ SO-Check wurde über 2 Jahrzehnte mit einer Investorengruppe und zahlreichen Forschungsprojekten entwickelt und anschließend als Diagnosegerät zertifiziert.

Zell/SO-Check – Bioverfügbarkeit von Mineralien und Spurenelementen Die Verwendung der diffusen Reflexionsspektroskopie(DRS)-Analyse der **4 Punkte auf der Handfläche** liefert Informationen über die Konzentration der analysierten Substanzen im Gewebe. Dadurch kann die **Bioverfügbarkeit von Mineralien und Spurenelementen** sowie das Vorhandensein von Schwermetallen im Körper ermittelt werden



1.13.2 Das BIOZOOM-Gerät

Ein Messverfahren auf Basis der MSRRS Methode (Multiple Spatially Resolved Reflection Spectroscopy)

Laut biozoom services GmbH kann die Biozoom-Technologie von jedem und überall als Kontrollwerkzeug für Gesundheit und Wohlbefinden verwendet werden: Als POS-optimiertes **Standdisplay oder als Handscanner** zur Nutzung in Kombination mit Ihrem PC oder Tablet.

biozoom services GmbH: „Biozoom kontrolliert deine Ernährung und sagt dir, ob dein Körper hinreichend mit Vitalstoffen versorgt ist, um dich vor Erkältungs- und Zivilisationskrankheiten zu schützen. Wir sagen dir auch, wann Stress deine Gesundheit beeinträchtigt und wie es um die Belastungsfähigkeit deines Herz-Kreislaufsystems bestellt ist. Ein Fitnesscheck informiert dich über deine körperliche Fitness und zeigt, wie du in deiner Altersklasse abschneidest.

Kurzum, mit biozoom erhältst du täglich ein Feedback deines Körpers (Biofeedback). Im Einklang mit deinem Körper zeigt dir biozoom, wann etwas aus dem Ruder läuft und hilft dir dabei nachzusteuern (Coaching).

Die Messung der Antioxidantien in der menschlichen Haut ist nicht nur für den Bereich der Kosmetik und den Wellnessbereich von großem Interesse, sondern auch in der Klinik werden derartige Untersuchungen eingesetzt. Dies betrifft u. a. die Prävention von dermalen Nebenwirkungen bei Patienten unter Chemotherapie sowie therapiebegleitende Maßnahmen bei Psoriasis und atopischer Dermatitis.

Funktionsweise des Messsystems

Biozoom erkennt anhand eines patentierten optischen Messverfahrens Biomarker in deinem Körper, die für die o.g. Vitalitätsparameter charakteristisch sind. Licht ist ein Informationsträger. **Nun wird Licht bestimmter Wellenlänge in die Haut deines Handballens eingestrahlt, das Licht durchdringt das Gewebe, nimmt Informationen bestimmter Biomarker auf und reflektiert das aufgenommene Spektrum an der Scanner.** Der Scanner wiederum sendet sie an die biozoom-Zentralserver, wo sie mithilfe eines hochkomplexen medizinisch validierten Algorithmus ausgewertet werden. Das Ergebnis wird dir umgehend auf deinem Endgerät angezeigt.

Die Genauigkeit der Messung mit dem Antioxidantien Scanner wird durch ein neuartiges Messverfahren auf Basis der MSRRS Methode (Multiple Spatially Resolved Reflection Spectroscopy) erreicht. Während der Messung wird die Epidermis dabei von 18.000 unterschiedlichen Lichtwellen durchlaufen und sichert somit valide Messergebnisse.

Weitere Informationen zur Messtechnik findest du unter n Sie in der Studie „Multiple spatially resolved reflection spectroscopy for in vivo determination of carotenoids in human skin and blood“ aus dem Jahr 2016.

„biozoom bietet unseren Ärzten eine schnelle, exakte und bestätigte Bewertung wichtiger

Biomarker. Wir verwenden biozoom seit drei Jahren und halten es für ein grundlegendes Gerät

zur täglichen Gesundheitspflege.“

Prof. Dr. Jürgen Lademann, Leiter der Abteilung für Hautphysiologie Charité Berlin“

<https://mybiozoom.com/de/entdecken/>



Stand-alone Messsystem für POS zur Ermittlung des antioxidativen Niveaus über die Haut des Daumenballens.

Optischer Handschanner zur Ermittlung des antioxidativen Niveaus

Das VitalityCheck Standdisplay ist ein für die Verkaufsfläche optimierter biozoom-Scanner, der Biomarker in der Haut analysiert und das antioxidative Niveau, den Ruhepuls, die Herzratenvariabilität und das Biologische Alter binnen Sekunden ermittelt.

<https://mybiozoom.com/de/produkt/vitalitycheck-standdisplay/>

s. auch:

Publikation Nr. 5

und im Anhang

1.14 Anwendungsgebiete am Beispiel einiger Publikationen

Zur Veranschaulichung der Anwendung dieser Spektrometrietechnik werden im Folgenden eine Reihe von Veröffentlichungen rund um dem Thema Spektroskopie zur trans- oder intracutanen Messung in Auszügen und teilweise aus dem Englischen übersetzt, vorgestellt:

Publikation 1:

Vergleich zweier Methoden zur nichtinvasiven Bestimmung von Carotinoiden in menschlicher und tierischer Haut: Raman-Spektroskopie gegenüber der Reflexionsspektroskopie

Maxim E. Darwin^{*, 1}, Carl Sandhagen², Wolfgang Koecher^{*, 2}, Wolfram Sterry¹, Juergen Lademann¹, und Martina C. Meinke¹

¹ Charité – Universitätsmedizin Berlin, Abteilung für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Zentrum für Experimentelle und Kutane Physiologie (CCP), Charité-Platz 1, 10117 Berlin, Deutschland

² Opsolution Spectroscopic Systems GmbH, Goethestr. 25–27, 34119 Kassel, Deutschland

Eingegangen am 24. August 2011, überarbeitet am 22. Dezember 2011, angenommen am 29. Dezember 2011

Online veröffentlicht am 24. Januar 2012

Schlüsselwörter: Antioxidantien, Epidermis, Euterhaut von Rindern, freie Radikale, Anti-Aging, Chromophore

Basierend auf überzeugenden In-vivo- und In-vitro-Studien an menschlicher Haut wird angenommen, dass Carotinoide als starke Antioxidantien bei der Verhinderung von durch freie Radikale verursachter Schäden, einschließlich vorzeitiger Hautalterung und der Entwicklung von Hautkrankheiten wie Krebs von großer Bedeutung sein können. Zu den verfügbaren Techniken, die zur nichtinvasiven Bestimmung von Carotinoiden in der menschlichen Haut geeignet sind, gehören die Resonanz-Raman-Spektroskopie (RRS) und die Reflexionsspektroskopie (RS). Für RS wurde ein LED-basiertes miniaturisiertes spektroskopisches System (MSS) zur nichtinvasiven Messung von Carotinoiden in der menschlichen Haut entwickelt. Die Optimierung und anschließende Kalibrierung des MSS wurde unter Verwendung von RRS durchgeführt. Zwischen der vom RS bestimmten Carotinoidkonzentration und dem RRS-System wurde für die menschliche Haut in vivo ($R = 1/4 \ 0,88$) und für die Euterhaut von Rindern in vivo ($R = 1/4 \ 0,81$) eine starke Korrelation erreicht.

Einleitung

In der menschlichen Haut entstehen kontinuierlich freie Radikale nach Stoffwechselprozessen [1], Sonneneinstrahlung [2–4], Einfluss von Umweltgefahren und Toxinen [5]. Normalerweise werden Redoxprozesse durch das antioxidative Abwehrsystem [6] gut ausgeglichen, aber

bei einem offensichtlichen Anstieg der Konzentration freier Radikale dominieren die oxidativen Reaktionen, wodurch oxidative Stressbedingungen entstehen [7, 8]. Durch freie Radikale induzierter oxidativer Stress ist die Hauptursache für die Entwicklung vorzeitiger Hautalterung [9–12] und verschiedener Hauterkrankungen, einschließlich Hautkrebs [13–15]. Darüber hinaus wurde eine Schutzfunktion der Antioxidantien durch Verringerung des Risikos von Herz-Kreislauf-Erkrankungen festgestellt [16]. Unter einer Vielzahl von kutanen Antioxidantien könnten Carotinoide (Alpha-Carotin, Beta-Carotin, Lycopin, Lutein), Vitamine (A, C, D, E), Enzyme (Superoxiddismutase, Katalase, Glutathionperoxid) und andere Substanzen (Flavonoide, Liponsäure, Harnsäure, Selen, Coenzym Q10 usw.) aufgeführt werden [17–20]. Alle Antioxidantien wirken als „Schutzkette“, was bedeutet, dass verschiedene Antioxidantien eine synergistische Wirkung haben und sich gegenseitig vor direkter Zerstörung durch Neutralisationsreaktionen freier Radikale schützen [21, 22]. Dies tritt auf, wenn Antioxidantien in einem ausgewogenen Gemisch in physiologischen Konzentrationen angewendet werden [23]. Kürzlich hat sich gezeigt, dass Carotinoide als starke Antioxidantien [24–26] als Markersubstanzen für das gesamte antioxidative Netzwerk der menschlichen Haut [27–29] dienen können. Carotinoide sind antioxidative Nahrungsergänzungsmittel und die Faktoren, die die Kinetik ihres Abbaus und die Zunahme der menschlichen Haut beeinflussen, werden bestimmt [30–33]. Lifestyle-Faktoren wie

Rauchen, psychischer Stress und Alkoholmissbrauch reduzieren das Niveau von Antioxidantien [34, 35], daher kann die Carotinoidkonzentration im Plasma und in der Haut erheblich variieren, wobei sich eine Korrelation zwischen beiden zeigte [36]. Darüber hinaus wurde eine starke Korrelation zwischen der Hautrauheit, gemessen als Tiefe und Dichte der Furchen und Falten, und der Konzentration von kutanem Lycopin erreicht [37]. Daher ist die nichtinvasive Messung von Carotinoiden in der menschlichen Haut für eine solche Kontrolle von großer Bedeutung und innovativ.

Als etablierte Methode der nichtinvasiven selektiven Messungen von kutanen Carotinoiden ist die Resonanz-Raman-Spektroskopie (RRS) weit verbreitet [38–42]. Der unbestreitbare Vorteil von RRS ist die selektive Messung der Carotinoide [43]. Neben den grundsätzlichen Einschränkungen der RRS-Methode [44, 45] liegt das hauptsächlich praktische Manko in der sperrigen Größe des Aufbaus, die hauptsächlich von der Größe des verwendeten Lasers und Spektrometers abhängt. Das im RRS-Setup verwendete Spektrometer ist empfindlich gegenüber Vibrationen, weshalb der Transport von RRS-Geräten unerwünscht ist. Darüber hinaus ist das RRS-Gerät teuer und daher ist seine Anwendung auf Krankenhäuser und medizinische Einrichtungen begrenzt.

Während die ersten Versuche, spektroskopische Messungen in der Medizin anzuwenden, Mitte des 19. Jahrhunderts begannen, wurde eine erfolgreiche spektroskopisch ähnlich ist, wurden die Ergebnisse zu einem späteren Zeitpunkt von Stahl et al. [51] verwendet.

Die Notwendigkeit eines kompakten, vibrationsstabilen, batteriebasierten Geräts zur Messung von Carotinoiden in menschlicher oder tierischer Haut ist heute in den Bereichen Kosmetologie, Dermatologie, Veterinärmedizin und Lebensmittelindustrie von großem Interesse.

In der vorliegenden Arbeit wird ein kleines tragbares Gerät vorgestellt, das auf Reflexionsspektroskopie unter Verwendung von Leuchtdioden (LEDs) für nichtinvasive Messungen von Carotinoiden in der menschlichen Haut basiert und mit RRS-Messungen verglichen wird.

5. Fazit

Reflexionsspektroskopie könnte zur nichtinvasiven Messung von Carotinoiden in der menschlichen Haut dienen. Das Messprinzip basiert auf den multivariaten Analysen diffuser Reflexionsspektren, die nach Erregung der Haut mit blauem LED-Licht im Bereich von 465 bis 25 nm aufgenommen wurden.

Die Kalibrierungsmessungen unter Verwendung der Resonanz-Raman-Spektroskopie (RRS) zeigten einen starken Korrelationskoeffizienten von $R = 0,88$ für die menschliche Haut in vivo und von $R = 0,81$ für die Euterhaut von Rindern in vitro.

Diese hohe Korrelation für Carotinoide konnte erreicht werden, da der Einfluss auf die Reflexionsmessungen-

Implementierung erst 1954 erreicht [36]. Seit mehr als 50 Jahren werden Studien zur Reflexionsspektroskopie in der menschlichen Haut durchgeführt. Die meisten dieser Untersuchungen wurden zur Messung der Blutbestandteile Hämoglobin, Bilirubin und Melanin durch die Haut in verschiedenen Spektralbereichen durchgeführt [46–48], die dann zur Beurteilung der Hautfarbe herangezogen wurden [49].

Viele Studien haben die Gegenwart von Carotinoiden in der menschlichen Epidermis nicht berücksichtigt [48].

1964 erwähnten Buckley und Grum [50] die Möglichkeit, die Carotinoide in der menschlichen Haut durch Reflexionsspektroskopie unter Erregung bei etwa 480 nm zu bestimmen. Der Einfluss anderer kutaner Chromophore machte die Messung von Carotinoiden nicht reproduzierbar.

Die reflexionsspektroskopische Methode zur Messung von Carotinoiden in der Haut wurde zuvor von Niedorf [36] vorgestellt, wobei der Schwerpunkt auf der Untersuchung von Rinderhaut lag. Mit einem Gitterspektrometer (170–880 nm) und einer Halogenlichtquelle (350–2000 nm) in Verbindung mit sieben Glasfasern verglich Niedorf seine reflexionsspektroskopischen Messungen mit der HPLC-Analyse von 15 Biopsien, die aus Rinderuterhaut entnommen wurden. Für die Vorhersage der Carotinoidkonzentration erhielt er eine signifikante Korrelation von $R = 0,711$. Da die Euterhaut von Rindern der menschlichen Haut

anderer kutaner Chromophoren (Melanin, FAD, FADH₂, Hämoglobin, Bilirubin, Wasser, Tryptophan, Tyrosin, NAD, NADH, Urocaninsäure, Fettsäuren, DNA, Vitamin E und Proteine) könnten durch die Auswahl des Wellenlängen-Bereichs und der Hautbereiche für die Messung auf der Handfläche reduziert werden, wo das Stratum Corneum 10 Mal dicker ist, als in anderen Hautbereichen. Daher erreicht der größte Teil des rückgestreuten Lichts nur eine geringe Anzahl der oben genannten Chromophore. Die verbleibenden Einflüsse von z. B. Hämoglobin und Streuungseigenschaften tragen in geringerem Maße bei, als die Carotinoidkonzentration. Darüber hinaus ist die Gegenwart angemessener Referenzdaten, die vom nichtinvasiven RRS bereitgestellt werden, eine Voraussetzung, um derart hohe Korrelationskoeffizienten unter Verwendung des Verfahrens der kleinsten Teilquadrate zu erhalten.

Daher könnte das miniaturisierte spektroskopische System, bei dem das Arbeitsprinzip auf Reflexionsspektroskopie basiert, ein geeignetes nichtinvasives Gerät für schnelle, sichere und zuverlässige Messungen von Carotinoiden auf den Handflächen von Menschen oder an der Euterhaut von Rindern sein, das Daten liefert, die mit dem Lebensstil, Ernährungs- und Stressfaktoren der gemessenen Probanden korreliert. Folglich kann dieses Verfahren zur In-vivo-Überwachung der Carotinoidkonzentration in menschlicher oder tierischer Haut verwendet werden.

Publikation 2:

Aus: Johanna Motz, Dissertation 2019

Differenzierung physiologischer Gewebearten mit der Raman-Spektroskopie: Grundlagenuntersuchung für die Entwicklung einer optischen Biopsie oraler Malignome

2 Zusammenfassung

2.1 Hintergrund und Ziele

Plattenepithelkarzinome der Mundhöhle stellen eine ernst zu nehmende Erkrankung dar, die zumeist erst in einem fortgeschrittenen Stadium (T3, T4) erkannt wird und mit einer geringen relativen 5-Jahres-Überlebensrate (Männer 48%, Frauen 61%) sowie einer starken Beeinträchtigung der Lebensqualität einher geht. Experten sind sich einig, dass eine zuverlässige Frühdiagnose ein entscheidender Schritt bei der Verbesserung der Outcome-Parameter bei Patienten mit OSCC darstellt.

Konventionelle Screeningmaßnahmen zur frühen Diagnosestellung des OSCC sind der subjektiven Erfahrung und den visuellen Limitationen des Behandlers unterworfen. Einen Lösungsansatz um die Früherkennung sicherer und zuverlässiger zu gestalten, bietet die Raman-Spektroskopie, welche im technischen Bereich bereits als hochsensitives und präzises Materialanalyseverfahren etabliert ist. Der Transfer dieser optischen Methode auf den

biologisch-medizinischen Bereich soll, im Sinne einer nicht-invasiven optischen Biopsie, eine objektive sowie reproduzierbare Klassifizierung des untersuchten oralen Gewebes auf molekularer Ebene ermöglichen. Ziel des vorliegenden Projekts war die Erarbeitung eines instrumentellen Setups zur Erhebung von Raman-Spektren biologischen Gewebes, die Bereinigung des sehr schwachen Raman-Signals von oft starken Fluoreszenzüberlagerungen sowie die Evaluation der gewählten Belichtungs- und Aufnahme-Parameter für eine zeiteffektive und gleichzeitig nicht-invasive Anwendung an verschiedenen biologischen Geweben. Im Sinne einer Grundlagenuntersuchung wurden anschließend die Raman-Spektren verschiedener physiologischer Gewebearten des Kopf-Halsbereiches des Schweines erhoben und auf ihre Differenzierbarkeit hin untersucht, um das Potenzial der Raman-Spektroskopie als Diagnoseinstrument bei Mundschleimhautveränderungen des Menschen zu evaluieren.

2.2 Methoden

Es wurden die Raman-Spektren von sechs verschiedenen Gewebearten aus der Gesichtsregion vom Schwein (Fett, Nerv, Haut, Mukosa, Kortikalis und Spongiosa) erhoben. Es wurde mit einer Laserleistung von 100 mW, einer Integrationszeit von 100 ms und einer Anregungswellenlänge von 785 nm gearbeitet. Die Spektren wurden mathematisch mittels eines Iterativen Polynomial Fitting Algorithmus weitgehend vom überlagerten und beeinträchtigenden

Fluoreszenz-Signal bereinigt. Anschließend wurden die Spektren unter Nutzung der Hauptkomponenten-Analyse und der Linearen Diskriminanzanalyse in sieben verschiedenen Paar-Kombinationen differenziert. Die optimale Anzahl an Hauptkomponenten sowie der optimale Klassifikator zur Differenzierung der Gewebeproben wurden mittels Kreuzvalidierung ermittelt.

2.3 Ergebnisse

Es gelang die Differenzierung der Gewebekombinationen Fett vs. Mukosa sowie Nerv vs. Haut mit den gewählten Anregungs- und

Aquisitionsparametern fehlerfrei (Sens.: 100 %, Spez.: 100 %). Bei Fett vs. Kortikalis gelang die Differenzierung mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 95,54 % möglich, bei Fett vs. Nerv mit einer Sensitivität von 91,41 % und einer Spezifität von 92,99 %. Die Differenzierung von Haut vs. Mukosa gelang mit einer Sensitivität von 78,98% und einer Spezifität von 77,91 %. Bei Spongiosa vs. Kortikalis betrug die Sensitivität 72,50 % und die Spezifität 72,50 %.

2.4 Praktische Schlussfolgerung

Die Ergebnisse zeigen, dass ein geeignetes Setup entwickelt wurde, mit dem Raman-Spektren erhoben werden können, ohne dass das untersuchte Gewebe Schaden nimmt. Das Raman-Signal konnte mathematisch mittels Iterativen Polynomial Fitting Algorithmus weitgehend vom überlagernden Fluoreszenz-Signal getrennt werden. Dank der mit 100ms sehr kurzen Integrationszeit (Zeitspanne der Raman- Signaldetektion), sowie der Verwendung der tragbaren Messsonde (Ventana-785- Probe-VP785-0009, Oceanoptics) ist eine zukünftige in vivo Anwendung an oraler Schleimhaut

von 99,38 %. Bei Haut vs. Spongiosa war die Zuordnung der Raman-Spektren zu den entsprechenden Gewebearten mit einer Sensitivität von 93,87 % und eine Spezifität umsetzbar. Eine Differenzierung der verglichenen Proben ist möglich, wenn sich die Gewebearten in ihrem molekularen Aufbau stark unterscheiden und nimmt in ihrer Zuverlässigkeit ab je ähnlicher sich die Proben in diesem Aufbau sind. Der entscheidende nächste Schritt für eine zuverlässigere Differenzierung wird in einer verbesserten Signal-Verarbeitungskette zur Eliminierung des Fluoreszenz- Signals gesehen, so dass auch subtilere Unterschiede in den Spektren mittels PCA und LDA erkannt werden können. Dem Titel dieser Arbeit, die Grundlagen der Anwendung von RS zur Differenzierung biologischer Gewebearten weiter zu erforschen, um so einen Beitrag zur Entwicklung eines optischen Diagnoseinstruments zur Früherkennung oraler Malignome zu leisten, konnte somit Rechnung getragen werden. Für die tatsächliche Entwicklung eines solchen Diagnoseinstruments ist noch weiterer intensive Forschung nötig.

Publikation 3:

Photonics & Lasers in Medicine [Band 2: Heft 4](#)

Spectral *in vivo* signature of carotenoids in visible light diffuse reflectance from skin in comparison to *ex vivo* absorption spectra

Spektral aufgelöste *In-vivo*-Signale von Karotinoiden in der diffusen Reflektion von Haut im Vergleich zu *Ex-vivo*-Absorptionsspektren

Stefan Andree, Carina Reble und Jürgen Helfmann

<https://doi.org/10.1515/plm-2013-0032>

Online veröffentlicht:
14.08.2013

Abstract

Objective: To increase the carotenoid concentration in skin by drinking carrot juice

to generate an optical response and to determine an in vivo absorption spectrum of the carotenoids and compare it to ex vivoabsorption spectra.

Material and methods: The first author of the presented study consumed carrot juice over a period of several weeks and during this time regularly performed optical reflection measurements on his palm. The spectroscopic measurements were carried out with a fiber-based sensor using a thermal light source. Absorption coefficients have been deduced from the diffuse reflectance data. Measurements were also performed on a β -carotene solution, on carrot juice and its extracted carotenoids. The correlation coefficient between carrot juice intake in liters and the optical skin signal was used to select an optimal wavelength for carotenoid detection (493 nm).

Results: An in vivo signal of the carotenoids was found in the spectral range from 400 nm to 580 nm. A 1-l intake of carrot juice resulted in a 0.6% decrease of the diffuse reflectance. The absorption of hemoglobin interferes with the carotenoid signal even though the blood was pressed away. Consequently, a method was used that could lead to the elimination of this disturbance and an in vivo absorption spectrum from the carotenoids in skin was determined by way of trial. The in vivo carotenoid spectrum and that of the carrot juice were both found to a similar extent to be spectrally broader than the absorption spectrum of β -carotene dissolved in cyclohexane.

Conclusion: Detection of carotenoids in skin is possible by diffuse reflectance measurements with a simple spectroscopic optical setup, as it is described in this article. As found by comparing different publications, several geometries for illumination and detection support carotenoid quantification. However, the fiber probe described here is not limited to carotenoid detection and it does not need arrangement of several optical elements such as lenses, mirrors or apertures and therefore requiring less effort for development. To eliminate the interference of hemoglobin, the authors suggest the combination of pressure and the described software method. Other publications have reported hemoglobin interference with respect to in vivocarotenoid measurement. As the carotenoids are mainly found in the bloodless epidermis, setups are suggested which use smaller sampling volumes.

Publikation 4:

Frank Niedorf, Dissertation Hannover 2001

Entwicklung eines Verfahrens zur quantitativen Auswertung nicht-invasiver reflexionsspektroskopischer Messungen von Beta-Carotin in der Haut

Die Zusammenfassung Frank Niedorf:

Die Arbeit legt eine von mir entwickelte Methode zur Extraktion quantitativer Informationen aus nicht-invasiv an der Haut gewonnenen Reflexionsspektren dar. Dieses Verfahren wurde anhand einer Studie zur Pharmakokinetik von Beta-Carotin in der Haut evaluiert. Die Untersuchungen wurden am Modell des isoliert perfundierten Rindereuters durchgeführt, welches aufgrund der Perfusion mit blutfreier Nährlösung sowie guter Standardisierbarkeit methodische Vorteile besitzt.

Die in der Arbeit entwickelte Datenanalyse beruht auf dem Prinzip, Reflexionsspektren nach dem Prinzip der Minimierung der Abweichungsquadrate auf Reinspektren bekannter Farbstoffe zurückzuführen. Vor der Anwendung dieses sogenannten classical least squares (CLS)-Verfahrens müssen jedoch an den Spektren zahlreiche durch die Messung in komplexer biologischer Matrix ausgelöste Verzerrungen korrigiert werden. Dazu wurden überlagernde Streuspektren als polynomische Basislinien höheren Grades aufgefaßt und durch einen in dieser Arbeit entwickelten iterativen Algorithmus korrigiert. Daneben wird der Effekt additiver Farbmischung kompensiert, der auf inhomogene Lichtwege und Farbstoffverteilungen im Gewebe zurückzuführen ist. Des Weiteren wird das stark vom Lösungsmittel abhängige Spektrum von Beta-Carotin in der Haut iterativ bestimmt.

Die in der Arbeit entwickelte Datenanalyse ist in der Lage, die spektralen Charakteristika von Hautspektren unter Verwendung der Reinspektren von Oxy- und Desoxy-Hämoglobin sowie von Beta-Carotin präzise

nachzubilden. Daneben wurden Anzeichen für weitere in der Haut befindliche Chromophore gefunden, deren Einfluß auf die Präzision der Methode jedoch nur gering ist.

Die Kenntnis der mittleren Photonenweglänge ist für quantitative Messungen unerlässlich, jedoch übt sie sich nach dem Stand der Technik nicht für jede Messung einzeln bestimmen. Sie wurde daher exemplarisch an sechs unbehandelten Hautproben ermittelt. Dazu dienten mit einer Ulbrichtkugel aufgenommene Reflexions- und Transmissionsspektren, aus denen der Absorptions- und Streukoeffizient des jeweiligen Hautstückes an drei im Bereich der Beta-Carotin-Absorption liegenden Wellenlängen bestimmt wurde. Diese Berechnung und die anschließende Bestimmung der Photonenweglänge geschah mittels Monte-Carlo-Simulationen. Vergleichende Messungen mit einer etablierten HPLC-Methode wurden an 15 Euterhautproben durchgeführt. Dabei zeigte sich eine signifikante Korrelation der Daten (Spearman'scher Korrelationskoeffizient: 0,711).

Zu Beginn der anschließenden Studie zur Pharmakokinetik von Beta-Carotin in der Haut wurde zunächst der Einfluß der Perfusion auf die dermale Beta-Carotin-Konzentration in Rindereuterhaut bestimmt. Dabei ergab sich bei keinem Versuch eine signifikante Änderung. Auffällig war die starke Heterogenität des Probenmaterials hinsichtlich der dermalen Beta-Carotin-Ausgangskonzentration mit Werten zwischen 481 ng/g und 23271 ng/g Gewebe.

In den folgenden Versuchen zur Pharmakokinetik von Beta-Carotin wurde eine dosisabhängige Verteilung von Beta-

Carotin in die Haut beobachtet. Weiterhin konnte ein Abfall der dermalen Beta-Carotin-Konzentration unter UV-Bestrahlung gezeigt werden. Bei den Anflutungsversuchen fiel ein mit steigenden Konzentrationen einhergehendes Sättigungsphänomen sowie individuell stark variierende Anstiege der dermalen Beta-Carotin-Konzentration auf. Hingegen zeigte sich bei allen Versuchen beim gleichzeitig mitbestimmten Hämoglobin ein gleichmäßiger Abfall. Dies deutet darauf hin, daß es sich bei den beobachteten Schwankungen des Beta-Carotins um echte Konzentrationsunterschiede handelt, und diese nicht etwa meßtechnisch bedingt sind. Somit kann die Schlußfolgerung gezogen werden, daß die Reflexionsspektroskopie geeignet ist, Farbstoffe nicht-invasiv in einem biologischen Gewebe zu bestimmen. Da die für die Quantifizierung benötigte Photonenweglänge nach dem Stand der Technik jedoch nicht für jede Messung einzeln bestimmt werden kann, ist die Präzision eingeschränkt. Eine Anwendung der Reflexionsspektroskopie sollte daher nur dann in Betracht gezogen werden, wenn eine Nicht-Invasivität oder ein Zeitgewinn durch fehlende Probenaufbereitung entscheidend ist.

Frank Niedorf, 2001, Entwicklung eines Verfahrens zur quantitativen Auswertung nicht-invasiver reflexionsspektroskopischer Messungen von Beta-Carotin in der Haut; Dissertation Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Hochschule Hannover

Publikation 5:

Multiple spatially resolved reflection spectroscopy for in vivo determination of carotenoids in human skin and blood

Maxim E Darwin¹, Björn Magnussen², Juergen Lademann¹ and Wolfgang Köcher²

¹ Department of Dermatology, Venerology and Allergology, Center of Experimental and Applied Cutaneous Physiology, Charité—Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany ² Opsolution

Abstract

Non-invasive measurement of carotenoid antioxidants in human skin is one of the important tasks to investigate the skin physiology *in vivo*. Resonance Raman spectroscopy and reflection spectroscopy are the most frequently used non-invasive techniques in dermatology and skin physiology. In the present study, an improved method based on multiple spatially resolved reflection spectroscopy (MSRRS) was introduced. The results obtained were compared with those obtained using the ‘gold standard’ resonance Raman spectroscopy method and showed strong correlations for the total carotenoid concentration ($R = 0.83$) as well as for lycopene ($R = 0.80$). The measurement stability was confirmed to be better than 10% within the total temperature range from 5 °C to + 30 °C and pressure contact between the skin and the MSRRS sensor from 800 Pa to 18 000 Pa. In addition, blood samples taken from the subjects were analyzed for carotenoid concentrations. The MSRRS sensor was calibrated on the blood carotenoid concentrations resulting in being able to predict with a correlation of $R = 0.79$. On the basis of blood carotenoids it could be demonstrated that the MSRRS cutaneous measurements are not influenced by Fitzpatrick skin types I–VI. The MSRRS sensor is commercially available under the brand name biozoom. Keywords: ascorbic acid, mesenchymal stem cell, infrapatellar fat pad, extracellular matrix, stiffness, chondrogenesis (Some figures may appear in colour only in the online journal)

1. Introduction

Human skin contains different antioxidants [1–3] in order to counteract the free radicals, which are generated in the skin subsequent to the influence of external (solar irradiation, heat, environmental toxins and pollutants) [4–8] and internal (inflammation, diseases, stress) [9–11] stress factors. Protection mechanisms based on topical and systemic

application of antioxidants are recommended [12–14]. The carotenoids are fat-soluble antioxidants protecting the skin against reactive oxygen species—free radicals with highest oxidative activity [15, 16]. Carotenoids are highly concentrated in the stratum corneum [17, 18] and serve as marker substances for the complete antioxidant status of the human epidermis [19, 20]. The concentration of cutaneous carotenoids mirror the nutritional habits [21, 22] and lifestyle of volunteers [9, 23]. Therefore, their non-invasive determination is highly important in dermatology and skin physiology.

Resonance Raman spectroscopy (RRS) [24], confocal Raman microscopy (CRM) [17], reflection spectroscopy (RS) [25] and skin color measurements (SCM) [26] are known optical methods appropriated for the determination of carotenoids in human skin *in vivo*. The above-mentioned methods have advantages, shortcomings and limitations [27], most important of which are measurement sensitivity and repeatability. At present the RRS serves as a ‘gold standard’ among all available noninvasive methods. The RRS is expensive and bulky, therefore the development of small-sized devices providing a sensitivity and repeatability comparable to that of RRS, is desirable. The miniaturized spectrometer-based RS device described previously [25] complies well with these requirements, but has one limitation—its measurement repeatability has not been high enough, so far. Human skin is highly inhomogeneous due to the presence of different chromophores, furrows, wrinkles, birthmarks, layered microstructure, etc [28, 29]. This makes the light propagation through the skin a very complicated process [30], which is characterized by inhomogeneous multiple scattering and reabsorption [31]. As a result, the repeatability and validity of some optical measurements is not sufficient and needs to be improved. Since spectroscopic devices with a single point irradiation and a

single point detection of light are unable to distinguish between the optical signals being influenced by scattering or absorption, spatially resolved spectroscopy (SRS) was developed [32, 33]. SRS picks up the light at several positions that have different distances to the light source [34, 35]. This allows distinguishing data where the light has gone deeper into the skin from data where the light only entered the skin surface ('banana' shaped photons distribution in the skin). Using this method signals in unwanted depths can be removed from the informative signal. Applying SRS to biological tissue is critical. skin samples. To overcome this problem, a new sensor concept using multiple spatially resolved reflection spectroscopy (MSRRS), was developed and introduced in the present study.

2. Materials and methods

2.1. Resonance Raman spectroscopy (RRS)
The resonance Raman spectroscopy is a popular method used worldwide for the non-invasive determination of carotenoids in the human skin [27]. The utilized excitation wavelengths lie in the blue–green range of the spectrum, which coincides with the maximum absorption ability of carotenoids, giving rise to the corresponding Raman signal amplification at resonant conditions [36]. The two wavelengths of an Ar⁺ laser, 488 nm and 514.5 nm, were used to excite carotenoids resonantly. Under the 488 nm excitation, all kinds of cutaneous carotenoids (alpha-, beta-, gamma-, sigma-carotene, lutein, zeaxanthin, lycopene and their isomers) were excited almost identically, while under the 514.5 nm excitation only lycopene was excited resonantly. This permits distinguishing between lycopene and other carotenoids in the skin [36]. The carotenoid concentration was determined by intensity of the prominent Stokes line shifted to 1525 cm⁻¹ in respect to the excitation wavelength, which originated from the carbon–carbon double bond stretch vibration of carotenoid molecules. Thus, the Raman peaks were measured at 527.2 nm and at 558.3 nm, corresponding to excitations at 488 nm and 514.5 nm, respectively. In order to reduce an influence of skin inhomogeneity, a broad

Since the measurement result is calculated from differences of the raw data, even small errors generate significant differences in the final results. Taking the inhomogeneity of biological tissue into account it is immediately clear why SRS cannot be applied successfully in most cases. In addition, measurement results depend on the position where the sensor is placed on the skin, as concentration of most chromophores in the skin can vary substantially. Due to the limited number of pathways of light, SRS cannot satisfactorily compensate the inhomogeneity of the

excitation spot of 6.5mm in diameter on the skin was realized [37]. The utilized RRS device was described in detail previously by our group [36]. 2.2. Multiple spatially resolved reflection spectroscopy (MSRRS) The new MSRRS sensor concept, which uses a number of differently positioned light sources and light detectors, is available in portable version (figure 1(a)) and stationary version (figure 1(b)). By this technical realization every optical measurement path is sampled multiple times at several positions and orientations. The results are mathematically combined to a reliable signal making it possible to compute a reliable value of the concentration of a substance in vivo in biological tissues. Even if the sample is inhomogeneous or shows a gradient in the substance concentrations, scattering and absorption effects in different tissue depths can be quantified. If the sample has a texture, SRS measurements might be direction-dependent and turning the sensor position might lead to different and strongly erratic results. The MSRRS sensor is designed to use light paths of multiple directions and is, as a result, much less direction-dependent. The same applies to translating the sensor over the sample surface. The MSRRS sensor is less sensitive to errors caused by the position of the measurement, as it averages the properties of the sample over a larger area of approx. 20 × 20mm. The MSRRS sensor used in this study is optimized for application on human skin. It is made in Germany by the company biozoom in Kassel. The sensor uses 118 LED light sources with different wavelength characteristics to differentiate between substances in the probe. The light

sources cover a spectral range from approx. 350 nm to 1000nm in 16 steps of different size. Some of the light detectors of the MSRRS sensor have filters to measure in a specific spectral range. In combination with the light emitters of different spectral ranges a higher spectral resolution is achieved. The increased spectral resolution permits distinguishing chromophores that have only a small difference in their spectral

characteristics. For example, lycopene and beta-carotene can be distinguished and their concentrations can be determined individually. The sensor picks up the back scattered light at several positions. A total number of 152 light sensitive detection surfaces permits capturing the light not only at good reliability but also measuring the light intensity over the distance to the light source.

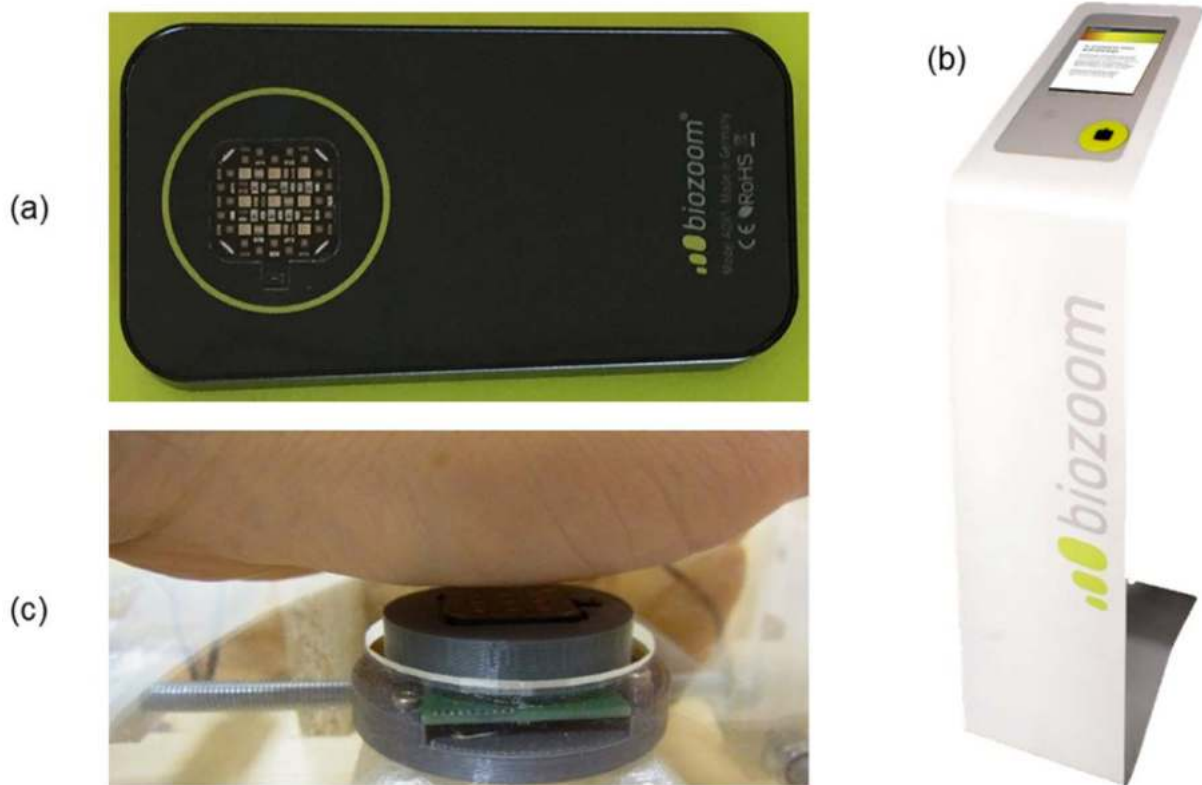


Figure 1. MSRRS sensor implemented in handheld version (a) and in stationary version (b). Measurement stability with MSRRS sensor head prototype conducted on the ball of the thumb in vivo at different pressure contact between the skin and the MSRRS sensor and external temperature values (c). L

Combining the 118 light emitters with the 152 light detectors results in almost 18 000 raw data values which are picked up several times during one measurement. Each raw data value represents one light path passing a tissue area of approx. 20×20 mm contacting the sensor, as represented in figures 1(a) and (c). This gives the data evaluation algorithms

a significant amount of redundancy to generate reliable results even if the tissue is strongly inhomogeneous. Due to the fact that each detector is used with light sources close to it and light sources with a long distance, it is not possible to adjust the amplification factors of the electronics to the sensor position as typically done in SRS sensors.

Instead, the measurement electronics is designed for a very high dynamic range of over 1:1.000.000. This makes it possible to precisely measure signals of emitter-detector pairs that are located close to each other as well as pairs with a large distance. The measurement electronics uses three different methods ranging from direct current detection over discharge cycle counting to discharge voltage measurement. The applicable method is determined during the specific measurement automatically. Constant aperture timing and effective noise cancellation results in optical raw data with

approximately 10s. With MSRRS it is possible to determine the specific homogeneity of the measured sample, as pairs of light emitters and light detectors are arranged in different directions and at different locations of the sensor. This information might be useful for future experiments where the degree of homogeneity is compared to skin regeneration or skin ageing. The specific MSRRS sensor that was used has light emitters that emit photons into the tissue with different dominant directions. Some emitters are designed to send photons into the tissue at an angle that is mostly perpendicular to the tissue surface, while others emit light into the tissue at an angle that is more parallel to the surface of the tissue. This method provides a new approach to making photons travel deeper through the tissue or to make them stay closer to the surface. The gained information complements the information gathered using different distances between light emitters and light detectors in traditional SRS setups, leading to more precise measurement results. The measured data also reveal if the measurement was carried out correctly. In the case of in vivo measurements, errors cannot be completely avoided. These mistakes can be caused by an unexpected movement of the volunteers or if the skin is removed from the sensor before the measurement is finished, or if the sensor is not in full contact with the skin. Other problematic situations like too bright ambient light, wet or dry skin and a number of other cases can be detected with reasonable reliability. The possibility to detect

excellent 24-bit resolution and signal to noise ratio. During the measurement typically only one light emitter is activated while all detectors operate in parallel. A repeat measurement helps to compensate time dependencies with biological origin and adds even more redundancy that can be converted to a few more bits of resolution. This type of sensor electronics offers additional advantages. The light can penetrate deeper into the tissue and detect substances and biomarkers in the blood. Each measurement on human skin takes

these problems automatically has a strong advantage for scientific studies, as the examiner can repeat a measurement when he receives a warning that it was not carried out under optimal conditions. 2.3. Volunteers The calibration of the sensor was carried out in vivo on the ball of the thumbs of 68 healthy volunteers, aged between 19 and 74 years (mean age 36.3) of skin types I–III in accordance with the Fitzpatrick classification [38].

In a second study the quality of the sensor was validated. The validation of the sensor was carried out in vivo on the ball of the thumbs of 30 healthy volunteers of skin types I–III according to the Fitzpatrick classification [38]. In addition to the optical measurements on the skin using RRS and MSRRS, the carotenoid concentration in the blood of the same volunteers was measured to have a second reference data. The validation of the sensor was carried out together with a study analysing the effect of a product to supplement nutrition to increase the antioxidant concentration in the human body. The carotenoid level of the 30 volunteers was monitored over a period of 18 weeks at five visits. Four of the five visits were used to validate the MSRRS sensor so that a total of 120 measurements was analysed. MSRRS measurements and RRS measurements were taken from the same spot on the thenar. For both studies only healthy volunteers, whose skin on the hands were normal, i.e. without visible skin abnormalities, such as extremely dry or fatty

skin, wounds, skin 'defects' or skin diseases, were recruited. The volunteers were asked not to use any cosmetic formulations on the hands at least 48h prior to measurement. These studies were conducted by the Charité-Universitätsmedizin, Berlin and approved by the Ethics Committee of the Charité-Universitätsmedizin, Berlin. To measure the effects of skin types IV–VI (Fitzpatrick classification) a group of additional 18 subjects was measured by registered doctors in Kassel.

2.4. Study design

The calibration of the MSRRS sensor is based on RRS measurements. The RRS measurement results are presented in arbitrary units representing carotenoids concentration in nmol g^{-1} skin, which was previously calibrated by HPLC [24, 39]. Thus, the results in the MSRRS value 10 represent a carotenoid concentration of roughly 1 nmol g^{-1} skin. To reduce the effect of the standard deviation of RRS measurements, the subject was sampled 10 times. In the experiments RRS had a standard deviation of $0.035 \text{ nmol g}^{-1}$. Since future customers will use the MSRRS sensor under everyday life conditions, the collection of MSRRS data in the calibration study was conducted with artificial variations in environmental temperature (from $5 \text{ }^\circ\text{C}$ to $30 \text{ }^\circ\text{C}$) and pressure contact between the skin and the MSRRS sensor (from 800 Pa to 18000 Pa) (figure 1(c)). In the calibration phase several identical MSRRS sensors were used. In total more than 3000 measurements were conducted. A special algorithm was established to correct production tolerances of the MSRRS sensor. Due to the artificially induced variations a standard deviation of $0.030 \text{ nmol g}^{-1}$ was achieved. Finally the mean values of RRS and MSRRS measurements are used for calibration. Due to the huge number of MSRRS measurements, the data collection for some volunteers was not conducted on the same day. In this case also RRS measurements were repeated the other day, to take natural changes of the antioxidants levels into account. In the validation study, 5 RRS and 5 MSRRS measurements were taken for each subject per visit.

2.5. Measurement of carotenoids in the blood

In the validation study, a blood sample was taken and analysed

for carotenoid concentrations. The transportation path of the carotenoids goes from the digestive system directly into the blood [40, 41], which could be genetically dependent [42] and be influenced by the diseases [43]. In the human metabolism the carotenoid concentration in blood changes more quickly than in the skin [44]. The accumulation of carotenoids in the epidermis is a slower process, which includes diffusion of carotenoids from the fat tissue of the hypodermis and release of carotenoids on the skin surface with the sweat and sebum with its subsequent penetration [45]. This results in the skin carotenoid level presenting a better average of the antioxidant level of the human body on the one hand. On the other hand, the blood carotenoid concentration facilitates finding the cause for high or low antioxidant levels, as it reacts more directly to changes in nutrition and lifestyle habits. This gives the blood concentration of carotenoids additional relevance for biofeedback applications. The blood sample carotenoid concentrations were used to compute a second calibration for the MSRRS sensor to measure blood concentration results to test if blood concentrations can be determined with the sensor as well. The carotenoid concentration in the blood were measured using iCheck (BioAnalyt GmbH, Teltow, Germany). The device is able to measure concentrations between 0.15 and 25 mg l^{-1} at an accuracy of 10%. To measure ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA), blood is separated by centrifugation and 0.4 ml of the serum are used for the analysis. The serum is added to a specific agent into a glass tube and measured optically. The optical measurement is repeated 4 times at different optical paths to compensate tolerances of the glass tube. The device outputs the result on the display. In the present study this procedure was repeated 3 times using the average of the results for the study.

3. Results and discussions

3.1. Comparison of RRS with MSRRS (correlation for all carotenoids in the skin)

The calibration results for the total carotenoid concentrations measured using RRS (excitation wavelength is 488nm), lycopene (excitation wavelength is 514.5nm) and MSRRS sensor in human skin are shown in figure 2. The data represents the mean value of RRS and the calculated MSRRS value received from the calibration algorithm. In the diagram only the standard deviation of the MSRRS sensor is shown, as showing the RRS standard deviation makes the diagram difficult to read (RRS standard deviation is typically 1–2 times larger than of MSRRS). A Pearson correlation of $R = 0.89$ was achieved for total carotenoids and of $R = 0.86$ for

lycopene. Taking into account that the MSRRS data were collected with artificial variations in environment conditions, the obtained correlation to the RRS data is very good. The results show that higher carotenoid concentrations are less well reproduced by MSRRS. The assumed reason for this is the limited number of subjects with high carotenoid values in the calibration study so that the calibration algorithm lacks sufficient amounts of data in the high range. L

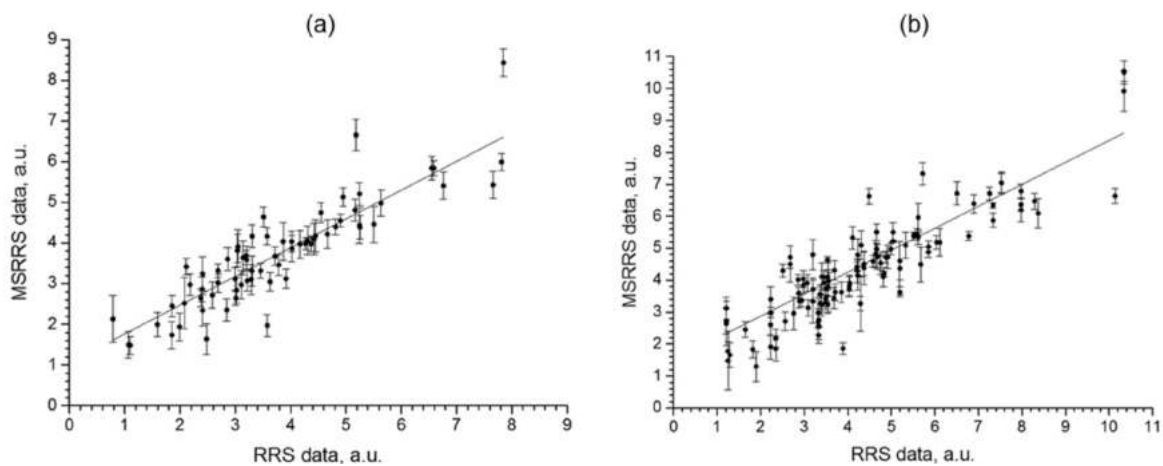


Figure 2. Calibration results of MSRRS sensors on the skin of 68 volunteers for total carotenoids ($R = 0.89$) (a) and lycopene ($R = 0.86$) (b). The mean value of RRS and MSRRS are presented. The error bar indicates the standard deviation of MSRRS data.

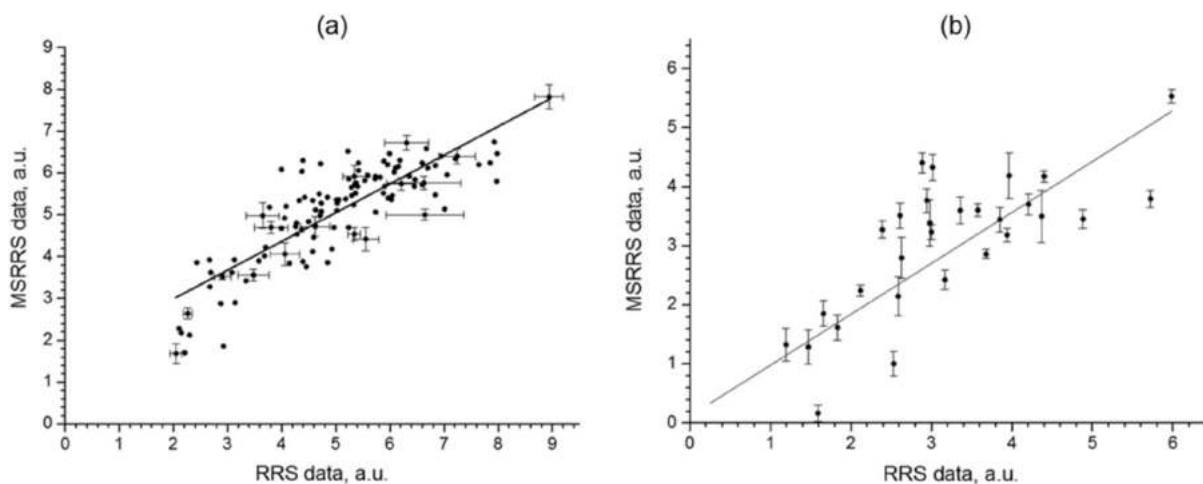


Figure 3. (a) Validation study for total cutaneous carotenoids with 30 volunteers not overlapping the calibration study subjects ($R = 0.83$). Each volunteer visited four times and was measured five times on each visit. Mean values are based on the five measurements conducted with MSRRS and RRS respectively. The error bars show the standard deviation of MSRRS and RRS on randomly selected samples. (b) Example for predicting lycopene concentration in human skin ($R = 0.80$).

The result of the validation study for the measurement of the total carotenoid concentration in the skin is shown in figure 3(a). In this investigation the carotenoid values are predicted by MSRRS measurements applying the algorithm of the calibration study. A high Pearson correlation of $R = 0.83$ was achieved. The data in figure 3(a) represents mean values based on 5 standardized measurements conducted with RRS and MSRRS sensors, respectively, resulting in a mean standard deviation of $0.022 \text{ nmol g}^{-1}$ for MSRRS and $0.031 \text{ nmol g}^{-1}$ for RRS. Compared to the calibration study the MSRRS standard deviation shows a much lower level indicating that the artificially induced variations used during the calibration of the MSRRS sensor covered more extreme conditions than appear in normal use. The bars shown in figure 3(a) for randomly selected samples show the standard deviation of both measurement methods (RRS and MSRRS). The graph shows that the quality of the prediction of the RRS values by total carotenoid signal. It is visible that the correlation is better in concentration areas

the MSRRS sensor is probably strongly influenced by the standard deviation of the RRS sensor. The standard deviation of the RRS method is significantly higher than that of the MSRRS method and shows single extreme outliers. In the range of very low carotenoid concentrations the prediction quality shows a higher deviation from the reference method as well. It is assumed that this is also caused by the small number of subjects in the calibration study having very low values. 3.2. Comparison of RRS with MSRRS (correlation for lycopene in the skin) To analyse the MSRRS sensor's ability to detect other substances, the MSRRS sensor was also calibrated to predict the RRS measurement for excitation wavelength of 514.5 nm , that predominantly picks up the cutaneous lycopene [46]. The validation of the calibration on this lycopene dominated signal is shown in figure 3(b) on the example of 30 subjects. The correlation factor $R = 0.80$ shows a slightly lower correlation than the

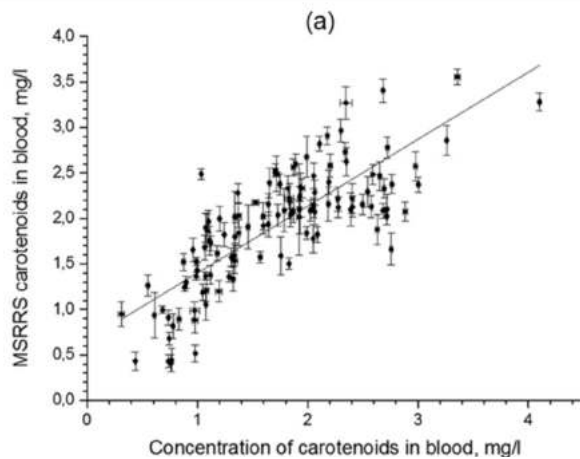


Figure 4. (a) Calibration measurement of MSRRS on carotenoid concentrations in blood measured in vivo optically through the skin ($R = 0.79$). (b) Relation between carotenoid concentrations in blood and carotenoid concentration in the skin different types: I–III (empty circles), IV (filled circles), V (empty squares) and VI (filled squares).

with many samples for the calibration procedure. This is considered as an indication for the correlation quality strongly depending on a sufficient number of samples. 3.3. Comparison of MSRRS skin and blood carotenoid values and carotenoids in blood We did not use RRS as a reference sensor for the analysis of the influence of the skin types on MSRRS results, as it is an optical method and the influence of the strong melanin concentrations in these skin types on the results of RRS was not known. Instead the carotenoid concentration in the blood of the subjects was used for reference. The measurement of carotenoid concentrations in blood is an excellent method to compare subjects of different skin types and verify that the MSRRS method provides correct results even though there is a high optical influence of melanin which is causing the coloring of the skin. Blood carotenoid concentrations are also useful for future use in biofeedback systems as their quick reaction to nutrition and lifestyle provides a more effective basis for feedback. As can be seen in figure 4(a) the standard deviation of the blood carotenoid reference measurement is very

small (X axis). This is partially because the same blood sample and blood sample preparation was used for each measurement. A realistic determination of the standard deviation would probably lead to a larger standard deviation. It would need to include drawing blood several times and performing the preparation (centrifugation and mixing with the detection component) separately. This was omitted for reasons of cost, time and comfort of the volunteers. Figure 4(a) shows that the calibration to the blood carotenoid measurement can be carried out successfully through the skin, even though only a portion of the light penetrates the tissue deep enough to reach depths with significant blood concentrations. This demonstrates the ability of the MSRRS method to subtract effects of the skin surface layers. The achieved correlation value of $R = 0.79$ is slightly lower than found for the skin carotenoid values. To measure the effects of darker skin color as found in skin types IV–VI (Fitzpatrick classification) a group of additional 18 subjects was measured by registered doctors in Kassel. Blood leftover from other purposes was analysed for carotenoid concentration using the before-mentioned iCheck device. For comparison, measurements with the MSRRS method were taken on the same subjects. Figure 4(b) shows the results gathered in Kassel combined with the results of the validation study gathered by the Charité-Universitätsmedizin Berlin. Even though the research was conducted completely independently by different researchers and with different MSRRS sensors of the same type, the results are very similar. This indicates that both measurement methods produce reliable results even if used by different operators. Also the correlations between skin types I–III carotenoid concentrations to blood carotenoid concentration are similar to skin types IV–VI. It can be concluded, that the MSRRS measurement method produces adequate results independent of the skin type of the subjects. The slightly better results for skin types IV–VI are probably caused by statistical effects. It should not be concluded that these skin types can be measured more precisely

than other skin types as the number of subjects would need to be larger to draw such a

conclusion. The obtained correlation between the skin and blood carotenoid values (figure 4(b)) confirms earlier research results [44]. It would be interesting to further analyse the dynamics of the two types of analytes (chromophores) concentrations in human skin is presented. The sensor design allows multiple spatially resolved reflectance spectroscopy (MSRRS) that can cope with inhomogeneous samples exhibiting high scattering and gradients in the concentration of the measured substance. The studies show that the MSRRS sensor concept is able to measure carotenoid

concentrations in human tissue with a good correlation to reference methods. One of the advantages of the MSRRS sensor principle is the excellent repeatability that is even better than that of the 'gold standard' RRS device. The high number of optical paths through the skin ensures stability against changes in measurement position and measurement conditions resulting in reliable cutaneous carotenoid values. A good correlation to skin carotenoid levels as well as lycopene values measured using RRS and blood carotenoid concentrations can be achieved with the newly developed MSRRS method using different calibration algorithms. This method permits the antioxidant status of the human skin to be determined in detail. The MSRRS sensor measurements demonstrated for all skin types (Fitzpatrick classification I–VI) a good correlation between cutaneous carotenoids and carotenoids in blood. Yet, the MSRRS sensor should be optimized for very high and very low carotenoid concentrations. As subjects in this group are rare, a specific study has to be performed to optimize the algorithms in these areas. Since the MSRRS sensor is based on LED technology, it is small and relatively inexpensive. It is easy to handle and therefore can be a good alternative to methods currently used. The sensor concept allows automatic error detection enabling a correct measurement result even for unexperienced users. This makes the sensor ideally suited for

measurements to see if the quicker reaction to nutritional changes can be seen in the MSRRS blood measurements. 4. Conclusions A new concept of a sensor for determination of

self-monitoring of the carotenoid level. A good repeatability is essential to detect effects of modified nutrition and distinguish them from measurement noise. Additional advantages are the ability to optically measure carotenoid concentrations in the blood as the quicker changes of these values are well suited for biofeedback. Acknowledgments The study was supported by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF), funding code 13N12596.

References

- [1] Thiele J J, Schroeter C, Hsieh S N, Podda M and Packer L 2001 *Curr. Prob. Dermatol.* 29 26–42
- [2] Haag S F et al 2010 *Skin Pharmacol. Physiol.* 23 306–12
- [3] Kohen R and Gati I 2000 *Toxicology* 148 149–57
- [4] Akhalaya M Y, Maksimov G V, Rubin A B, Lademann J and Darvin M E 2014 *Ageing Res. Rev.* 16 1–11
- [5] Cadet J, Douki T and Ravanat J L 2015 *Photochem. Photobiol.* 91 140–155
- [6] Chen L, Hu J Y and Wang S Q 2012 *J. Am. Acad. Dermatol.* 67 1013–24
- [7] Nakamura M, Morita A, Seite S, Haarmann-Stemmann T, Grether-Beck S and Krutmann J 2015 *Exp. Dermatol.* 24 407–11
- [8] Vandersee S, Beyer M, Lademann J and Darvin M E 2015 *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015 579675
- [9] Darvin M E, Patzelt A, Knorr F, Blume-Peytavi U, Sterry W and Lademann J 2008 *J. Biomed. Opt.* 13 044028
- [10] Maeter H, Briese V, Gerber B, Darvin M E, Lademann J and Olbertz D M 2013 *Laser Phys. Lett.* 10 105701
- [11] Harris J E 2016 *Immunol. Rev.* 269 11–25
- [12] Grether-Beck S, Marini A, Jaenicke T and Krutmann J 2016 *Skin Pharmacol. Physiol.* 29 13–7
- [13] Lademann J et al 2016 *Skin Pharmacol. Physiol.* 29 41–6 [
- [14] Syring F, Weigmann H J, Schanzer S, Meinke M C, Knorr F and Lademann J 2016 *Skin Pharmacol. Physiol.* 29 18–23
- [15] Terao J, Minami Y and Bando N 2011 *J. Clin. Biochem. Nutr.* 48 57–62
- [16] Krinsky N I and Yeum K J 2003 *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 305 754–60 [

- [17] Lademann J, Caspers P J, van der Pol A, Richter H, Patzelt A, Zastrow L, Darvin M, Sterry W and Fluhr J W 2009 *Laser Phys. Lett.* 6 76–9
- [18] Darvin M E, Fluhr J W, Caspers P, van der Pool A, Richter H, Patzelt A, Sterry W and Lademann J 2009 *Exp. Dermatol.* 18 1060–3
- [19] Haag S F, Taskoparan B, Darvin M E, Groth N, Lademann J, Sterry W and Meinke M C 2011 *Exp. Dermatol.* 20 483–7 [20] Meinke M C, Friedrich A, Tscherch K, Haag S F, Darvin M E, Vollert H, Groth N, Lademann J and Rohn S 2013 *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 84 365–73
- [21] Jahns L, Johnson L K, Mayne S T, Cartmel B, Picklo M J, Ermakov I V, Gellermann W and Whigham L D 2014 *Am. J. Clin. Nutr.* 100 930–7
- [22] Mayne S T, Cartmel B, Scarmo S, Jahns L, Ermakov I V and Gellermann W 2013 *Arch. Biochem. Biophys.* 539 163–70 [23] Lademann H, Gerber B, Olbertz D M, Darvin M E, Stauff L, Ueberholz K, Heinrich V, Lademann J and Briese V 2015 *Skin Pharmacol. Physiol.* 28 189–95
- [24] Darvin M E, Gersonde I, Meinke M, Sterry W and Lademann J 2005 *J. Phys. D: Appl. Phys.* 38 2696–700
- [25] Darvin M E, Sandhagen C, Koecher W, Sterry W, Lademann J and Meinke M C 2012 *J. Biophotonics* 5 550–8
- [26] Alaluf S, Heinrich U, Stahl W, Tronnier H and Wiseman S 2002 *J. Nutr.* 132 399–403
- [27] Darvin M E, Meinke M C, Sterry W and Lademann J 2013 *J. Biomed. Opt.* 18 061230 [28] Stamatas G N, Nikolovski J, Luedtke M A, Kollias N and Wiegand B C 2010 *Pediatr. Dermatol.* 27 125–31
- [29] Kikuchi K, Masuda Y, Yamashita T, Kawai E and Hirao T 2015 *Skin Res. Technol.* 21 175–83
- [30] Potlov A Y, Frolov S V and Proskurin S G 2015 *Laser Phys.* 25 035601 [31] Bashkatov A N, Genina E A and Tuchin V V 2011 *J. Innov. Opt. Health Sci.* 4 9–38
- [32] Andree S, Reble C, Helfmann J, Gersonde I and Illing G 2010 *J. Biomed. Opt.* 15 067009
- [33] Lisenko S A and Kugeiko M M 2013 *J. Appl. Spectrosc.* 79 934–43
- [34] Doornbos R M P, Lang R, Aalders M C, Cross F W and Sterenborg H J C M 1999 *Phys. Med. Biol.* 44 967–81 [
- [35] Kienle A, Lilge L, Patterson M S, Hibst R, Steiner R and Wilson B C 1996 *Appl. Opt.* 35 2304–14
- [36] Darvin M E, Gersonde I, Albrecht H, Gonchukov S A, Sterry W and Lademann J 2005 *Laser Phys.* 15 295–9
- [37] Darvin M E, Gersonde I, Ey S, Brandt N N, Albrecht H, Gonchukov S A, Sterry W and Lademann J 2004 *Laser Phys.* 14 231–3
- [38] Fitzpatrick T B 1988 *Arch. Dermatol.* 124 869–71
- [39] Talwar D, Ha T K K, Cooney J, Brownlee C and SO'Reilly D 1998 *Clin. Chim. Acta* 270 85–100
- [40] Nagao A 2011 *Biofactors* 37 83–7
- [41] Olson J A 1994 *Pure Appl. Chem.* 66 1011–6
- [42] Borel P 2012 *Mol. Nutr. Food Res.* 56 228–40
- [43] Darvin M E, Lademann J and Brandt N N 2016 *Laser Phys. Lett.* 13 048001
- [44] Meinke M C, Darvin M E, Vollert H and Lademann J 2010 *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 76 269–74
- [45] Darvin M E, Sterry W, Lademann J and Vergou T 2011 *Molecules* 16 10491–506
- [46] Darvin M E, Gersonde I, Albrecht H, Meinke M, Sterry W and Lademann J 2006 *Laser Phys. Lett.* 3 460–3

Publikation 6:

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

Rieder Alexander

Biocellscreen S. A. IPHT Jena, 10.07.2015

1 Antioxidant Network

According to Darvin et al. [1] and Haag et al. [2] free radicals and reactive oxygen species (ROS), forming in the human body, are linked to external and internal factors as for example metabolic processes in mitochondria, where approximately 3% of oxygen is converted to oxygen free radicals, inflammatory processes [3] (often accompanied by serious diseases) or harmful external factors such as irradiation (UV [4], visible [5] and IR [6]) and environmental conditions [7] [8].

In case of signaling processes inside the living cell and between cellular systems [9] [10] as well as for the destruction of viruses and bacteria [11], free radicals are of great importance. However high levels of free radicals pose a constant threat to the human body and can cause oxidative cell damage, skin ageing and cancer [12] [13] [14].

Therefore the human organism has developed an effective defense system that is able to neutralize these threats efficiently [15]. The protection is mediated by antioxidant substances like carotenoids, vitamins (A, C and E), enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase), and other substances like flavonoids, lipoic acid, uric acid, selenium, coenzyme Q10, polyphenols etc [15] [1]. It is notable that carotenoids and vitamins A, C and E cannot be synthesized by the human organism as opposed to enzymes. Only nutritional supplementation or topical application can provide the body with those antioxidants [1]. This natural antioxidant protection system is suspected to act synergistically as a “protective chain” with substances protecting each other from the destructive action of free radicals and ROS during neutralization processes [16] [17] [15].

If the production of antioxidants cannot keep up with the formation of free radicals and reactive oxygen species, the human body cannot neutralize enough reactive molecules [10] and a chain reaction occurs leading to oxidative stress. Oxidative stress reflects an imbalance between the systemic manifestation of ROS and a biological system's ability to readily detoxify the reactive intermediates or to repair the resulting damage. Hence, antioxidants are destroyed due to interaction with high amounts of ROS and free radicals [18] [19] and the antioxidant potential of the organism decreases leaving cells unprotected and giving rise to cell damage, ultimately leading to afflictions like cancer, infarcts, arteriosclerosis, arthritis, Alzheimer, Parkinsons and others [20, 21].

Skin, as the outermost barrier of the body, directly interacts with harmful oxidative environments and their negative influences. The epidermal antioxidant network consists of a complex defense system against oxidative stress in which the function of one antioxidant often supplements or regenerates another antioxidant [22]. The antioxidants are constantly being destroyed and restored and the resulting changes in the antioxidant levels of the human skin reflect these processes. Lademann et al. [23] state that a sufficient cutaneous level of antioxidants is of notable relevance as ROS formed by immunological or metabolic processes as well as irradiation may compromise the skin.

By comparing skin and blood samples it has been shown experimentally that the level of antioxidants in the skin mirrors their systemic concentration [24] [15].

Ganze Arbeit s. Anhang

2 Mikronährstoffversorgung in Deutschland

Immer wieder ist medial die Rede von einer ausreichenden Mikronährstoffversorgung durch eine sog. ausgewogene Ernährung in Deutschland. Hier sticht besonders die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), die maßgeblich die Regierungsrichtlinien mitbestimmt hervor, in dem sie immer wieder betont, dass es in Deutschland keine Unterversorgung gäbe. So hat die Deutsche Gesellschaft für Ernährung in der Ernährungsumschau 6/2012 die aktuelle Datenlage in einer Stellungnahme zusammengestellt und postuliert zusammengefasst: „Versorgung ist ausreichend“. https://www.ernaehrungs-umschau.de/fileadmin/Ernaehrungs-Umschau/pdfs/pdf_2012/06_12/EU06_2012_324_336.qxd.pdf

Zu diesem Thema schreibt die WHO in Ihrem Weltreport 1998 folgendermaßen treffend:

Optimale Aufnahme ist ein relativ neuer Ansatz zur Ableitung des Nährstoffbedarfs. Die Frage "Optimale Aufnahme für was?" wird in der Regel mit dem Vorschlag beantwortet, dass eine ausgewogene Ernährung oder bestimmte Nährstoffe die körperliche und geistige Leistungsfähigkeit verbessern, die Immunität verbessern, Krebs verhindern oder gesunde Jahre in unser Leben einbringen können. Diese Antwort wird leider oft zu allgemein verwendet und wird in der Regel nicht durch geeignete bevölkerungsbasierte kontrollierte randomisierte Studien unterstützt (15). Der bevorzugte Ansatz zur Definition einer optimalen Aufnahme besteht darin, die Funktion des Interesses und den Grad der gewünschten Funktion klar zu bestimmen (30). Die ausgewählte Funktion sollte in plausibler Weise mit dem spezifischen Nährstoff oder der Nahrung in Verbindung gebracht werden und dazu dienen, die Gesundheit zu fördern oder Krankheiten vorzubeugen.

Originals: 1.3.4 Optimal intake

Optimal intake is a relatively new approach to deriving nutrient requirements. The question "Optimal intake for what?" is usually answered with the suggestion that a balanced diet or specific nutrients can improve physical and mental performance, enhance immunity, prevent cancer, or add healthy years to our life. This response is unfortunately often used too generally, and is usually unsupported by appropriate population-based controlled randomized studies (15). The preferred approach to define optimal intake is to clearly establish the function of interest and the level of desired function (30). The selected function should be related in a plausible manner to the specific nutrient or food and serve to promote health or prevent disease.

Vitamin and mineral requirements in human nutrition : report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand, 21–30 September 1998. 1.Vitamins — standards 2.Micronutrients — standards 3.Trace elements — standards 4.Deficiency diseases — diet therapy 5.Nutritional requirements I.Title.

<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42716/9241546123.pdf?sequence=1>

Zurecht wird auch zunehmend Kritik an den Empfehlungen der DGE geübt.

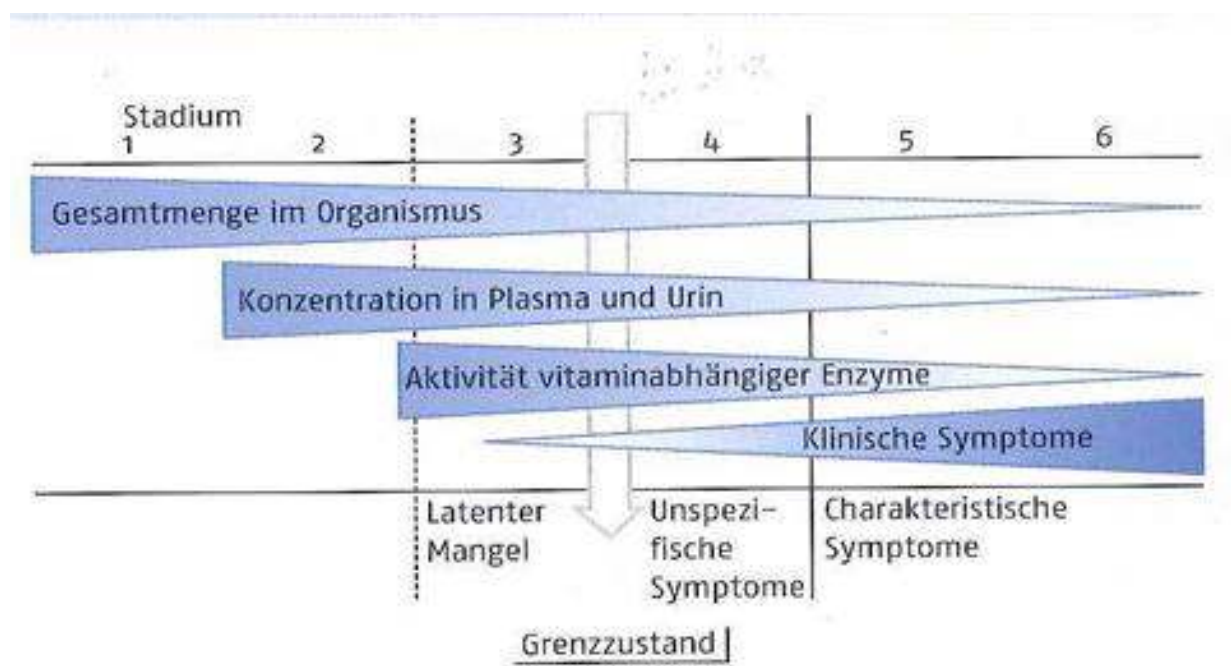
Im Deutschen Ärzteblatt, Januar 2017 wird Johannes Scholl, Vorsitzenden der deutschen Akademie für Präventivmedizin (DAPM) treffend zitiert: „... Aber selbst für Gesunde sind diese Empfehlungen nicht nur durch keine Evidenz begründet, sie sind inzwischen auch widerlegt.“ Und Matthias Blüher, Präsident der Deutschen Adipositas Gesellschaft AG formuliert:

„Die derzeitigen Empfehlungen der DGE zur Makronährstoffverteilung für die Ernährung der breiten Bevölkerung sind nicht mehr zeitgemäß und sollten überarbeitet werden – zumal sie auch nicht

durch wissenschaftliche Daten gestützt werden“¹. <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/72608/Empfehlungen-der-Deutschen-Gesellschaft-fuer-Ernaehrung-in-der-Kritik>

Die DGE negiert fortwährend und konsequent die Tatsache, dass die Qualität und Zusammensetzung unsere Nahrungsmittel in den letzten 100 Dekaden konstant schlechter und mikronährstoffärmer geworden ist (s.u.) . Weiterhin wird selten hinterfragt, in welchem Maße Interaktionen zwischen Mikronährstoffen und Umwelt- und Nahrungsgiften unsere Grundversorgung und Gesundheit negativ beeinflussen. Mikronährstoffmängel können komplexe Stoffwechselstörungen auslösen. Sie tragen im großen Maße mit an der stetigen Zunahme von Zivilisationskrankheiten bei. Diese machen sich nicht sofort und zwangsläufig durch eine klinische eindeutige Mangelsymptome bemerkbar und können somit lange unerkannt bleiben.

Der Apotheker und ausgewiesener Mikronährstoffexperte Uwe Gröber formuliert die Problematik folgenderweise: „Mikronährstoffmangel macht sich nicht zwangsläufig durch ein klinische eindeutiges Symptom bemerkbar. Zur Ermittlung von latenten und progredienten Mikronährstoffmängeln bedarf es daher einer validierten Labordiagnostik (- Funktionsparameter) Im Alltag muss von einer breiten Grauzone undiagnostizierter Mikronährstoffmängel ausgegangen werden, die sich nicht immer durch spezifische Mangelsymptome zu erkennen geben. Vielmehr imponieren sie in er Regel durch unspezifische Befindlichkeitsstörungen. In der Praxis wird diesen Symptomen i.d.R. nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt oder sie werden als alters-, umwelt- oder genetischbedingte Stoffwechselschwächen hingenommen, obwohl sie die die Gesundheit und das Wohlbefinden der Betroffenen erheblich einschränken. Ein fehlendes klinisches Bild sollte jedoch nicht mit einer ausreichenden Versorgung gleichgesetzt werden, da latente Mangelzustände rasch in einen klinisch manifesten Mangel übergehen können, wenn der Organismus größeren Belastungen (z.B. grippaler Infekt, Stress, Medikation) ausgesetzt ist. Mikronährstoffmängel durchlaufen verschiedene Stadien die fließend ineinander übergehen und selten – vor allem im frühen Stadium – klinisch eindeutig in Erscheinung treten (s. Abb:).“ (Gröber 2011, Mikronährstoffe, Wiss. Verlagsges. Stuttgart



1

Abb : Stadien eines Vitaminmangels. Mutschler 2008 nach Brubacher.

Verluste von Nährstoffen in Obst und Gemüse

Der Nährstoffgehalt unserer Lebensmittel sinkt rapide. Das zeigen verschiedene Untersuchungen wie z. B. die Ermittlungen des Instituts für Umweltmedizin in Rostock:

Unsere Lebensmittel enthalten heute deutlich weniger Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente als noch vor 20 Jahren. Man sieht es Obst und Gemüse leider nicht an, aber durch lange Transportwege und Lagerzeiten oder industrielle Verarbeitungsschritte büßen Obst und Gemüse oft viele Vitalstoffe ein, noch bevor sie bei uns auf dem Teller liegen. Eine Überdüngung der Anbauflächen und das intensive Spritzen von Pestiziden belasten unsere Lebensmittel ebenso. Auch die nährstoffarmen Böden, verursacht durch Monokultur, verringern den Nährstoffgehalt in Obst und Gemüse. Eine Untersuchung des Institutes für Umweltmedizin Rostock gibt nun erstmalig Auskunft über den Verlust von Nährstoffen in unserem Obst und Gemüse.

Verluste von Nährstoffen in Obst und Gemüse








Ermittelt durch das Institut für Umweltmedizin Rostock

Unsere Lebensmittel enthalten heute deutlich weniger Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente als noch vor 20 Jahren.

Man sieht es Obst und Gemüse leider nicht an, aber durch lange Transportwege und Lagerzeiten oder industrielle Verarbeitungsschritte büßen Obst und Gemüse oft viele Vitalstoffe ein, noch bevor sie bei uns auf dem Teller liegen. Eine Überdüngung der Anbauflächen und das intensive spritzen von Pestiziden belasten unsere Lebensmittel ebenso. Auch die nährstoffarmen Böden, verursacht durch Monokultur, verringern den Nährstoffgehalt in Obst und Gemüse.

Eine Untersuchung des Institutes für Umweltmedizin Rostock gibt nun erstmalig Auskunft über den Verlust von Nährstoffen in unserem Obst und Gemüse.

Quelle: Institut für Umweltmedizin Rostock

	Äpfel	Vitamin C	- 80%
	Bananen	Calcium Magnesium Folsäure Vitamin B6	- 12% - 13% - 84% - 92%
	Erdbeeren	Vitamin C	- 67%
	Bohnen	Calcium Magnesium Folsäure Vitamin B6	- 38% - 15% - 12% - 61%
	Kartoffeln	Calcium Magnesium	- 70% - 33%
	Möhren	Calcium Magnesium	- 17% - 57%
	Brokkoli	Calcium Magnesium Folsäure	- 68% - 25% - 52%

In Natur-Apotheke wird die Ernährungssituation folgenderweise beschrieben:

In den letzten 50 Jahren zeigen Untersuchungen auf Nährstoffe in unseren wichtigsten Nährpflanzen erschreckende und geradezu alarmierende Ergebnisse, die verdeutlichen, warum unsere Zellen stark unterversorgt sind. Die Werte der lebenswichtigsten Substanzen wie z.B. Kalzium, Magnesium, Zink, Eisen und vieler anderer sind sogar um teilweise 75 % zurückgegangen. Die Milch zum Beispiel verfügt in vielen Gegenden nur noch über 15 % dessen, was sie noch vor 40 Jahren für uns bereithielt.

Viele industriell hergestellte Produkte haben nicht die für die Ernährung relevanten Mengen und Inhalte an Nährstoffen. Und so leben Millionen von Menschen in Unwissenheit ihrer Mangelversorgung auf dem Wege zu einem sicheren Verlust an Gesundheit, Kraft und Wohlbefinden.



<https://www.natur-apotheke.info/a02-n%C3%A4hrstoffe-ein-quantensprung-f%C3%BCr-ihre-gesundheit-und-lebensqualit%C3%A4t/>

Der Nährstoffgehalt unserer Lebensmittel sinkt rapide. Das zeigen verschiedene Untersuchungen, v.a. diese Langzeitstudien aus dem Vereinigten Königreich:

Eine Studie von R.A. McCance and E.M. Widdowson aus Groß Britanien beschreibt eindrucksvoll die Veränderungen über 51 Jahre.

Die Ergebnisse belegen eine alarmierende Veränderung über 51 Jahre. Diese Daten zeigen, dass - aus welchen Gründen auch immer - der Mineralgehalt des Gemüses, das uns als Nation zur Verfügung steht, stark erschöpft ist. Während dieser Zeit gab es einen durchschnittlichen

Verlust von 49% ihres Natriumgehalts
Verlust von 16% ihres Kaliumgehalts
Verlust von 24% ihres Magnesiumgehalts
Verlust von 46% ihres Calciumgehalts
Verlust von 27% ihres Eisengehalts
und einen Verlust von 76% ihres Kupfergehalts

In ihrer Schlussfolgerung schreiben die Autoren:

Wenn man die Listen der Lebensmittel in der 1. Ausgabe der Zusammensetzung von Lebensmitteln mit denen in der 5. Ausgabe vergleicht, kann man sehen, dass sich die Ernährungsgewohnheiten der Menschen im Vereinigten Königreich dramatisch verändert haben. Seit der Veröffentlichung der 4. Ausgabe im Jahr 1978 hat die Popularität raffinierter verarbeiteter Lebensmittel - "fast" Lebensmittel, die oft reich an gesättigten Fetten, Zuckern, Farbstoffen, Konservierungsstoffen und Aromen sind, dramatisch zugenommen. Diese Lebensmittel sind in den letzten 30 Jahren zur "Norm" geworden. Folglich haben wir jetzt eine Generation, die diese Situation für normal hält, und ihre Kinder wachsen auf, um "schnelle" Lebensmittel und Getränke als angemessene Ernährung zu betrachten. Die "Rohstoffe", aus denen diese Lebensmittel hergestellt wurden, sind selbst häufig durch Herbizide, Fungizide, Pestizide, Antibiotika und Hormone kontaminiert. Wie diese Studie gezeigt hat, hat sich auch der Mineralgehalt dieser Lebensmittel - Gemüse, Obst, Fleisch - erheblich verschlechtert, die als Grundlage für eine "gute Ernährung" angesehen werden können. Mineralien sind das, woraus wir gemacht sind: die Bibel zu zitieren - "Asche zu Asche, Staub zu Staub". Wir sind ein Amalgam des 'Stoffs' der Erde und eine Qualität, die oft als 'Lebenskraft' verstanden wird. Es ist unwahrscheinlich, dass wir auf physischer, mentaler und emotionaler Ebene optimal funktionieren können, wenn die uns zur Verfügung stehenden Lebensmittel einen Mangel an lebenswichtigen Mineralien und Spurenelementen aufweisen – und durch Rückschlüsse auf andere Mikronährstoffe. Physiologisch wäre es sehr schwierig, die Bedeutung von Mineralien und Spurenelementen zu unterschätzen. Sie fungieren oft als Katalysator für alle anderen Nährstoffe, die der Körper verwendet, um eine gute Gesundheit zu entwickeln und zu erhalten. Magnesium zum Beispiel ist bekannt, dass es im Stoffwechselweg von 300 Enzymreaktionen vorhanden sein muss, während Zink bekanntermaßen in 200 Enzymreaktionen erforderlich ist. Die **Verschlechterung** des Mineralgehalts der 64 Lebensmittel, die im Zeitraum von 51 Jahren zwischen 1940 und 1991 zurückverfolgt werden konnte, sollte daher als alarmierend angesehen werden. Die umfassenderen Fragen, die mit dem Verlust von Mikronährstoffen in unserer Nahrungskette zusammenhängen könnten, wurden angesprochen, man könnte daraus schließen, dass wir als Nation überfüttert, aber unterernährt sind und dass wir erkennen müssen, dass Mineralien und Spurenelemente in unserer Ernährung im Allgemeinen mangelhaft sind. Der Autor schlägt vor, dass eine qualitativ hochwertige prophylaktische Ergänzung* durchgeführt werden sollte, während Änderungen in unserer Bildungspolitik sowie auf höchster Ebene in unserer Lebensmittelanbau-, Beschaffungs- und

Produktionspolitik stattfinden, um sicherzustellen, dass die Qualität der uns zur Verfügung stehenden Lebensmittel auf höchstem Niveau ist.

A study on the mineral depletion of the foods available to us as a nation over the period 1940 to 1991. The data used as the basis for this study was published in 5 Editions, initially under the auspices of the Medical Research Council and later the Ministry of Agriculture Fisheries and Foods and the Royal Society of Chemistry: Authors R.A. McCance and E.M. Widdowson

[\(A study on the mineral depletion of the foods available to us as a nation over the period 1940 to 1991\)](#)

In einer Folgestudie fällt die Schlussfolgerung noch eindeutiger aus:

Was für ein Dilemma, in dem wir uns befinden. Forschungen aus der ganzen Welt haben die Realität des Verlusts von Mikronährstoffen aus unseren Lebensmitteln nachgewiesen und zeigen, dass Mikronährstoffmangel unsere Gesundheit erheblich untergräbt und zu chronischen physiologischen und psychischen Erkrankungen bei Menschen jeden Alters beiträgt.

CONCLUSIONS

What a dilemma we have found ourselves in. Research from all over the world has demonstrated the reality of the loss of micronutrients from our foods and provides evidence that micronutrient deficiencies significantly undermine our health, contributing towards chronic physiological and psychological illnesses in people of all ages.

Nutrition and Health, 2007, Vol. 19, S. 21–55 0260–1060/07 10 © 2007 A B Academic Publishers. Gedruckt in Großbritannien DIE MINERALDEPLETION VON FOODS AVAILABLE TO US AS A NATION (1940–2002)
[A study on the mineral depletion of the foods available to us as a nation over the period 1940 to 1991](#)

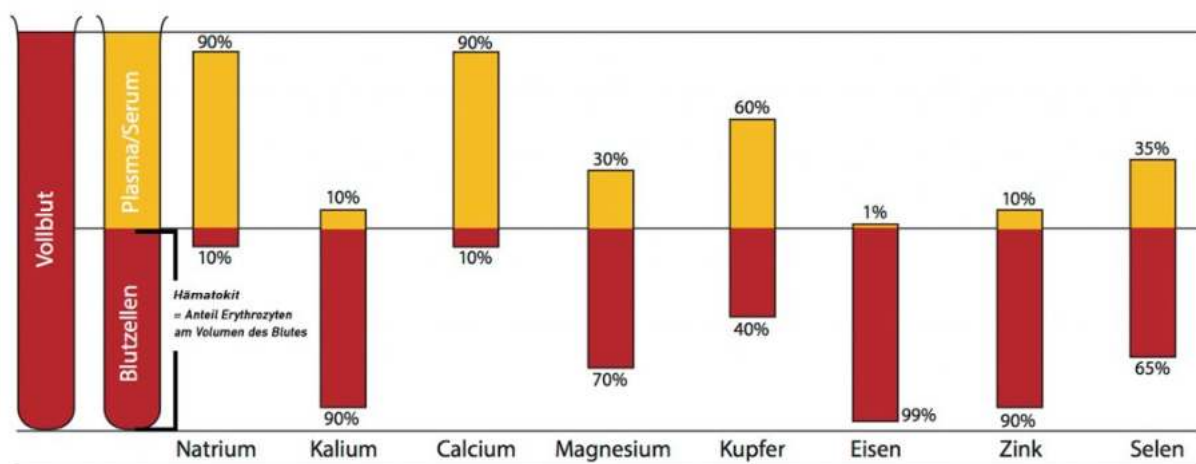
3. Klassische Mikronährstoff-Laborwerte und Zell-Check-Analysen

3.1 Sind Blut-/Urinlaborwerte für die Beurteilung der Mikronährstoffe genügend aussagefähig oder gibt es hier Schwächen der Beurteilung?

3.1.1 Blutuntersuchungen

Blutuntersuchungen sind der Standard in der allgemeinen medizinischen Praxis. Aber sowohl umstrittene Referenzbereiche, als auch das Verhältnis zwischen den Messwerten im zirkulierenden Blut und den tatsächlichen Werten im Gewebe, Organen, Zellen etc. erschweren die Interpretation der Werte. Verkompliziert werden die Analysen durch diverse Interaktionen zwischen Mineralstoffen und Enzymsystemen, als auch Interaktionen zwischen toxischen Metallen und manchen Mineralstoffen. So kann bei normalen Blutwerten, insbesondere bei Mineralien, trotzdem ein Mangel oder Überschuss eines Stoffes auf zellulärer Ebene vorhanden sein. Das alleinige Verlassen auf die Blutwerte birgt u.U. die Gefahr, dass aus dieser Sicht versteckte Mängel bzw. Überschüsse nicht erkannt werden. Der vermeintlich „gesunde“ Wert ist eventuell ein „kranker“. Pathogene Situationen bleiben unter Umständen unerkant. Blutwerte spiegeln nicht unbedingt den Gesundheitszustand bzw. den Mikronährstoffmangel oder -bedarf des Körpers wider (Kuhlmann 2016 – Zell-Check in der täglichen Praxis – spektralphotometrische Mineralstoff und Metallanalyse. Sonderdruck, Bio-Medoc-Verlag, 2016)

Einer der entscheidenden Hintergründe ist die Verteilung der einzelnen Elemente. Betrachtet man die in Abbildung 1 dargestellte Verteilung der einzelnen Elemente zwischen dem intrazellulären und dem extrazellulären Kompartiment, so ist zu erkennen, dass die Elemente Kalium, Magnesium, Eisen, Zink und Selen überwiegend in den Blutzellen vorkommen. Diese zellulären Anteile werden bei der alleinigen Messung des Blutserums (beziehungsweise Plasmas) nicht mit in die Messung einbezogen.



© Grafik: GanzImmun AG

De Groot schreibt: Mineralgehaltswerte im Blutserum oder Vollblut haben jedoch nur geringe Aussagekraft hinsichtlich des Mineralgehaltes der Zellen auf anderen Gewebesebenen. Das Blut ist

nämlich das wichtigste Transportsystem und beteiligt sich direkt an der Homöostase bzw. Homöodynamik des Körpers.

Lediglich bei einer alimentär bedingten Unterversorgung anderer Gewebestrukturen ist ein niedriger Mineralspiegel im Blut hinweisend auf einen generalisierten intrazellulären Mineralmangel. Zuerst werden nämlich die entsprechenden Depots ausgelaugt, bevor ein Mangel im Blut erkennbar wird!

Ein normaler Mineralienspiegel in den Erythrozyten und im Serum bedeutet aber nicht, dass andere Zellen in anderen Gewebekompartimenten ebenfalls ausreichend mit Mineralien versorgt sind, denn das Innere dieser Zelle ist oft der Ort des Krankheitsgeschehens, nicht das Serum oder die Blutzellen. Der Mineralgehalt der Körperzellen hängt in erster Linie von der Energieproduktion (ATP-Herstellung) der Zelle und der Effektivität des aktiven Transportes ab. Wenn man sich also ein Bild von der Mineralversorgung der gesamten Körperzellen machen will, sind die Messungen im Blut in den meisten Fällen ungeeignet oder sogar irreführend (J. de Groot).

Zwei klassische Beispiele für die geringe Aussagekraft von Blutwerten sind der Magnesium- und Kalziummangel.

Beispiel 1 Magnesium (Mg): Nach Prof. Dr. J. Holtmeier (1995) wird bei 50 Prozent der Blutserummessungen ein Magnesiummangel nicht erkannt. Nach ihm ist der Serumwert hier generell unzureichend. Dies erklärt sich aus der sogenannten Blut-Homöostase. Sie ist das Bestreben des Organismus einen ausgeglichenen und konstanten inneren Zustand im Blut aufrechtzuerhalten.

Magnesiumwerte im Normbereich bedeuten also nicht unbedingt, dass in anderen Körperregionen alles in Ordnung ist.

Beispiel 2 Kalzium (Ca): M. Muhm (2016) beschreibt es treffend: Wenn es eine Substanz gibt, die uns eindeutig und unmissverständlich zeigt, dass „in der Norm“ liegende Blutwerte keine Garantie für die Gesundheit sind, dann ist es sicherlich Kalzium. Dieser Mineralstoff beweist auf eindringliche Weise, dass die Blutergebnisse letztlich nur Aufschluss darüber geben, wie viel sich von einem Stoff im Blut befindet – nicht aber darüber, wie viel davon in den Zellen und in den verschiedenen Geweben unseres Körpers vorhanden ist. In lab. Tests online, einer Webseite der American Association for Clinical Chemistry (AACC) ist Folgendes zu lesen: „Die Blutwerte des Kalziums zeigen nicht den Gehalt an Knochenkalzium, sondern nur, wie viel Kalzium im Blut zirkuliert.“ Wir können zum Beispiel ganz normale Kalziumblutwerte aufweisen und trotzdem an einer gravierenden Osteoporose leiden.

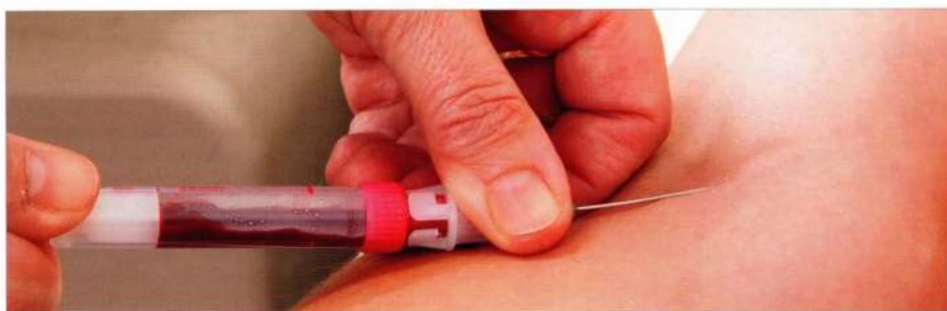
Zusammengefasst: Die Blutanalyse ist die allgemein gebräuchliche Methode, zeigt aber gerade im Diagnosesegment Mineralstoffe und teilweise auch bei toxischen Metallen deutliche Schwächen.

Dazu Gröber in „Mikronährstoffe“ 2011:

Die derzeit übliche Messung der Mikronährstoffe wie zum Beispiel Calcium, Magnesium und Eisen im Plasma ist zur Erfassung des tatsächlichen Mikronährstoffstatus nicht geeignet.

Dazu kommen noch weitere Schwachpunkte. Exemplarisch sei hier ein Artikel inHauptsache gesund Journal 01/2020. Der Autor Matthias Toying stellt die provokante Frage:

10 HAUPTSACHE GESUND JOURNAL 01/2020



Laborbefund falsch! Ist das möglich?

Von Matthias Toying

Wir machen den Test: Mehreren Personen wird Blut abgenommen. Vollkommen identische Proben. Sie werden an verschiedene zufällig ausgewählte Labors versandt. Ein bestimmter Blutwert soll ermittelt werden. Der gleiche Auftrag für jedes Labor. Doch deren Untersuchungsergebnisse sind völlig unterschiedlich. Wie kann das sein?

Skeptisch betrachtet Dr. Philipp Hinrichs die Laborbefunde auf seinem Schreibtisch. Fünf Augenpaare warten gespannt auf seine Reaktion. Ein Fernseherteam ist da, denn die Ergebnisse der Blutuntersuchungen sollen veröffentlicht werden. Auch zwei seiner Patientinnen sitzen ihm gegenüber. Für den Test hatte er Frauen ausgewählt, die an einer seltenen, aber bekannten Autoimmunerkrankung leiden, einer Kollagenose. In ihrem Blut sollten daher bestimmte Eiweiße nachweisbar sein, die körpereigene Zellen angreifen. Wie viel dieser Eiweiße im Blut sind, bestimmt der sogenannte ANA-Wert (Anti-Nukleäre Antikörper).

Doch die Befunde aus den verschiedenen Labors weisen Messwerte aus, die von „ist gesund“ über „da könnte etwas sein“ bis „schwerkrank“ jede Interpretation zulassen. Solche gravierenden Unterschiede hatte der Internist nicht erwartet: „Die Gefahr kann darin bestehen, dass man einen Wert hat, dem man eine große Bedeutung beimisst und eine Behandlung initiiert, die

im schlimmsten Fall eigentlich gar nicht notwendig gewesen wäre.“ Die Frage steht im Raum: Wie sollen Ärzte ihren Patienten helfen, wenn sie sich auf die Ergebnisse von Laboruntersuchungen nicht verlassen können? „Das ist etwas, was ich in diesem System nicht tolerieren kann“, kritisiert der Gesundheitswissenschaftler Professor Gerd Glaeske aus Bremen: „Da wird viel Geld ausgegeben für Tests, die letztendlich den Ärzten keine gute Basis für Entscheidungen bieten.“

Das Ringen um den wahren Wert

„Man muss der Sache im Detail nachgehen“, meint Professor Thomas Demant, Leiter des Instituts für Klinische Chemie und Labormedizin am Städtischen Klinikum in Dresden. Er sieht die Lage so: „Es gibt inzwischen weltweit standardisierte, sogenannte definitive Verfahren, zum Beispiel, um die Cholesterinwerte zu ermitteln. Man kann sehr verlässlich herausfinden, wie viele Moleküle in einer Probe drin sind.“ Dort sei auch kaum zu erwarten, dass verschiedene Labore derart

unterschiedliche Befunde erheben. Andere Verfahren hingegen seien ganz und gar nicht einfach zu standardisieren. Die Ermittlung des ANA-Wertes sei ein Beispiel dafür: „Dort müssen vergleichsweise komplex gebaute Antikörper aufgespürt werden. Das sind große Moleküle mit unterschiedlicher Struktur. Einer gleicht nicht exakt dem anderen.“ Zudem gäbe es ganz verschiedene Methoden, Antikörper nachzuweisen. Ergebnisse der verschiedenen Messmethoden seien nicht direkt miteinander vergleichbar: „Wenn Labore aber die gleichen Testverfahren in derselben Probe verwenden, müssen die Ergebnisse ähnlich sein und zur gleichen klinischen Beurteilung führen. Wo im vorliegenden Fall der Fehler gemacht wurde, kann ohne genaue Kenntnis der Befunde nicht ermittelt werden“, ergänzt der Labormediziner.

In Deutschland arbeite man bei der Qualitätskontrolle nach dem Referenzmethodenprinzip: „Das heißt, zwei von der Bundesärztekammer benannte Institute erzeugen mit hochpräzisen Verfahren Kon-

**Auch bei der Messung von toxischen Metallen herrscht große Verunsicherung.
Dominik Golenhofen:**

Die medizinische Relevanz einer Belastung mit Schwermetallen wird sowohl in der klassischen wie auch in der alternativen Medizin oft falsch eingeschätzt. Der Grund liegt in unklaren Diagnoseverfahren mit fehlerhaften Auswertungssystemen, unsauber arbeitenden medizinischen Laboren und dem Mangel an wissenschaftlichen Experten. So ist weder für den Patienten noch für den „normalen“ Therapeuten, unbeachtet ob Arzt oder Heilpraktiker, eine sichere Diagnose möglich. In Bezug auf die ursächliche Verknüpfung mit der Erkrankung werden so oft fehlerhafte Schlüsse gezogen.

Referenzwerte.

Wer sich diese fünf Punkte (Chelatoren) ansieht, versteht, warum ich mit den Referenzwerten der Labore nie übereinstimme. Ich finde es sogar in höchstem Maße irreführend, denn die Patienten orientieren sich daran. Unerfahrene Therapeuten verlassen sich ebenfalls auf diese Werte und kommen so zu völlig falschen Schlussfolgerungen, die in den Auswirkungen den unrichtigen Messwerten der Labore in nichts nachstehen. Die logische Schlussfolgerung: Korrekte Laborwerte erhalten wir nur, wenn alle fünf Punkte mit dem Therapeuten abgesprochen sind und so jeder Therapeut für die Sorte des Chelats, die gegebene Menge, die Art der Verabreichung, die Stunden des Sammelurins und auf Kreatinin bezogen, individuelle Referenzwerte bekommt. Richtig: das ist unmöglich. Um seriöse Diagnosen bezüglich einer Schwermetallbelastung machen zu können, müssen alle Therapeuten den exakt gleichen Test (Beachtung aller fünf Punkte) durchführen. Solche Ergebnisse können dann zwar immer noch unterschiedlich eingeschätzt werden, aber es wäre der erste Schritt zur Anerkennung von Schwermetallbelastungen in der gesamten Medizin. Außerdem sollten auch die Labore strenger überwacht werden, sodass eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet ist. Des Weiteren sollte jeder korrekte Befundbericht die Art der Mobilisation ausweisen, sodass die Ergebnisse jederzeit nachvollziehbar sind.

	Labor A		Labor B			Labor C	
	Mess- werte µg / L g Krea.	Ziel- werte µg / L g Krea.	Mess- werte µg/L	Referenz- werte µg/L	Messwerte bezogen auf µg/L g Krea.	Mess- werte µg / L g Krea.	Orientie- rungswert µg / L g Krea.
Aluminium	91,9	< 10	86,0	< 20	716,7	21,32	Ohne Angabe
Arsen	163,1	<5	16,0	< 31	133,3	42,01	< 100
Blei	140,8	< 10	17,4	< 18	145,0	46,92	< 12
Silber	5,7	<1	1,0	<1	8,3	2,62	Ohne Angabe
Quecksilber	24,6	<1	3,5	< 50	29,2	7,56	< 18
Zinn	20,8	<1	3,3	< 15	27,5	6,00	< 15

Tab. 3: Vergleichstest mit drei Laboren; rot markiert sind alle Werte, die nach Angaben des Labors über den erlaubten Grenzwerten liegen.

Labor B gibt die Ergebnisse und Referenzwerte in µg / Liter an, was völlig unzulässig ist, weil alle Werte immer bezogen auf Kreatinin angegeben werden müssen (Erläuterung siehe unten). Die Umrechnung muss der Therapeut selber vornehmen. Ob er das wohl weiß? Ohne die Umrechnung scheint der Patient lediglich mit Aluminium belastet. Die Referenzwerte beziehen sich auf die unzulässigen Werte, sodass der Therapeut nach der Umrechnung ohne Referenzwerte dasteht.

3.1.2 Urin- und Haarmineralanalyse

Auch andere Methoden – wie Urin- oder Haaranalysen – zeigen Nachteile. Urinmessungen ergeben eher kurzzeitige Sachverhalte. Urinmessungen lassen nur einen Rückschluss auf die Schwermetalle zu, die in den letzten Tagen aufgenommen wurden. Dieser Sachverhalt ist unter Experten unumstritten, wird aber häufig von Ärzten und Heilpraktikern mangels Erfahrung nicht beachtet (J. de Groodt, 2016). Haarmineralanalysen beziehen sich auf die Ausscheidungen über ein bis zwei Monate plus diverse, meist unbekannte externe Faktoren. Chronische Effekte sind so schwer zu erkennen.

3.1.3 Die Vergleichbarkeit der Messresultate

Immer wieder entsteht Verwirrung bezüglich der unterschiedlichen Ergebnisse bei den Testverfahren, welche für Mikronährstoffbestimmungen und Schwermetallbelastungen angewendet werden. Dass die Resultate nicht vergleichbar sein können, lässt sich relativ einfach über physiologische Gesetzmäßigkeiten und Eigenschaften der spezifischen Tests erklären. Bitte beachten Sie, dass es sich hier um eine Messung auf Zellebene handelt und die Interpretation deutlich von derjenigen der Messungen des Vollblutes abweicht. Auch die bestehende SM-Diagnostik mit Haaranalysen und beispielsweise Dimaval-Provokation zeigt erhebliche Abweichungen gegenüber spektralphotometrisch durchgeführten Messungen!

Labortechnisch kann man den Mineral- und Vitamingehalt im Blutserum/Vollblut sehr genau bestimmen. Diese Werte haben jedoch nur eine geringe Aussagekraft hinsichtlich des Mineralgehalts der Zellen. Lediglich bei einer alimentär bedingten Unterversorgung ist ein niedriger Mineral Spiegel im Blut hinweisend auf einen intrazellulären Mineralmangel. Zuerst werden nämlich die entsprechenden Depots ausgelaugt!

Ein normaler Blutspiegel bedeutet aber in keiner Weise, dass die Zellen ausreichend mit Mineralien und Vitaminen versorgt sind, denn das Innere der Zelle ist der Ort des Geschehens, nicht das Serum oder Blut. Der Mineralgehalt der Zellen hängt in erster Linie von der Energieproduktion (ATP- Herstellung) der Zelle und der Effektivität des aktiven Transportes ab. Wenn man sich also ein Bild von der Mineralversorgung der Zellen machen will, sind die Messungen im Blut in den meisten Fällen ungeeignet oder sogar irreführend! Nicht selten wird spektralphotometrisch ein erheblicher zellulärer Zinkmangel festgestellt, obwohl die Serumwerte normal sind! Alle Vollblut- und Serum-Referenzwerte beziehen sich auf Blutproben von Mischköstlern, die KEINE orthomolekularen oder phytotherapeutischen Präparate nehmen! Dies impliziert, dass wenn ein Patient beispielsweise ein Zink- oder B-Vitaminpräparat nehmen würde, logischerweise die Zink- und B-Vitamin-konzentrationen und im Serum plötzlich in eine sehr bedenkliche Höhe schießen ... Dies bedeutet aber NICHT, dass der „eigentliche“ Nährstoffmangel auf der Zellebene korrigiert ist! Es zeigt lediglich, dass in den letzten Stunden vermehrt Zink und B-Vitamine aufgenommen wurden. Wenn man wartet und nochmals kontrolliert, wird das Zink aus dem Blut wiederum an unsere Körperzellen abgegeben und der Zink- Wert wird sich dann beim Absetzen des Zinkpräparates in der Blutprobe wiederum innerhalb des Normwerts bewegen, obwohl es durchaus möglich ist, dass die intrazellulären Konzentrationen immer noch zu gering sind und somit die Funktion der Zelle nachhaltig beeinträchtigt ist.

Dieses Phänomen gilt auch für Vitamine!

Das beste Beispiel ist der Wert einer erhöhten Serumglukose, die bei fehlendem oder inaktivem Insulin nicht in die Zellen transportiert werden kann. Niemand wird auf die Idee kommen, um

beispielsweise einen hohen Blutzuckerspiegel (bei Insulinmangel) so zu interpretieren, dass auch auf Zellebene ausreichend Glukose vorhanden sein muss. Mit anderen Worten: Die Mechanismen, die für Diabetes gelten, gelten für andere Nährstoffe in ähnlicher Weise. Hohe oder „normale“ Serumkonzentrationen spiegeln nicht die realen biochemischen Verhältnisse in der Zelle wider. Der ingeniose effiziente Transport der Mineralien- und auch Vitaminkonzentrationen, je nach Wichtigkeit und Bedarf der Verbrauchsorgane, gehört zu einem der wichtigsten Regulationsphänomene des Körpers!

Das Blut ist wichtig für die Homöostase/Hämodynamik und fungiert lediglich als Zwischenstation zwischen dem, was resorbiert und wieder an unsere Körperzellen und das Interstitium abgegeben wird! Umgekehrt kann es auch passieren, dass wenn der Körper immuntechnisch durch Mikroorganismen herausgefordert wird, der Zink und Selen-Wert im Serum sinken kann, obwohl die Konzentrationen auf Gewebsebene noch in einem akzeptablen Bereich gemessen werden. Dies bedeutet, dass wenn beispielsweise der Selen- oder Zink-Wert im Vollblut mangelhaft ist, die spektralphotometrisch gemessene Konzentration aber im normalen Bereich liegt, die Zellen entsprechend genügend versorgt sind!

Hier ein Beispiel:

Diese starken Schwankungen der Mineralien sind beispielsweise auch sehr gut zu beobachten, wenn man bei Spitzensportlern während der Trainingsphase mehrmals täglich die Serumkonzentration der Mineralien bestimmen lässt.

Bezüglich Schwermetallbestimmung im Blut kann man, obwohl jeder täglich gewissen Schwermetallen ausgesetzt ist und gleichzeitig jedoch die tägliche zeitliche Aussetzung relativ gering ist, keinen Eindruck bekommen über den Schweregrad der chronischen Schwermetallbelastungen, da die Metallkonzentrationen in Vollblut, Serum oder Plasma sowie Urin (Random oder 24 h-Urin) die zulässigen Grenzwerte nicht oder nur unwesentlich überschreiten!

J. De Groodt

Gutachten

Die Internistin und Kardiologin Dr. Marion Ljuba hat 2012–2013 ein umfangreiches Gutachten über die Zell- Check-Methode vorgelegt. Folgende Fragestellungen an ca. 650 Tests in unterschiedlichen Vergleichskonstellationen wurden untersucht:

Nach der bisherigen Erfahrung und der Zusammenstellung der Auswertungen kann man die Bewertung der Datentabelle auf 80 bis 85 Prozent (2012) und 95 bis 97 Prozent (2013) der tatsächlichen Gegebenheiten schätzen.

Minimale Schwankungen sind auf die Applikation zurückzuführen. Werden die Kriterien der festgelegten Applikation befolgt und eingehalten, kann man sich auf ein sicheres Ergebnis verlassen.

Für die Messwerte Mineralien, Spurenelemente, Metalle bietet die Zell-Check-Methode folgende Vorteile:

- stabile und reproduzierbare Ergebnisse auf zellulärer/geweblicher Ebene
- Die Messwerte stehen dem Patienten und Behandler sofort zu Verfügung.

keine Wartezeiten auf Laborergebnisse

- keine Abhängigkeit von der Tageszeit und momentaner Ernährung

- Die Messungen sind stabil und reproduzierbar

- zeigt akute und chronische Belastungszustände - zeigt Mangel- und Überschüsse,

Intoxikationen - erlaubt die Bewertung der oxidativen Stresslage, bzw. den oxidativen Schutz

- erlaubt die Kontrolle über die Bioverfügbarkeit

von verordneten Mineralien und Spurenelementen

- führt zur schnellen Behandlungsstrategie - vergleichsweise kostengünstig

- geringer technischer Aufwand

Dr. M. Marion Ljuba fasst die Ergebnisse und Schlussfolgerungen folgendermaßen zusammen: Alle Testserien oder Testgruppen haben gezeigt, dass das System die genannten Aufgaben ermöglicht und dass man dieses Verfahren als Untersuchungsergänzung in der Medizin anwenden kann. Für die Ist-Zustandsmessung und für die Erstbeurteilung der zellulären Mikronährstoffgehalte oder zellulären Wechselstörungen ist der Einsatz zufriedenstellend sensitiv und qualitativ verwendbar. Da jeder Testklient eine unterschiedliche Mikronährstoffsituation hat, sind die Werte im Blut manchmal in der Realität anders als im Gewebe. Daher ist der Vergleich mit Blutanalysen im Labor etwas anders, aber die Analysetendenzen ähnlich gleich.

Nach der bisherigen Erfahrung und der Zusammenstellung der Auswertungen kann man die Bewertung der Datentabelle auf 80 bis 85 Prozent (2012) und 95 bis 97 Prozent (2013) der tatsächlichen Gegebenheiten schätzen.

Minimale Schwankungen sind auf die Applikation zurückzuführen. Werden die Kriterien der festgelegten Applikation befolgt und eingehalten, kann man sich auf ein sicheres Ergebnis verlassen.

Die vollständige Gutachten s. unter 4.4.4

3.2. Zell-Check Messungen

Das "optische Ablesen" des absorbierten Lichtes der Spektrophotometer generiert einen Wert und in Kombination mit einigen Parametern wie Blutgruppe, Gewicht, Körpergröße, Alter und Geschlecht der Testperson, wird über eine komplexe algorithmische Formel exakt und sehr individuell bestimmt, ob die gemessene Konzentration (als Biomarker im Gewebe) den zu erwartenden Konzentrationen (Referenzwerte gemäß den Parametern) entspricht. Gemäß einem Ampelsystemprinzip wird dann dargestellt, ob die gemessenen Konzentrationen der Mineralien und Spurenelemente sich im normalen Bereich befinden (grün), im suboptimalen Bereich unter oder oberhalb des normalen Bereichs (gelb) oder gar als kritisch mangelhaft bzw. Überschuss (rot) gemessen wurden.

Die Absorption der gemessenen Mineralien, Spurenelemente und Schwermetalle liegt zwischen 180 und 1000 nm. Für jedes Element gibt es eine spezifische Wellenlänge, daher können die Konzentrationen im Gewebe quantitativ erfasst werden.

Beispiele **für Wellenlängen**: Ca: 422,7 nm; mg: 285,2 nm; Mn: 279,5 nm; K: 766,5 nm; Na: 589,0 nm; Fe: 248,0 nm; Cu: 324,7 nm; Zn: 213,9 nm.

De Groot J. OligoScan – Messen von Mineralien, Spurenelementen und toxischen Metallen auf Gewebsebene. EHK 2016; 65: 156–163

Das Resultat korreliert direkt mit der Physiologie der Testperson und da der gemessene Wert nicht nur der Konzentration (beispielsweise mcg/g) entspricht, sondern an den individuellen Parametern des Patienten gemessen wird, ist es auch wichtig, diese Parameter exakt zu erfassen!

Die Messung selbst erfolgt an vier definierten Punkten an der Handinnenfläche, wodurch vier Gewebssäulen gemessen werden. Das Gewebe im Bereich der Hände eignet sich besonders gut,

um stabile Messungen zu erzielen, denn nebst einem Bild über die Konzentrationen der Mineralien und Spurenelemente kann man auch exakt die Effizienz der Ausleitung der Schwermetalle verfolgen.

Abb. : Zell-Check-Technologie

Der Zell-Check ermöglicht eine Interpretation der Bioverfügbarkeit von Mineralien und Schwermetallen. Des Weiteren ist es erstmals möglich Oxidativen Stress & Schutz zu messen. Der Zell-Check liefert außerdem Ergebnisse über die Aufnahme von Spurenelementen im Darm und dem Säure-Basen-Ausgleich.
Sofortmessung verschiedener medizinischer Daten

20 Spurenelemente, Halbmetalle und die wichtigsten Mineralien
14 Schwermetalle, die für den Körper am gefährlichsten sind
14 weitere Parameter, einschließlich der wichtigsten Parameter, die sich aus den vorliegenden Daten erschließen lassen.

Zell-Check in der praktischen Anwendung Die Zell-Check-Messung lässt sich in vier Abschnitte unterteilen:

- 1. Mineralstoffbilanz,**
- 2. Mineralstoff-Ratio,**
- 3. Bilanz der toxischen Metalle und**
- 4. Wechselbeziehungen der Messergebnisse in prozentualer Bewertung.**

Die Mineralstoffbilanz und die Bilanz der toxischen Metalle Mineralstoffe greifen funktionell ineinander. Sie spielen eine lebensnotwendige Rolle als Kofaktoren in allen Stoffwechselfvorgängen und müssen daher ständig ausreichend aufgenommen werden.

Die Verabreichung/Supplementierung von Mikronährstoffen erfordert die gleichzeitige Betrachtung der toxischen Gegenspieler. Toxische Metalle können z.B. Mineralstoffe aus ihren Bindungsstellen in Enzymkomplexen verdrängen, d.h. ihre Position einnehmen, und damit ganze Enzymsysteme lahmlegen. Die Folge ist der Funktionsverlust der Entgiftungsleistungen. Ohne oxidativen Schutz sind aktivierte Immunzellen nicht arbeitsfähig.

Wichtige Wechselwirkungen zw. Metallen und Mineralstoffen sind z.B.:

Aluminium - Selen
Aluminium - Silicium
Arsen - Selen
Blei - Kalzium
Cadmium - Zink
Nickel - Magnesium
Quecksilber – Selen

3.3 Die Reproduzierbarkeit der Messungen

Im folgenden Versuch wird die Reproduzierbarkeit einzelner Messungen unter unterschiedlichen Probandenangaben untersucht.

Ein Patient hatte eine Vergleichsmessung durchführen lassen bei einem Therapeuten und auf Grund des starken Blei-Anstiegs, wurde er skeptisch und wollte eine Messung durchgeführt haben unter einen anderen Namen mit leicht verändertem Parameter. Die Reproduzierbarkeit der Messung wurde mit folgenden Messprotokollen belegt:

Vergleichstest zwischen der Messung vom 30. Okt. 2016 und 29.9.2017.

Die grauen Balken entspricht das Messresultates vom 30. Oktober.



Ru...
Tel... 50
Wi...
76... h

M... Oc...

männlich 50 Jahre
Geb.datum: 08/04/1966
Gewicht: 89 Kg
Blutgruppe: O
Größe: 1m 82

Die Untersuchung vom 30/10/2016 (die ältere) ist in grau, jene vom 29/09/2017 ist in Farbe.

Vergleich der Mineralstoffe

		Norm		Ergebnis	Niedrig-	Niedrig	Norm -	OK	Norm +	Hoch	Hoch +
Kalzium	(Ca)	279.0	598.0	570.5 550.0							
Magnesium	(Mg)	30.5	75.7	21.3 31.4							
Phosphor	(P)	144.0	199.0	110.7 117.2							
Silicium	(Si)	15.0	31.0	13.0 10.3							
Natrium	(Na)	21.0	89.0	49.5 51.9							
Kalium	(K)	9.0	39.0	12.6 12.3							
Kupfer	(Cu)	11.0	28.0	20.9 19.3							
Zink	(Zn)	125.0	155.0	133.7 141.8							
Eisen	(Fe)	5.0	15.0	9.8 10.2							
Mangan	(Mn)	0.31	0.75	0.37 0.36							
Chrom	(Cr)	0.82	1.25	0.76 0.80							
Vanadium	(V)	0.009	0.083	0.025 0.024							
Bor	(B)	0.84	2.87	2.75 2.65							
Cobalt	(Co)	0.025	0.045	0.027 0.032							
Molybdän	(Mo)	0.035	0.085	0.045 0.044							
Jod	(I)	0.32	0.59	0.12 0.12							
Lithium	(Li)	0.052	0.120	0.075 0.085							
Germanium	(Ge)	0.003	0.028	0.023 0.024							
Selen	(Se)	0.95	1.77	0.60 0.67							
Schwefel	(S)	48.1	52.0	49.3 49.8							

29/09/2017 14:27

© 2017

1/3

Die zweite Messung wurde direkt anschließend durchgeführt unter einem falschen Namen (Rolf Müller):



Rudi Grossmann
Wilhelmstrasse 30
76461 Muggensturm
Tel.: +49 7222 985250

Name: Rolf Müller

FF2

Date: 29/09/2017
männlich 51 Jahre
Geb.datum: 06/03/1966
Blutgruppe: O
Gewicht: 87 Kg
Größe: 1m 81

Mineralstoff - Bilanz

	Ergebnis	Norm	Niedrig-	Niedrig	Norm -	OK	Norm +	Hoch	Hoch +
Kalzium (Ca)	540.8	279.0	598.0						
Magnesium (Mg)	19.3	30.5	75.7						
Phosphor (P)	119.1	144.0	199.0						
Silicium (Si)	13.2	15.0	31.0						
Natrium (Na)	52.6	21.0	89.0						
Kalium (K)	12.6	9.0	39.0						
Kupfer (Cu)	18.8	11.0	28.0						
Zink (Zn)	126.2	125.0	155.0						
Eisen (Fe)	10.4	5.0	15.0						
Mangan (Mn)	0.35	0.31	0.75						
Chrom (Cr)	0.81	0.82	1.25						
Vanadium (V)	0.024	0.009	0.083						
Bor (B)	2.60	0.84	2.87						
Cobalt (Co)	0.029	0.025	0.045						
Molybdän (Mo)	0.043	0.035	0.085						
Jod (I)	0.12	0.32	0.59						
Lithium (Li)	0.076	0.052	0.120						
Germanium (Ge)	0.024	0.003	0.028						
Selen (Se)	0.99	0.95	1.77						
Schwefel (S)	49.4	48.1	52.0						

Mineralisches Gleichgewicht



Das Messresultat ist praktisch identisch, jedoch können kleine Abweichungen entstehen, die meistens zurück zu führen sind auf der Messtechnik selbst. Um eine gute Reproduzierbarkeit zu erreichen, sind folgende Elemente während der Messung zu beachten:

Messung 2 und 3 sollten immer auf den Knochen unter dem Zeigefinger und Kleinfinger stattfinden.

Wichtig ist es auch senkrecht mit dem gleichen Winkel zu testen, ansonsten wird die Gewebesäule grösser, wenn man schräg misst.

Einen wichtigen Faktor ist auch der Druck. Man sollte darauf achten, dass man nicht zu stark das Gewebe komprimiert (rein der Druck des Gerätes ist genug). Typischerweise sieht man bei einem unterschiedlichen zu starken Druck ebenfalls leichte Variationen der Mineralienkonzentration was sich wiederum auf der Einschätzung der Physiologie widerspiegeln kann.

Während dem Abdrucken sollte man auch die Hand stabilisieren, um zu vermeiden, dass während dem Scannen leichte Verschiebungen stattfinden würden.

Handcremes oder Verschmutzung können einen Einfluss haben auf der Lichtresorption. Deshalb sollte man immer die Hände waschen, sodass man die gleiche Ausgangslage hat

4 Zell-/SO-Check in der Praxis

4.1 Anwendung und Interpretation der Zell-Check Ergebnisse

Mineralstoff- und Schwermetallbestimmung

Das "optische Ablesen" des absorbierten Lichtes der Spektrophotometer generiert einen Wert und in Kombination mit einigen Parametern wie Blutgruppe, Gewicht, Körpergröße, Alter und Geschlecht der Testperson, wird über eine komplexe algorithmische Formel exakt und sehr individuell bestimmt, ob die gemessene Konzentration (als Biomarker im Gewebe) den zu erwartenden Konzentrationen (Referenzwerte gemäß den Parametern) entspricht. Gemäß einem Ampelsystemprinzip wird dann dargestellt, ob die gemessenen Konzentrationen der Mineralien und Spurenelemente sich im normalen Bereich befinden (grün), im suboptimalen Bereich unter oder oberhalb des normalen Bereichs (gelb) oder gar als kritisch mangelhaft bzw. Überschuss (rot) gemessen wurden (J. de Groodt).

Mineralstoff - Bilanz

		Ergebnis	Norm		Niedrig-	Niedrig	Norm -	OK	Norm +	Hoch	Hoch +
Calcium	(Ca)	614.9	279.0	598.0							
Magnesium	(Mg)	36.7	30.5	75.7							
Phosphor	(P)	126.2	144.0	199.0							
Silicium	(Si)	16.6	15.0	31.0							
Natrium	(Na)	50.8	21.0	89.0							
Kalium	(K)	11.5	9.0	39.0							
Kupfer	(Cu)	30.2	11.0	28.0							
Zink	(Zn)	170.7	125.0	155.0							
Eisen	(Fe)	10.0	5.0	15.0							
Mangan	(Mn)	0.46	0.31	0.75							
Chrom	(Cr)	0.41	0.82	1.25							
Vanadium	(V)	0.011	0.009	0.083							
Bor	(B)	3.57	0.84	2.87							
Cobalt	(Co)	0.031	0.025	0.045							
Molybdän	(Mo)	0.042	0.035	0.085							
Jod	(I)	0.11	0.32	0.59							
Lithium	(Li)	0.090	0.052	0.120							
Germanium	(Ge)	0.024	0.003	0.028							
Selen	(Se)	0.67	0.95	1.77							
Schwefel	(S)	51.2	48.1	52.0							

Sie können Hilfe zu den Elementen erhalten, indem Sie auf die Position klicken.

Mineralisches Gleichgewicht



Das Resultat korreliert direkt mit der Physiologie der Testperson und da der gemessene Wert nicht nur der Konzentration (beispielsweise mcg/g) entspricht, sondern an den individuellen Parametern des Patienten gemessen wird, ist es auch wichtig, diese Parameter exakt zu erfassen!

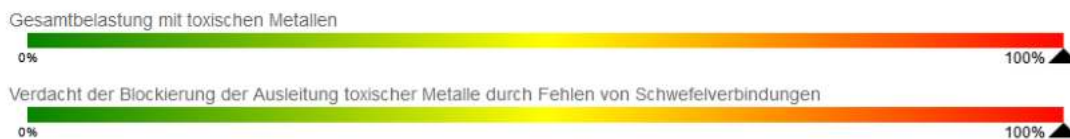
Die Messung selbst erfolgt an vier definierten Punkten an der Handinnenfläche, wodurch vier Gewebssäulen gemessen werden. Das Gewebe im Bereich der Hände eignet sich besonders gut, um stabile Messungen zu erzielen, denn nebst einem Bild über die Konzentrationen der Mineralien und Spurenelemente kann man auch exakt die Effizienz der Ausleitung der Schwermetalle verfolgen.

Bilanz toxische Metalle

	Ergebnis	Norm	Erhöht -	Erhöht +	Überschuss
Aluminium (Al)	0.00971				
Antimon (Sb)	0.00263				
Silber (Ag)	0.01473				
Arsen (As)	0.00526				
Barium (Ba)	0.0085				
Beryllium (Be)	0.00611				
Wismuth (Bi)	0.00956				
Cadmium (Cd)	0.01275				
Quecksilber (Hg)	0.02706				
Nickel (Ni)	0.00372				
Platin (Pt)	0.00216				
Blei (Pb)	0.00971				
Thallium (Tl)	0.00206				
Thorium (Th)	0.00127				

Sie können Hilfe zu den Elementen erhalten, indem Sie auf die Position klicken.

Belastung mit toxischen Metallen



Welche diagnostischen Vorteile und Eigenschaften bietet das Messgerät?

Z.B. durch Beseitigung der Mineralstoffmängel und Schwermetallbelastungen, welche auf Gewebsebene gemessen werden, können Therapieresistenzen erfolgreich entgegengewirkt werden:

- Ist vielleicht ein Kupfermangel ursächlich für eine DAO-Inaktivierung, weswegen der Patient eine Histamin-Intoleranz entwickelt hat?

- Hat ein Molybdänmangel eine Sulfitoxidase-Inaktivierung verursacht, was den Patienten migräneempfindlich macht, wenn er getrocknete Aprikosen isst?

- Sind die Zeichen der Schilddrüsenunterfunktion vielleicht die Folge eines Jod- oder Selenmangels (verursacht durch eine Quecksilberbelastung)?

- Die Sättigung der Mineralien kann auf Zellebene festgestellt werden, was für eine spezifische Therapieempfehlung entscheidend ist! Auch das Verhältnis der mineralischen Polaritäten bietet wichtige Grundlagen zur Therapieoptimierung. Beispielsweise führt ein Magnesiummangel zu einem Anstieg des Parathormons, was den Einbau des Kalziums im Skelett verhindert. Gewebsverkalkungen und Steinbildung sind häufig Direktfolgen dieses Phänomens.

Die Vorteile der Zell-/SO-Messungen am Beispiel der Mineralstoff- und Schwermetallbestimmung mit Spektralphotometrie

Durch Beseitigung der Mineralstoffmängel und Schwermetallbelastungen, welche auf Gewebsebene gemessen werden, können Therapieresistenzen erfolgreich entgegengewirkt werden. Die Sättigung der Mineralien kann man auf Zellebene feststellen, was für eine spezifische Therapieempfehlung entscheidend ist! Die Effizienz der Ausleitung kann man innerhalb einiger Wochen verfolgen und auch Überforderungen provoziert durch die Entgiftung selbst, kann man sehr gut abschätzen.

Man kann eine viel spezifischere Nährstoffempfehlung definieren und zusätzlich kann man die Bioverfügbarkeit der nahrungsergänzenden Stoffe beobachten. Der Erfolg oder die Wirkung von guten orthomolekularen Substanzen ist meistens bereits nach 6 bis 12 Wochen prüfbar.

Das Messresultat liegt in Echtzeit nach ca. Sekunden vor (was bei den anderen Diagnoseverfahren nicht der Fall ist) und erlaubt es dem Therapeuten, sofort eine geeignete Therapie zu bestimmen. Die Messung ist sehr stabil und reproduzierbar! Zusammenhänge zwischen Mineralien, Spurenelementen, Vitaminen, Schwermetallen und dem Krankheitsgeschehen können viel besser beobachtet werden, weil die Messung die Konzentrationen zeigt, die bereits über längere Zeit vorhanden waren.



Dies sind nur ein paar Beispiele der Mineralien, welche Sie mit einer Vollblut-Analyse oder irgendwelchen energetischen Testverfahren niemals detektieren werden, denn das Vollblut zeigt Ihnen lediglich den Mineralienhaushalt zwischen der Resorption aus der Nahrung und dem, was an die Zellen und an die Zellumgebung abgegeben wird.

Jod: Wie bereits bewiesen, cheliert Jod Cadmium, Blei, Quecksilber, Aluminium, Fluor und Bromverbindungen. Über die Leber werden diese Chelatkomplexe ausgeschieden. Deshalb kann man oft bei diesen Schwermetallbelastungen einen sehr starken Jodmangel auf Gewebsebene feststellen. Da Jod aber eine primäre Bedeutung für die Aktivierung der Schilddrüsenhormone hat, wird das Blut die Jodkonzentrationen aus dem Gewebe zerren, damit eine ständige Zufuhr für die Schilddrüse gewährleistet bleibt. Erst wenn die Depots komplett ausgelaugt sind und eine kritische Grenze erreicht worden ist, wird die Konzentration im Blut abfallen und die Schilddrüse

Schwierigkeiten bekommen mit der Hormonsynthesierung. Bekanntlich wird anschließend die Hypophyse vermehrt TSH freisetzen zur Kompensation.

Genau dies macht die Spektralphotometrie so wichtig, um richtig, zeitnah und effizient zu therapieren, denn statt zu warten, bis die primären Organe gestresst werden, kann man dies bereits vorher korrigieren!

Bevor die für das Überleben entscheidenden Organe einen Mineral- und Vitaminmangel aufweisen, ist die Konzentration im Bereich des peripheren Gewebes oft bedeutend tiefer. Dies erklärt auch, weshalb bei der Behandlung (Nährstoffsupplementierung) sich zuerst die wichtigsten Organe/Drüsen sanieren, bevor der Rest des Gewebes davon profitieren kann. Deshalb kann es auch einige Monate dauern, bis der Körper wieder nachhaltig „aufgefüllt“ ist!

Man sollte auch nicht vergessen, dass eine aktive Ausleitung vermehrt Toxine und Metalle in Umlauf bringt, was sich wiederum negativ auf die antagonistischen Mineralien auswirkt. So verliert man beispielsweise

bei der Aluminiumausleitung immer Silizium,

bei Quecksilber Selen,

bei Cadmium u.a. Jod etc... Auch kann man feststellen, dass der Bedarf an schwefelhaltigen Aminosäuren hoch bleibt und sogar ansteigen kann, bis die Metallausleitung optimal gelungen ist. Ähnliche Wechselwirkungen liegen auch bei den Vitaminen vor.

Ohne die Spektrometrie wäre es beispielsweise nie in den Sinn gekommen,

Patienten mit einer **Histamin-Intoleranz Kupfer zu empfehlen**. Rein theoretisch wissen wir, dass DAO kupferabhängig ist, jedoch konnten uns die bestehenden Methoden (auch die der Vollblutanalyse) nicht den Hinweis eines Kupfermangels geben. Tatsache ist, wenn man sieht, was Patienten auf Gewebs-/Zellebene fehlt (dort wo schließlich Krankheiten entstehen), die Effizienz der Therapieempfehlung massiv steigt.

Dasselbe konnten wir bei unseren **Migränepatienten** feststellen, wo ein nachgewiesener **Molybdänmangel** uns auf die Idee brachte, dass möglicherweise eine Sulfit- Intoleranz vorliegen könnte. Das gezielte Weglassen von Sulfiten und eine Ergänzung mit **Molybdän** (notwendig für die Sulfitoxidase-Synthese) führten zur Beschwerdefreiheit. Wenn man eine spektralphotometrische Messung machen würde bei Patienten mit Epilepsie, ADHD, Schlafstörungen, „restless legs“, würde man beispielsweise oft feststellen können, dass das mangelhafte **Mangan und Zink** der Umwandlung von Glutamat zu GABA im Weg steht, was typischerweise solche Symptome verursacht.

Einen **Manganmangel** sieht man typischerweise auch bei Patienten, die **Borreliose** haben, denn Borrelien brauchen nicht Eisen, sondern Mangan für ihre Energieproduktion.

Bei den HPU-Patienten findet man praktisch immer einen massiven Zink und B6-Mangel, sodass wir heute nur noch gezielt einen 24 Stunden HPU-Test machen bei denjenigen, die einen kritischen mangelhaften Zink- und B6-Wert zeigen...

Neben den mangelhaften Werten liefern auch intrazelluläre Überschüsse wichtige therapierrelevante Informationen. Bei einigen Patienten sieht man beispielsweise Zink- und Kupfer in Überschuss. Bei chronischen Entzündungen und hohem intrazellulärem oxidativen Stress geht Eisen, Zink und Kupfer vom Blut in Richtung Zellen. Bei der Eisenbestimmung (Ferritin/Hämoglobin) oder bei der Serum/Vollblutanalyse sinken die Konzentrationen im Blut, während die Konzentration in den Zellen zunimmt. Dies hat vor allem damit zu tun, dass es ein „Upregulation gibt vom Superoxiddismutase welches u.a. Zink und Kupfer nach sich zieht. Wenn ein Glutathionmangel vorliegt und durch Selenmangel auch die Enzyme GSH-Peroxidase oder GSG-s-Transferase

inaktiviert werden, bleibt nur noch die Möglichkeit über SOD-Hochregulierung hochfahren, um sich gegen freie Radikale zu schützen.

Durch Gabe von liposomales Glutathion und Selenmethionin sieht man ebenfalls, dass die Zellen diesen intrazellulären Überschuss wieder zurückregulieren.

Achtung! Obwohl wir heute wissen, dass die Spektralphotometrie für die exakte Bestimmung der Mineralien und Spurenelemente bestens geeignet ist für eine sinnvolle Therapieempfehlung, gibt es eine Ausnahme, nämlich bei der Bestimmung des Eisens: Eisen ist das wichtigste Element bei der Bildung von Hämoglobin und spielt aus diesem Grund eine entscheidende Rolle beim Sauerstofftransport des Körpers. Insgesamt befinden sich im Körper 2 bis 4 Gramm Eisen. Der größte Teil dieses Eisens (87.4%) ist im Blut, wovon 67% an das Hämoglobin gebunden ist. Hämoglobin ist Hauptbestandteil der roten Blutkörperchen und die Durchblutung der Kapillaren ist abhängig von der Biegsamkeit dieser Erythrozyten (Beziehung ungesättigte Fettsäuren-Konzentration, bzw. Zahl der Doppelbindungen in die Zellmembrane). Auch Reserveeisen befindet sich in den Gewebespeichern. Es ist hauptsächlich an die Speicherproteine Ferritin und Hämosiderin gebunden. Bei einem erhöhten Eisenbedarf, wenn vermehrt Hämoglobin gebildet werden muss, wird das Eisen der Speicherproteine über Hepatozyten und Makrophagen in Knochenmark, Leber und Milz verstärkt abgegeben. Da sich praktisch die Gesamtmenge des Eisens im Kreislauf befindet, kann es mit dem Oligoscan starke Unterschiede geben, denn hier haben wir es mit einer anderen Physiologie zu tun! Das Gewebe zeigt eher einen Grundzustand der Mineralienkonzentrationen, während auf Ebene des Blutes der Mineralienhaushalt stark geprägt wird von der Homöostase/Homöodynamik des Körpers. Somit liegt ein essenzieller Faktor vor, den man immer berücksichtigen muss im Zusammenhang mit den Eisenmesswerten des Spektralphotometers und der Ferritin- und Hämoglobinwerte! Somit macht es Sinn, bei Verdacht auf anämische Krankheiten auch mal diese Werte bestimmen zu lassen.

Die Vollblutanalyse versteckt oft einen systemischen Mangel, weil das Blut als wichtigstes Transportsystem - und als wichtigste Aufgabe der Homöodynamik des Körpers - die mineralischen Konzentrationen durch permanentes Auslaugen des Gewebes sehr lange stabil halten kann. Mit anderen Testverfahren wird man nur bedingt in der Lage sein, genau zu wissen, was in welcher Dosierung substituiert werden sollte, um eine Korrektur bekommen zu können. Auch eine quantitative Bestimmung des Glutathions auf Zellebene, was einer adäquate Schwermetallausleitung im Weg steht, kann man mit anderen Testverfahren nur für die extrazelluläre Matrix beurteilen.

Spektralphotometrie kann deshalb als ein Labor auf Gewebsebene betrachtet werden, nur mit dem Unterschied, dass Sie Ihr eigenes Labor direkt vor Ort haben und das Testresultat entsprechend sofort abrufen können! Wie oben beschrieben eignet sich Blut beispielsweise schlecht, um eine SM-

Diagnostik zu machen, denn gemäß Tierexperimenten werden SM innerhalb 72 Stunden aus dem Kreislauf Richtung Gewebe wegdiffundiert. Auch hier hat die Spektralphotometrie nur Vorteile, denn man kann nicht nur die Grundbelastung des Gewebes verfolgen, sondern auch die vermehrte Ausscheidung und den Abtransport. Die vermehrte Ausscheidung der Schwermetalle wird man vor allem dann sehen können (die Hände sind, wie auch die Füße, der Spiegel des Entgiftens) wenn die Bedingungen der Entgiftung erfüllt sind, nämlich wenn der „Thiolpool“, die zur Verfügung stehenden schwefelhaltigen Aminosäuren wie Glutathion und Cystein, genügend versorgt ist (siehe Parameter Sulfokonjugation). In dem Sinne spart das Gerät auch Geld, weil man endlich genau sehen kann, was man den Patienten empfehlen kann und ob das, was man empfiehlt oder therapeutisch macht, überhaupt wirksam ist.

Messwerte der Spektralphotometrie

Die Referenzwerte sind definiert als Durchschnitt der Messungen von über 350000 Patienten, unter Berücksichtigung der individuellen Parameter wie Größe, Gewicht, Geschlecht, Blutgruppe

und Alter. Nebst der revolutionären Möglichkeit, auf Gewebsebene zu messen, übersteigt die S/O-Check- Messung zusätzlich stark eine bloß quantitative Messung (ppm) der Mineralien, Spurenelemente und Schwermetalle.

Statt nur eine Konzentration widerzugeben, die uns immer noch nicht sagt, ob therapeutische Maßnahmen sinnvoll sein könnten oder ob die Zellumgebung richtig versorgt ist (Ampelsystem), bekommen wir eine komplette individuelle Auswertung, die uns in die Lage versetzt, exakt und effizient zu beraten.

Auch was die Metallbelastung betrifft, macht dies Sinn, denn eine höhere Konzentration an SM kann bei einem 80-jährigen Mann noch als physiologisch (Akkumulation) betrachtet werden, während dies bei einem Mädchen von 14 Jahren unbedingt eine Behandlung erfordert! Auch kann man sich

vorstellen, dass die Konzentrationen bei einem Mann von 1.85 m und 140 kg (Fettdepots) anders beurteilt werden muss, als wenn dies eine schlanke Frau mit 65 kg Gewicht wäre.

Bei den physiologischen Auswertungen muss man sich Folgendes bewusst sein:

Mit der Statistik von abertausenden Messungen mit klinischen Fällen im Hintergrund kann S/O-Check durch die Vergleichsmessungen der Mineralien und SM berechnen, wie viel Prozent an Belastbarkeit ein System mit hoher Wahrscheinlichkeit verloren hat.

Im Gegensatz zu allen anderen Laborparametern konnte mittels der Spektralphotometrie-Technologie auch bei der Blutgruppe festgestellt werden, dass es je nach Blutgruppe unterschiedliche Referenzwerte gibt! Deshalb sollte man auch diesen Parameter immer korrekt erfassen! Mit einem einfachen Test über Kapillarblut kann man dies ebenfalls in Sekunden durchführen: www.blutgruppe-schnelltest.de.

In der Zwischenzeit haben auch die neue Elemente Fluor und Gadolinium sich bereits eindeutig bewährt. Gadolinium kommt deutlich erhöht bei Personen vor, die bereits mit Gadolinium-Kontrastmittel untersucht worden sind. Da Gadolinium mittlerweile auch im Trinkwasser vorhanden ist, wird sich dieses Element auch zukünftig zunehmend als Umweltbelastung zeigen.

Bei den Fluorverbindungen kann man statistisch deutliche Unterschiede feststellen zwischen diejenigen, die täglich Fluor-Zahnpasta verwenden und diejenigen die bewusst Fluorquellen vermeiden. Auch in Tansania wo ebenfalls in einem Entwicklungsprojekt den SO/Check täglich im Einsatz ist, kann man feststellen, dass die Fluorkonzentration durch das Fluor belastete Trinkwasser (typisch für Vulkangebiete) generell zu hoch ist. Dass Fluorverbindungen auch ein gesundheitsschädigendes Potenzial haben, wurde auch in der renommierten Fachzeitschrift Lancet bestätigt ([https://www.thelancet.com/journals/laneur/article/PIIS1474-4422\(13\)70278-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laneur/article/PIIS1474-4422(13)70278-3/fulltext))

Vitamin-Auswertungen

In Bezug zu den Vitaminen kann man stellen, dass das, was für Mineralien gilt, auch für die Vitamine gilt! Blut lässt sich nicht immer vergleichen mit Gewebskonzentrationen! Wenn man Nährstoffe zuführt, wird dies zuerst zu den wichtigsten Organen (welche fürs Überleben entscheidend sind) distribuiert, beim Blut sieht man innerhalb weniger Tagen eine Verbesserung, weil dies unser wichtigstes Transportsystem ist. Wie viel schließlich in den Zelle ankommt, wird entschieden durch viele andere Faktoren wie Membranqualität, Aktivität der Membranpumpen, Möglichkeit zur Rezeptoraktivierung, etc ...

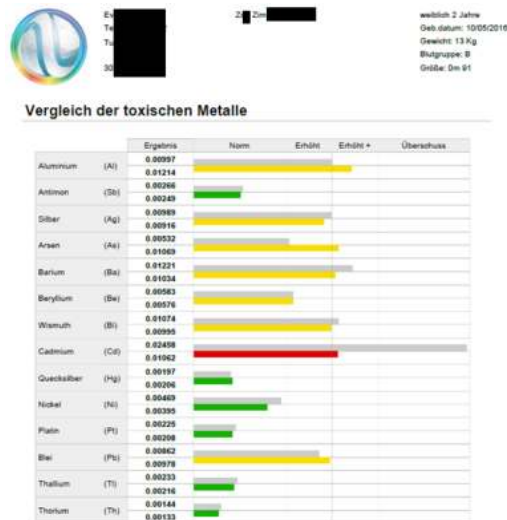
Nicht selten gibt es in Zusammenhang mit Vitamin D, so genannte Vit D-Receptor SNIP's (Polymorphismen) welche einem normalen Vitamin D-Transport in die Zelle im Weg steht.

Die komplexe Isomerie der Vitamine stellt tatsächlich eine größere Hürde dar. Deshalb führen zusätzliche logarithmische Berechnungen in Bezug zu synergistischen und antagonistischen Wechselwirkungen mit allen gemessenen Elementen zu einer Auswertung, die man praktisch perfekt als Basis für eine adäquate Beratung verwenden kann. Die Tatsache, dass sich nach einer gezielten Unterstützung auch diese Werte korrigieren lassen, zeigt die Effizienz und Richtigkeit der Messmethodik. Jesse de Groodt, Hologomed Ag, CH-6403 Küsnacht am Rigi

4.2. Fallbeispiele aus der Praxis

Beispiel 1:

Autistisches Mädchen mit starker Verzögerung der Psychomotorische Entwicklung. Die Mutter ist Brasilianerin und war ebenfalls stark Cadmiumbelastet:



Eine kindergerechte Unterstützung mit Nährstoffen führt sowohl zu einer massiven Verbesserung des Resultats als auch der Symptomatik:

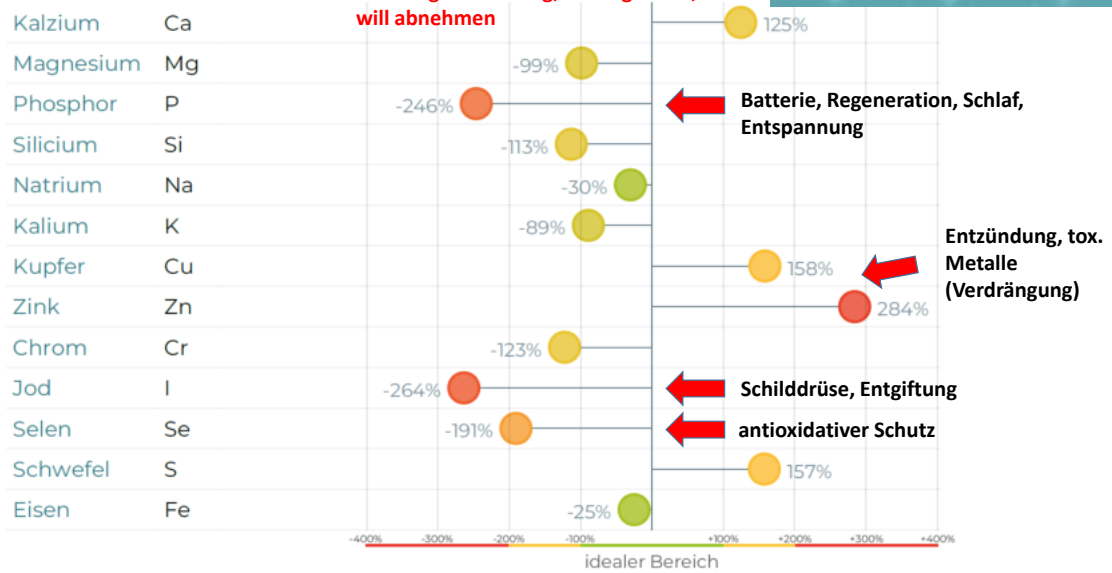


Beispiel 2:

MINERALSTOFF - BILANZ

Lehrer, Raucher, ungesunde Lebensweise, Stress, kein Sport, Bluthochdruck, extrem KH-lastige Ernährung, ständig müde, will abnehmen

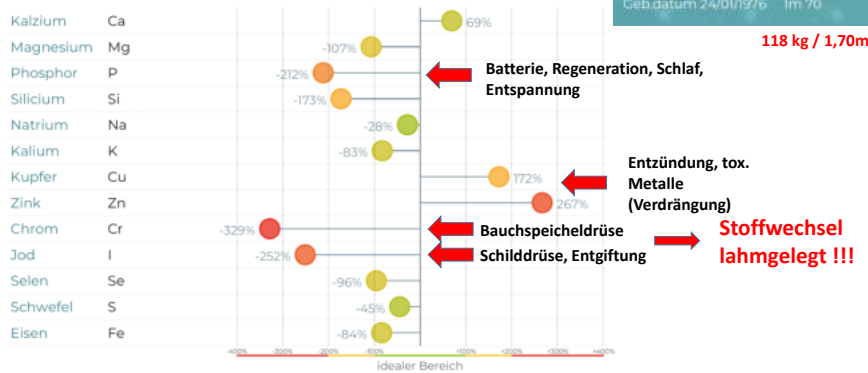
männlich
57 Jahre
Geb.datum 29/03/1962
Blutgruppe O
135 Kg
1m 90



Beispiel 3:

Patientin, 42 Jahre, u.a. Leistungsabfall, gastrointestinale Beschwerden

MINERALSTOFF - BILANZ



100 Tage Antibiotika, (Staphylokokkeninf.), Rosacea + Doxycyclin, Wechsel zw. Verstopfung und Durchfall, dauer-müde, unruhiger Schlaf, Stress auf Arbeit, Metformin, Omeprazol, L-Thyroxin, Raucherin



ALLGEMEINES WOHLBEFINDEN



ANTI-AGING HAUT



Ansatz:

- Ernährungsumstellung
- Stressreduktion
- DNA-Darmanalyse
- → Darmaufbau
- Raucherentwöhnung (Red. tox. Metalle)

Farben sprechen Bände !!!

Beispiel 4:

Mädchen 4 Jahre jung – extreme Neurodermitis

weiblich
4 Jahre
Geb.datum 12/05/2013

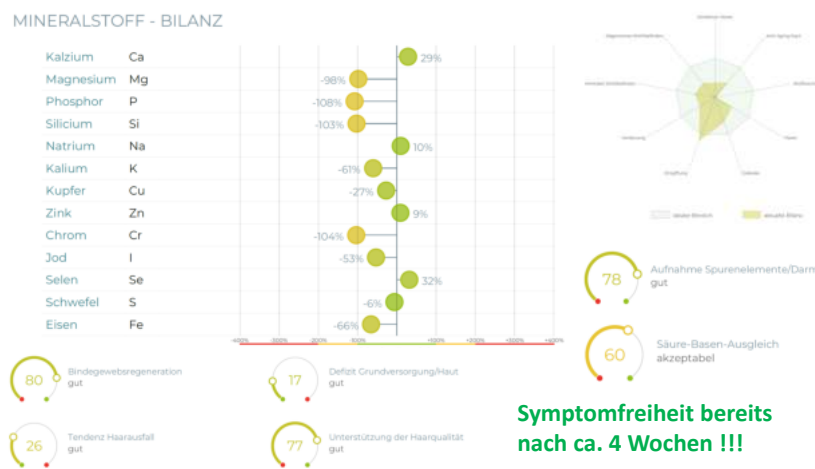
Blutgruppe A
19 Kg
1m 15

MINERALSTOFF - BILANZ



1. Ernährung konsequent gesund (Bio)
2. Zink
3. **Schwefel (MSM)**
4. Basenpulver

ca. ein halbes Jahr später...

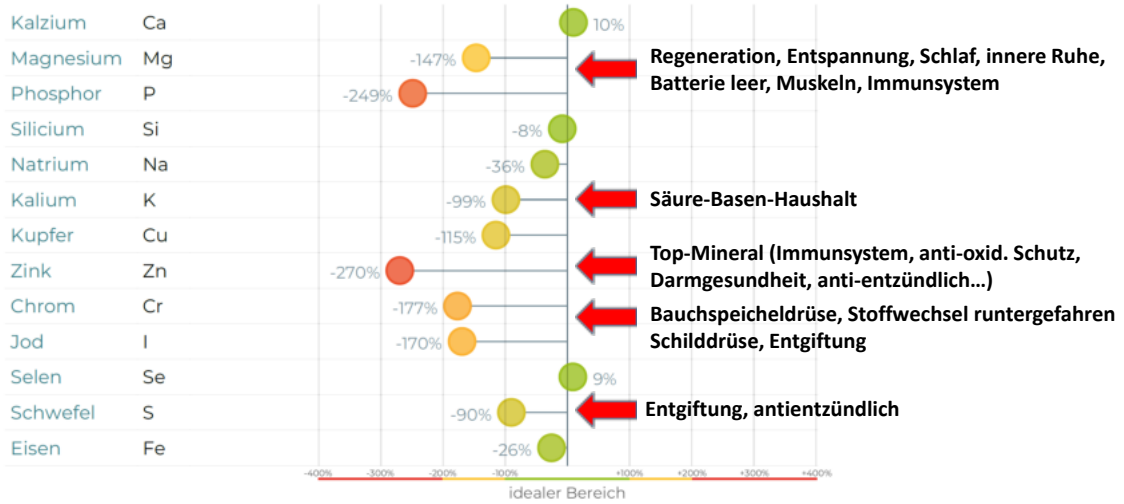


Beispiel 5:

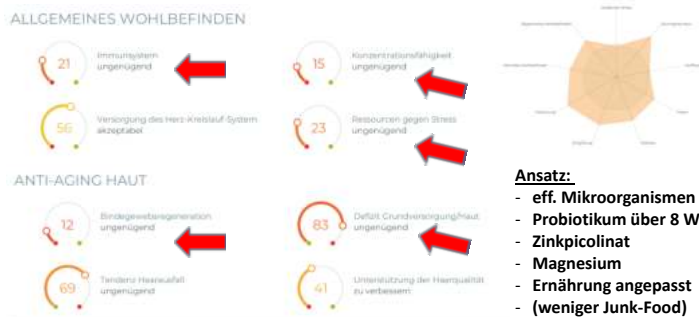
**12 Jahre alt, H ü f t – O P + längere
Antibiose, „jugendliche Ernährung“,
allerg. Asthma,
keine probiotische Nacharbeit**

männlich Blutgruppe A
12 Jahre 53 kg
Geb.datum 17/07/2005 1m 64

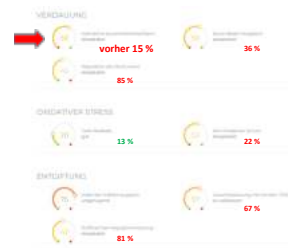
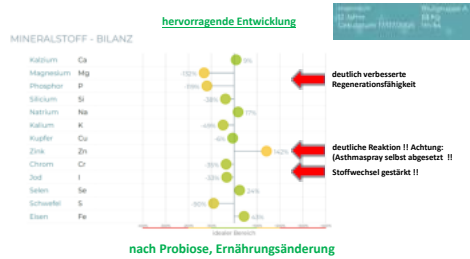
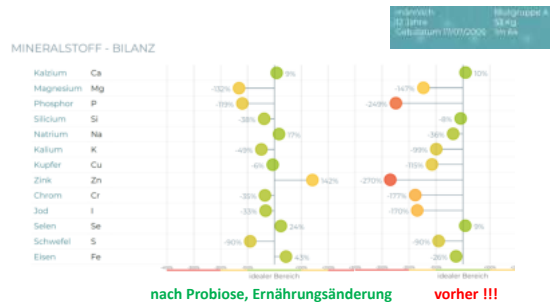
MINERALSTOFF - BILANZ



Junge ist erschöpft, antriebslos und infektfähig !!!



4 Monate später...



ALLGEMEINES WOHLBEFINDEN



ANTI-AGING HAUT

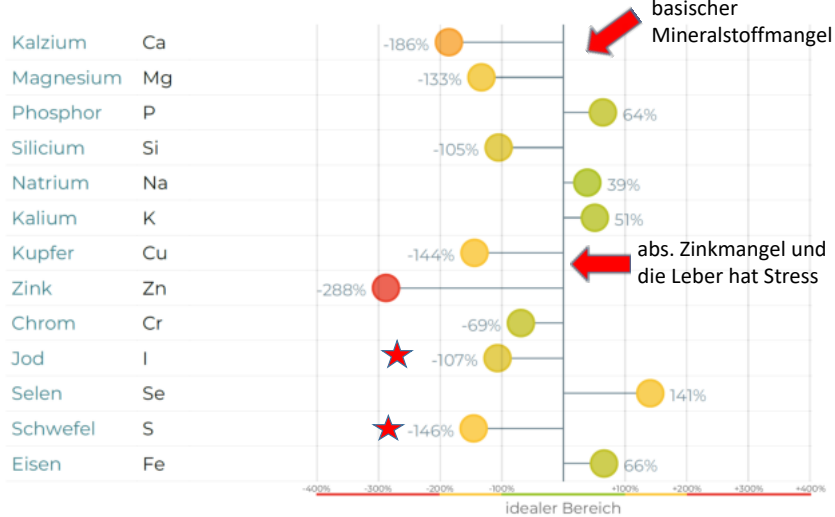


Patient fühlt sich wieder fitter, weniger müde und hat wieder echt „Bock“.

Beispiel 6:

Achtung: Blutwerte im wesentlichen unauffällig !!

MINERALSTOFF - BILANZ



männlich Blutgruppe O
61 Jahre 50 Kg
Geb.datum 13/04/1956 Im 74
Datum: 23/06/2017 10:17

1,74m - 50 kg !!

- Alkoholiker
- Kettenraucher
- COPD
- rapider Gewichtsverlust
- Blutwerte zum Großteil unauffällig
- Arzt: „...weiter so...“

- Patient fühlt sich:
- krank
- schwach
- müde
- ausgelaugt
- hat keinen Lebensmut mehr

★ die Entgiftungsstoffe Schwefel und Jod sind defizitär

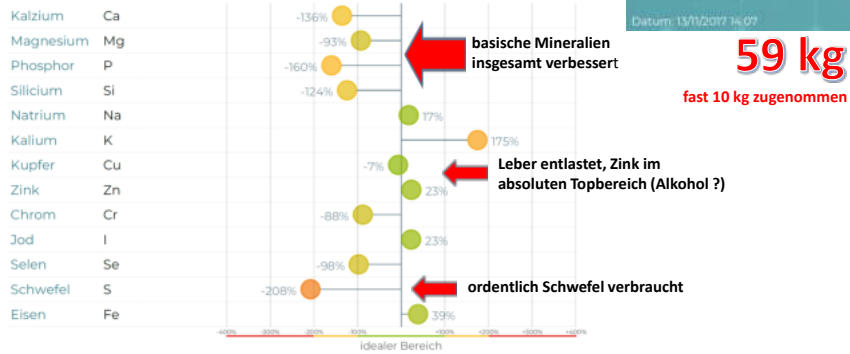


Ansatz:

- effektive Mikroorganismen
- Probiotikum
- Zinkpicolinat 30-60 mg / d
- Basenpulver (Ca, Mg, Si, K, Zn)
- konsequente Ernährungsumstellung
- Stressfaktoren reduzieren

... 5 Monate später

MINERALSTOFF - BILANZ



Achtung !!! → **Kein Alkohol seit dem 1. Zell-check !**
> raucht deutlich weniger <



ALLGEMEINES WOHLBEFINDEN



ANTI-AGING HAUT



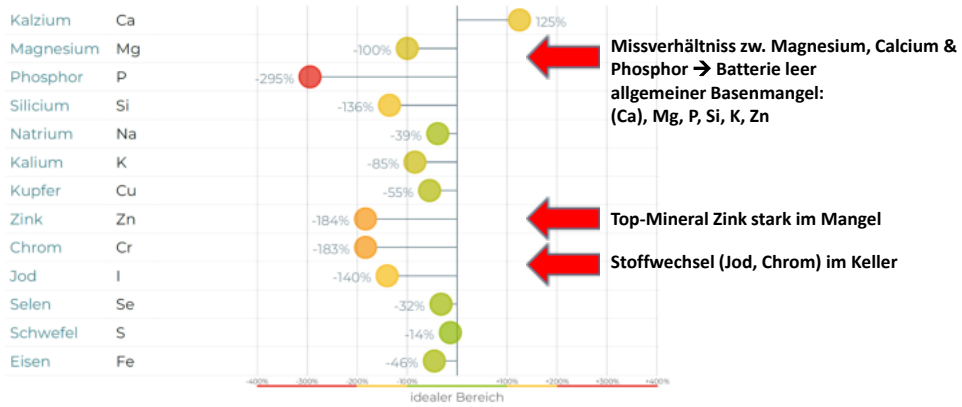
Patient fühlt sich deutlich besser und hat wieder Lebensfreude !!!

Beispiel 7:

14 jähriger Junge, seit 1 Jahr Beinbegradigung, mehrere OPs, Antibiose, vergesslich, unsortiert, fühlt sich überfordert, oft Sodbrennen

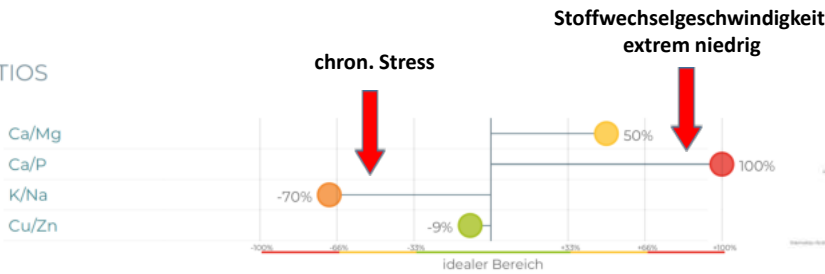
männlich Blutgruppe B
14 Jahre 78 Kg
Geb.datum 18/09/2003 1m 85

MINERALSTOFF - BILANZ



allgemein eher defizitäre Lage

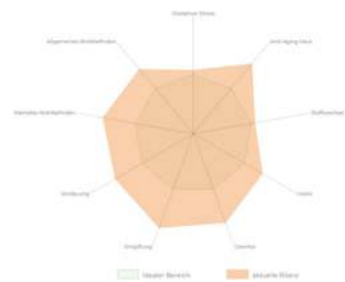
RATIOS



VITAMINE



Vitamin-D Interpretation: 0 !!! → bedeutet extrem niedrig. Null geht nicht, dann wäre die Person tot. Der dahinterstehende Algorithmus lässt sich nicht auf alle grenzwertigen Fälle anwenden. Hier haben wir eine Extremsituation. Der Blutwert kann trotzdem z.B. bei 20 ng/ml liegen, aber bei der Mg, Ca, P – Situation wird Vitamin D eben nicht aktiviert.

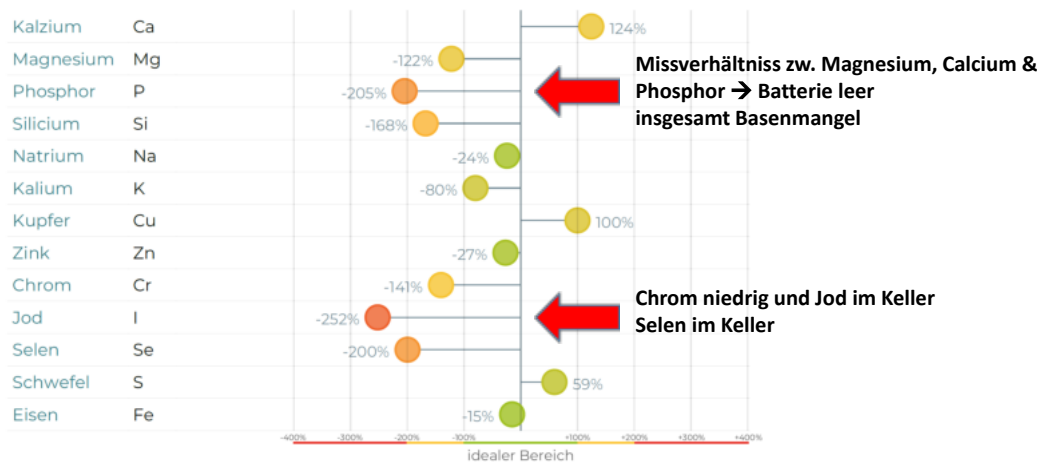


Beispiel 8:

Patient: extrem müde, antriebslos, könnte auf der Stelle einschlafen
Ernährung sehr durchwachsen, trinkt sehr wenig, Stress

männlich Blutgruppe O
 60 Jahre 94 Kg
 Geb.datum 28/08/1958 1m 85

MINERALSTOFF - BILANZ



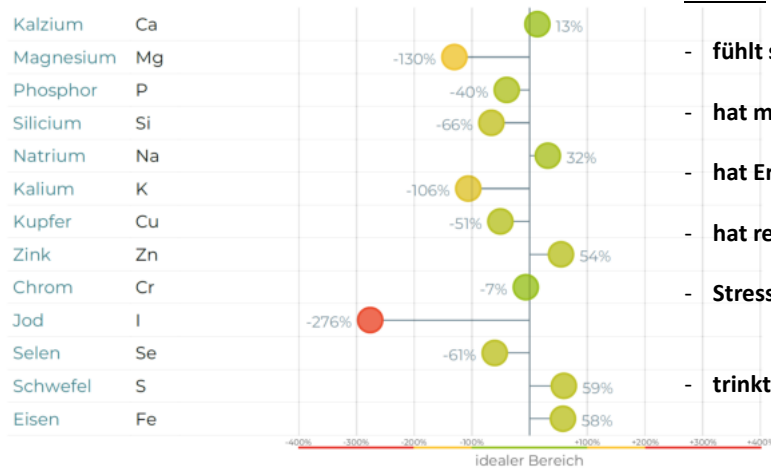
Ansatz:

- Stresslevel senken
- Trinkmenge erhöhen (ca. 40ml / kg Körpergewicht)
- Ernährungsumstellung (Richtung „low carb“) – Frau kümmert sich
- Vitamin D3 Einnahme empfohlen (Dosis: nach Prof. Dr. Spitz)
- Basenpulver
- Jod, Selen, Magnesium

6 Monate später ...

allgemein deutlich homogenere Situation

MINERALSTOFF - BILANZ

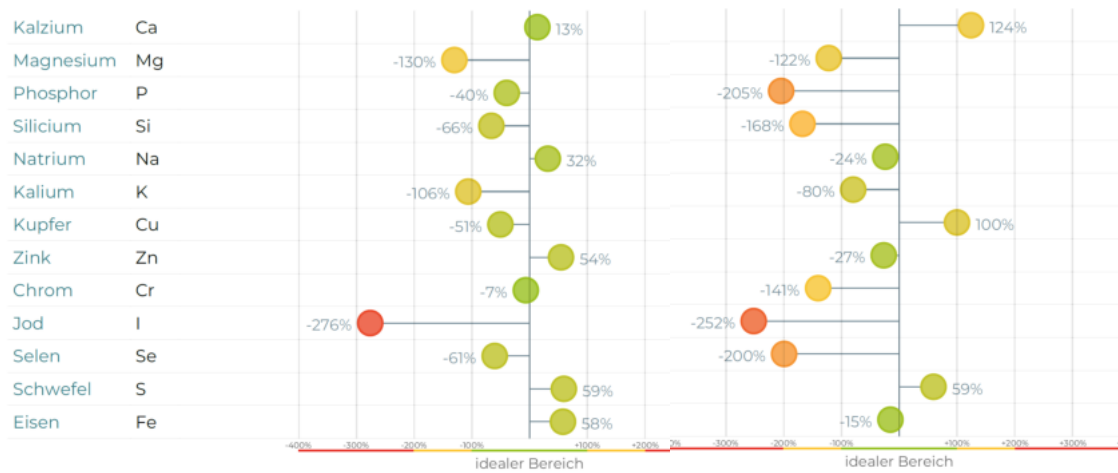


Patient:

- fühlt sich viel agiler
- hat mehr Energie
- hat Ernährung sehr strikt geändert
- hat regelmäßig seine NEM genommen
- Stress ist arbeitsbedingt → war schwierig zu reduzieren
- trinkt jetzt ca. 3 Liter + am Tag

allgemein deutlich homogenere Situation

MINERALSTOFF - BILANZ



Zur Erinnerung:

nachher

vorher

VERDAUUNG



OXIDATIVER STRESS



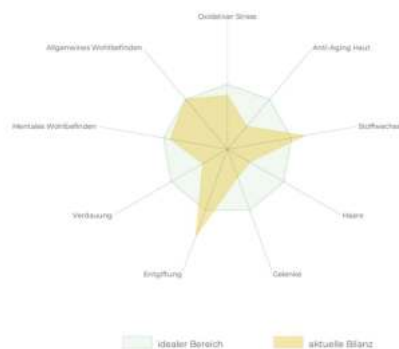
ENTGIFTUNG



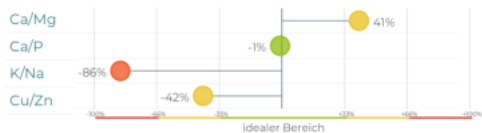
ALLGEMEINES WOHLBEFINDEN



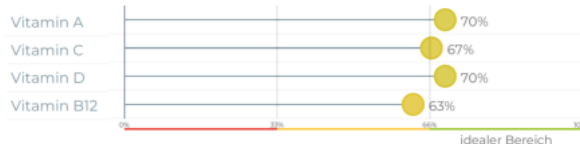
ANTI-AGING HAUT



RATIOS



VITAMINE



Beispiel 9:

Patientin P.L. nach HPU-Behandlungsstrategie und Osteopathie - Optimierung des Darmsystems, Verbesserung der Resorptionsfähigkeit, Enzymsynthese durch Ergänzung mit u.a. Zink, B-Vitamine und Silizium, Zufuhr Antioxidantien, MSM und Curcumin.

Patientin P.L. vor Therapie:

Wichtigste Symptome:

Migräne

Massive Müdigkeit

Prämenstruelles Syndrom

Lungen: Leistungsasthma: als Kind Normales Asthma gehabt, hat kleine Lungen, viel Cortison Spray gehabt als Kind, Heuschnupfen löst Asthma aus

Kardio-vaskulär: tiefer Blutdruck

Gastro-intestinal: Verstopfung, Milchunverträglichkeit, Reizdarmsyndrom

Haut: Allergien auf gerissenen Lebensmitteln (Zitrusfrüchten, Kiwi, Erdbeere, Aprikosen, Äpfel, Banane) Nesselfieber gehabt, Ekzem, Neurodermitis

Morbus Bechterew mit rezidivierenden Entzündungen des Ileo-sakral Gelenks

Fibromyalgie

Osteoporose

Skoliose mit Rückenschmerzen

Symptomverbesserung:

Migräne – keine Anfälle mehr

Massive Müdigkeit - normalisiert

Prämenstruelles Syndrom - normalisiert

Lungen: Leistungsasthma: als Kind Normales Asthma gehabt, hat kleine Lungen, viel Cortison Spray gehabt als Kind, Heuschnupfen löst Asthma aus – keine Symptome mehr, macht intensive Tanzkurse

Kardio-vaskulär: tiefer Blutdruck - normalisiert

Gastro-intestinal: Verstopfung, Milchunverträglichkeit, Reizdarmsyndrom

Haut: Allergien auf gerissenen Lebensmitteln (Zitrusfrüchten, Kiwi, Erdbeere, Aprikosen, Äpfel, Banane) Nesselfieber gehabt, Ekzem, Neurodermitis – keine Symptome mehr, wenn Allergene Nahrungsmittel und Milch weglassen wird

Morbus Bechterew mit rezidivierenden Entzündungen des Ilio-sakral Gelenks – keine Schübe mehr, Rückenschmerzen praktisch beseitigt

Fibromyalgie – massiv besser

Osteoporose – muss langfristig beobachtet werden

Skoliose mit Rückenschmerzen – keine Schmerzen mehr



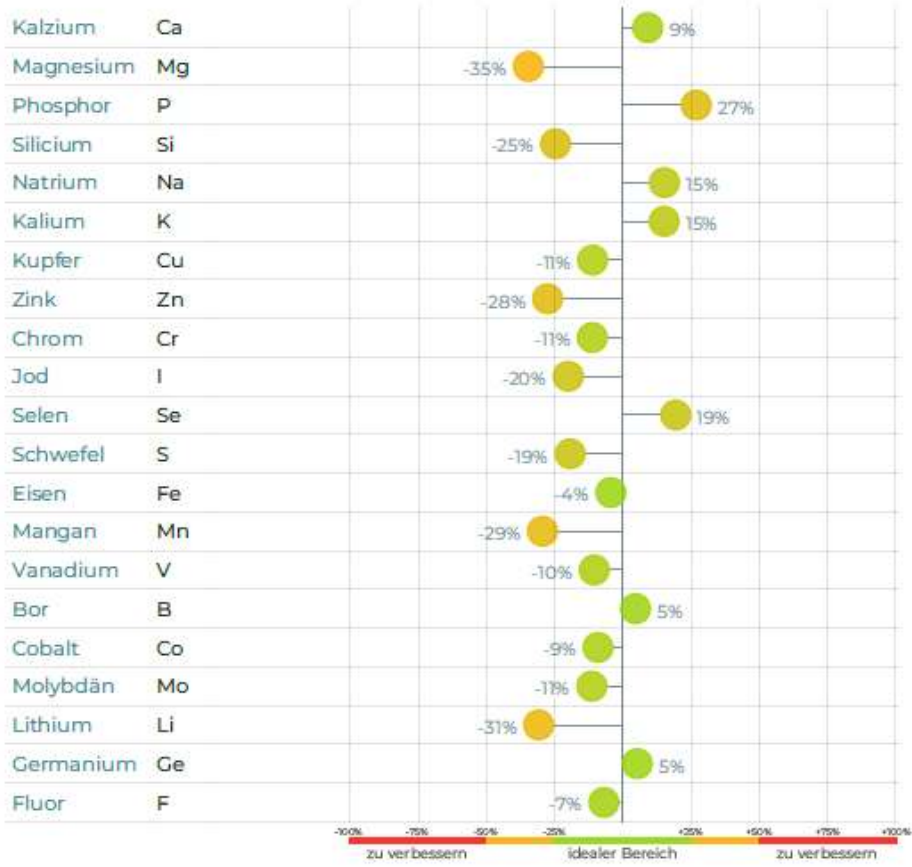
Pa Le

weiblich
44 Jahre
Geb.datum 21/12/1974
Blutgruppe O
47 Kg
1m 63

pe

Datum: 22/10/2019 18:25

MINERALSTOFF - BILANZ



Beispiel 10:

Patientin Z.E. vor Anfang der Therapie
 Wichtigste Symptome:
 Reizdarmsyndrom, Bähungen Verstopfung
 Chronische Rückenschmerzen
 Osteoporose (gemäss Rapport)

**Universitätsklinik
Zürich**

Klinik für Rheumatologie

Prof. Dr. med. D. Deller
 Rheumatologie
 Klinik für Rheumatologie
 Universitätsklinik Zürich
 Klinik für Rheumatologie
 Sandstrasse 28
 CH-8091 Zürich
 Telefon: 0041 022 25 26 61
 Telefax: 0041 022 25 26 62
 www.klinik.uzh.ch/rd

Zürich, 23.11.2017 / BGL

Ambulanten Bericht

Zürcherstrasse 28, 8091 Zürich, geb. 15.05.1957
 Frau Z. E.

Diagnose
 Osteoporose

Verlauf
 Vielen Dank für die Zuweisung über genannter Patientin zur Knochenhöhenmessung als Verlaufskontrolle bei 2016 festgestellter Osteoporose sowie positiver Familienanamnese und einer früher Menopausen als Risikofaktor für Osteoporose. Die Befunde und das Folgebild habe ich mit der Patientin besprochen.

Wachstumsraten der Osteoporose

1. Paraxiphoidale: positiv
2. L5/S1-Zwischen: in 23. Lebensjahr nach Sturz auf Handgelenk links
3. Thorax: 2017 bei abnormen Abnormen in T09
4. Sacrum: keine Ergebnisse
5. T12: 19.8 kg/m²
6. T12: 19.8 kg/m²
7. Sacrum: positiv, keine Ergebnisse
8. T12: 19.8 kg/m²
9. T12: 19.8 kg/m²
10. T12: 19.8 kg/m²
11. T12: 19.8 kg/m²
12. T12: 19.8 kg/m²
13. T12: 19.8 kg/m²
14. T12: 19.8 kg/m²
15. T12: 19.8 kg/m²
16. T12: 19.8 kg/m²
17. T12: 19.8 kg/m²
18. T12: 19.8 kg/m²
19. T12: 19.8 kg/m²
20. T12: 19.8 kg/m²

Befunde
 Knochenhöhenmessung vom 23.11.2017 (Johanna Deller, A. Betsch, Nummer 2008)
 T-Score (L5/S1): -1.1 (T12): -2.3
 T-Score Hüft: -2.3 (T12): -1.8
 T-Score Schenkelhals: 2.6 (T12): 2.3

Verbaler Fraktur-Assessment (VFA) vom 23.11.2017
 Osteoporose: „degenerative Veränderungen“, keine Anhaltspunkte für Störungsbild in
 thorakolumbalen Bereich
 Absoluter „Querschnittswert nach FRAX“

Zürcherstrasse 28, 8091 Zürich, geb. 15.05.1957

Für folgende osteoporotische Fraktur: 10%
 Für eine Hüftfraktur: 4.9%

Bestellung
 In der heutigen Messung zeigt sich eine deutliche Verstärkung der Werte im Vergleich zur ersten durchgeführten Messung in Luzern im Oktober 2016. Die Patientin hat bisher keine antiresorptive Therapie angenommen, sie nimmt aber Vitamin D ein. In der aktuellen Messung zeigt sich insbesondere an der Lendenwirbelsäule eine deutliche Abnahme der Knochenhöhenwerte im Sinne einer fortgeschrittenen Osteoporose. Der L5/S1 hat sogar eine Standardabweichung von -4, ebenfalls findet sich ein osteoporotischer Wert am linken Schenkelhals. Bei positiver Familienanamnese und auch deutlich erhöhten FRAX-Risikowert (10%) für eine osteoporotische Fraktur empfiehlt sich die Einleitung einer antiresorptiven Therapie mit einem Bisphosphonat. Ich habe mit der Patientin eingehend die verschiedenen Möglichkeiten einer antiresorptiven Therapie besprochen, wie auch mögliche Nebenwirkungen. Im Gespräch zeigt sich Frau Zimmermann aktuell noch zurückhaltend bezüglich einer antiresorptiven Therapie und möchte dies nochmals mit Ihnen besprechen. In Frage kommen eine Therapie mit Aclononat 70mg 1x Woche oral oder Bandronat 3mg alle 3 Monate i.v. Eine nächste Knochenhöhenmessung ist auf einen spiegelbaren Geist in 2-3 Jahre indiziert.

Procedere
 Eine antiresorptive Therapie ist indiziert mit Bsp Aclononat 70mg p.o. 1x Woche oder Bandronat 3mg alle 3 Monate (Bsp Boniva) i.v.
 Ich empfehle eine gelegentliche Kontrolle des 25-OH-Vitamin D Spiegel mit therapeutischen Zielwert 30-50 ng/l oder 75-145 nmol/l
 Täglich Kalziumaufnahme von 1000-1200mg empfehlen
 Regelmässige körperliche Aktivität, insbesondere ein moderates Krafttraining 2x Woche
 Eine nächste Knochenhöhenmessung ist in 2 Jahren indiziert. Das kann entweder in Luzern im Osteoporosezentrum St. Anna oder bei uns durchgeführt werden. Ich bitte hierfür um eine erneute Zuweisung. Besten Dank!

Freundliche Grosse

Dipl. med. L. Schiltknecht
 Arzt
 Dieser Bericht wurde elektronisch erstellt und bedarf keiner Unterschrift.

Beilage
 Knochenhöhenmessung vom 23.11.2017

Kopie
 - Frau Elisabeth Zimmermann Hager, Seestrasse 64, 6304 Vilpach

Beginn Therapie

Praxis	El. ZH	weiblich	Blutgruppe A
Lu		61 Jahre	58 Kg
Ch		Geb.datum 15/05/1957	1m 70
O			
ec	mail		Datum: 04/07/2018 08:19

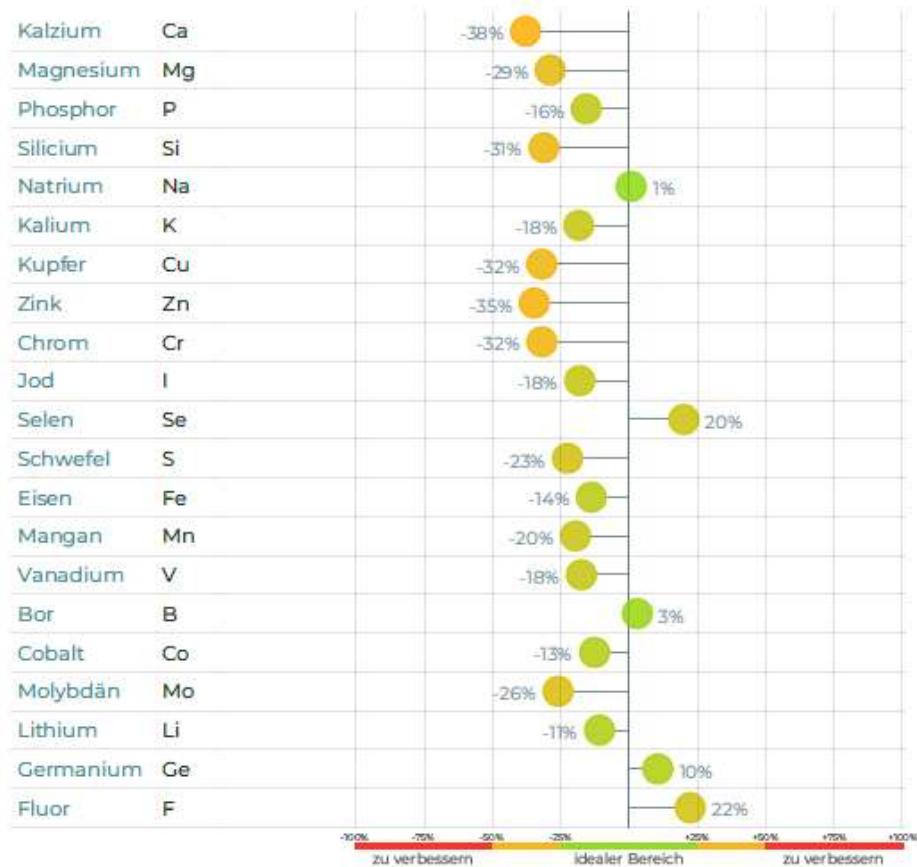
MINERALSTOFF - BILANZ



Nach 2 Jahren

P Lu C 0 e	in	Elis n Zi n	weiblich 62 Jahre Geb.datum 15/05/1957	Blutgruppe A 58 Kg 1m 70
mail		h	Datum: 16/03/2020 15:26	

MINERALSTOFF - BILANZ



Darmfunktion und Rückenschmerzen haben sich normalisiert. Osteoporose Progression sollte weiterverfolgt werden. Trotz ärztlich empfohlener Therapie mit Calcium und Vitamin D3, erfolgte noch keine Verbesserung der Knochendichte. Bekanntlich ist den Einbau von Kalzium im Skelett auch noch von anderen Kofaktoren abhängig wie Magnesium, Mangan, Silizium, Kupfer, Vitamin K.

Prä
Lut
CH
04
ed

Joc Be

weiblich Blutgruppe B
62 Jahre 58 Kg
Gebdatum 08/02/1956 1m 64

Datum: 20/08/2018 09:34

MINERALSTOFF - BILANZ



Beschwerdefrei nach Nährstoffoptimierung und diverse osteopathische Behandlungen

4.3 Beobachtungsstudien über die Korrelationen von Blutlabormesswerten und Spektralphotometriemessungen

Jesse de Groot

4.3.1 Wie sich nitrosativer Stress in einer spektralphotometrische Messung erkennen lässt

Der Begriff nitrosativer Stress (von griech.-lat. Nitrogenium für Stickstoff und lat. stringere für ziehen, schnüren, zusammendrücken) bezeichnet eine **Sonderform des oxidativen Stresses**. Von dieser Sonderform spricht man, wenn es sich bei den beteiligten Oxidantien bzw. reaktiven Sauerstoffspezies um reaktive Stickstoff-Sauerstoff-Verbindungen wie das freie Radikal **Stickstoffmonoxid** (NO) und sein Folgeprodukt **Peroxinitrit** handelt. NO und Peroxinitrit werden teilweise in der Literatur als Reaktive Stickstoffspezies (engl. reactive nitrogen species, RNS) bezeichnet. Stickstoffmonoxid (NO), kurz auch Stickoxid genannt, hat im Organismus zahlreiche wichtige physiologische Funktionen, u.a. als Botenstoff und Stoffwechselregulator. Die Forschung in diesem Bereich ist noch recht jung: Im Jahr 1992 wurde NO in der Fachzeitschrift Science zum Molekül des Jahres erklärt, 1998 erhielten drei Pioniere der NO-Forschung, Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro und Ferid Murad, für ihre Forschungen den Nobelpreis für Physiologie und Medizin. NO wird durch bestimmte Enzyme, die NO-Synthasen (NOS), aus Arginin und Sauerstoff gebildet, dabei entstehen als weitere Endprodukte Citrullin und Wasser. Vier Isoenzyme (Enzyme, die formal die gleiche biochemische Reaktion beeinflussen, sich aber in ihrer Eiweißstruktur und ihren physikalischen Eigenschaften unterscheiden) der NOS sind bekannt, den bestimmten Organen zuzuordnen sind:

- Endotheliale NOS (eNOS) – aktiv in den Innenwänden der Arterien (das Endothel ist die Zellschicht an der Innenfläche der Blut- und Lymphgefäße): NO wirkt hier als Botenstoff zur Relaxation (Erschlaffung) der glatten Gefäßmuskulatur und Gefäßdilatation (Gefäßerweiterung), dadurch kommt es zur Blutdrucksenkung und Herzentlastung (die Wirkung einiger Medikamente, die NO im Körper freisetzen, basiert auf diesem Effekt).
- Neuronales NOS (nNOS) – aktiv in den Nervenzellen: NO wirkt hier als Neurotransmitter.
- Induzierbares NOS (iNOS) – gebildet in Zellen des Immunsystems: Das so gebildete NO dient als Immunregulator und zur Abwehr von Krankheitserregern im ganzen Organismus. Die iNOS wird bei Entzündungsreaktionen, Infekten und Chemikalienbelastungen stimuliert.
- Mitochondriales NOS (mtNOS) – aktiv in den Mitochondrien: NO wirkt hier als Stoffwechselregulator für Synthese (Aufbau einer Verbindung aus einfacheren Stoffen), Proliferation (Vermehrung von Gewebe), Apoptose ("programmierter Zelltod", spielt eine wichtige Rolle z.B. bei der Embryonalentwicklung, der Entsorgung alter Zellen und Rückbildung von Tumoren) und Regulation des Sauerstoffverbrauches. Eine verstärkte NO-Synthese tritt bei Hypoxie (verminderte Sauerstoff-Versorgung des Körpergewebes) auf.

NO ist gegenüber anderen Radikalen relativ langlebig und wenig reaktionsfreudig. Aufgrund seiner geringen Größe kann sich das Molekül jedoch leicht und schnell im Körper verbreiten. Bei hohen NO-Konzentrationen können sich höhere Stickoxide (NO_x) bilden, deren Reaktionsspektrum deutlich größer ist. Eine erhöhte NO-Synthese und damit nitrosativer Stress kann ebenso wie oxidativer Stress durch Entzündungen und Infektionen als endogene (im Körperinneren entstehende) Faktoren ausgelöst werden.

Darüber hinaus können nach Kuklinski folgende (endogene oder exogene) Faktoren nitrosativen Stress auslösen oder verstärken, indem sie den Stoffwechsel beschleunigen oder die Mitochondrienfunktion hemmen:

- Eine instabile Halswirbelsäule, verursacht durch Halswirbelsäulen-Traumen (hier treten NO-Synthespitzen typischerweise nachts auf, Symptome sind Anschwellen der Nasenschleimhäute - während die Nase tagsüber frei bleibt, Schnarchen, Apnoe, Speichelfluss)
- Physischer und psychischer Stress (bei instabiler Halswirbelsäule insbesondere durch bestimmte Sportarten wie Joggen)
- Chemikalienbelastungen durch nitratbelastete Nahrungsmittel (durch Stickstoffdüngung als wohl wichtigster Faktor und Verwendung von Nitritpökelsalz zur Fleischkonservierung), bestimmte Medikamente
- (Berufliche) Exposition gegenüber nitrosen Gasen (Gemische aus Stickstoffmonoxid und Stickstoffdioxid)

Nitrosativer Stress und Excitotoxizität

Bei einer Excitotoxizität werden aufgrund einer Aktivierung von Glutamatrezeptoren so viele Neurotransmitter, insbesondere Glutamat/Kainsäure/NMDA ausgeschüttet, dass ein starker Einstrom von Calciumionen in die Nervenzelle erfolgt und durch die Calciumionen eine Apoptose in den Nervenzellen ausgelöst wird. (Reizüberflutung)

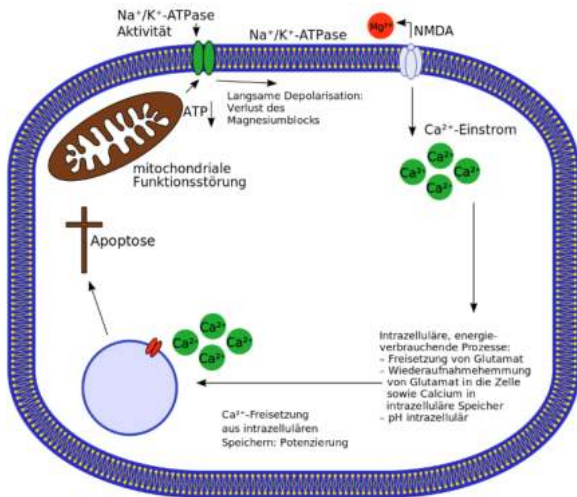
Als Calcium-abhängige Proteine werden manche Phospholipasen, Endonukleasen und Proteasen (wie Calpain) aktiviert. Bei Ausbreitung einer Exzitotoxizität im Gewebe können größere Hirngebiete geschädigt werden und absterben. Die Excitotoxizität kann durch eine Ausschüttung von TNF- α im Zuge einer parallellaufenden Immunreaktion verstärkt werden.

Excitotoxizität spielt eine Rolle bei Rückenmarksverletzungen, Schädel-Hirn-Traumata, Schlaganfall, Vergiftungen mit manchen Neurotoxinen sowie bei neurodegenerativen Erkrankungen des Zentralnervensystems (ZNS) wie z. B. multiple Sklerose, Alzheimerkrankheit, Amyotrophe Lateralsklerose (ALS), Parkinsonkrankheit, Alkoholismus, Huntington-Krankheit. Auch bei der Hypoglykämie und dem Status epilepticus wurde eine erhöhte Glutamatkonzentration rund um die Neuronen festgestellt.

Bei einem erhöhten, nicht kompensierten nitrosativen Stress (RNS), erhöhen sich ebenfalls die intrazellulären Kalziumkonzentrationen. Die aktiven Pumpen, welche versuchen, das Kalzium wiederum aus der Zelle heraus zu kriegen, verbrauchen sehr viel Energie, weil das Enzym Ca⁺²-ATPase selbst vermehrt ATP benötigt. Wenn dieser Prozess nicht unterbunden wird, entsteht eine Folgereaktion von zellschädigenden Effekten!

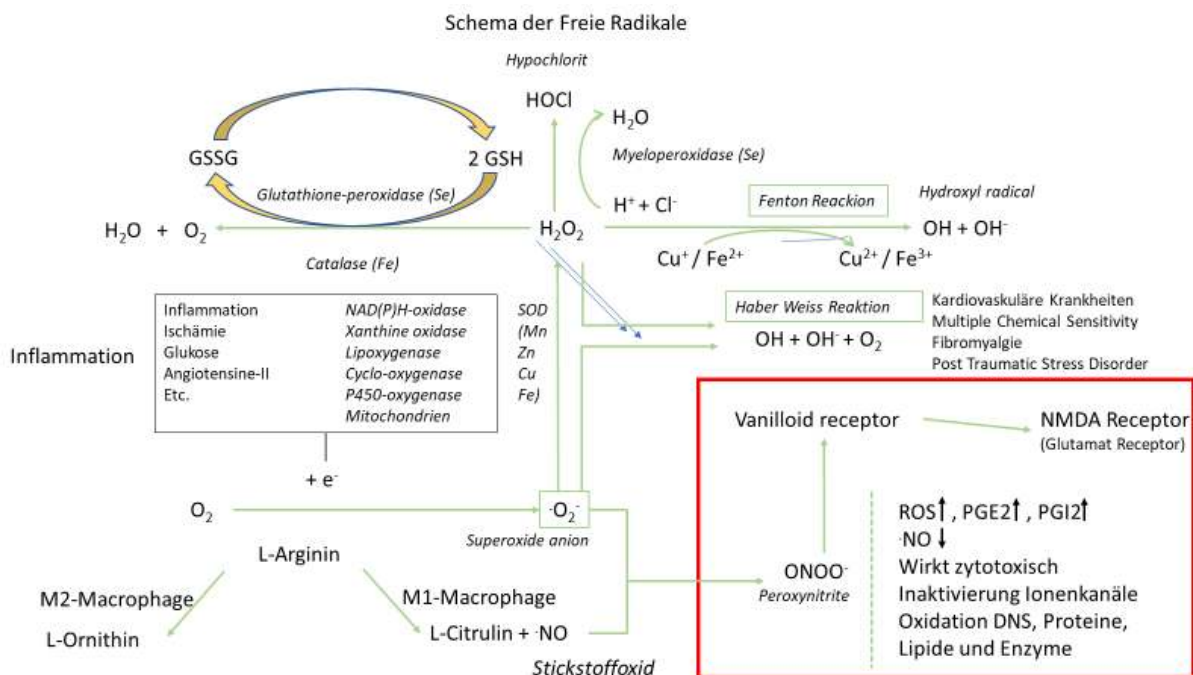
Intrazelluläre Folgereaktionen bei erhöhten Kalziumkonzentrationen

- Schädigungen der Mikrofilamente mit beeinträchtigter Zellmotilität, veränderter Zellmorphologie und Dysfunktionen
- Weitere Sauerstoff- und Stickstoffradikale führen zu einer weiteren Schädigung der Membrane, Enzyme, Zellorganellen und der DANN



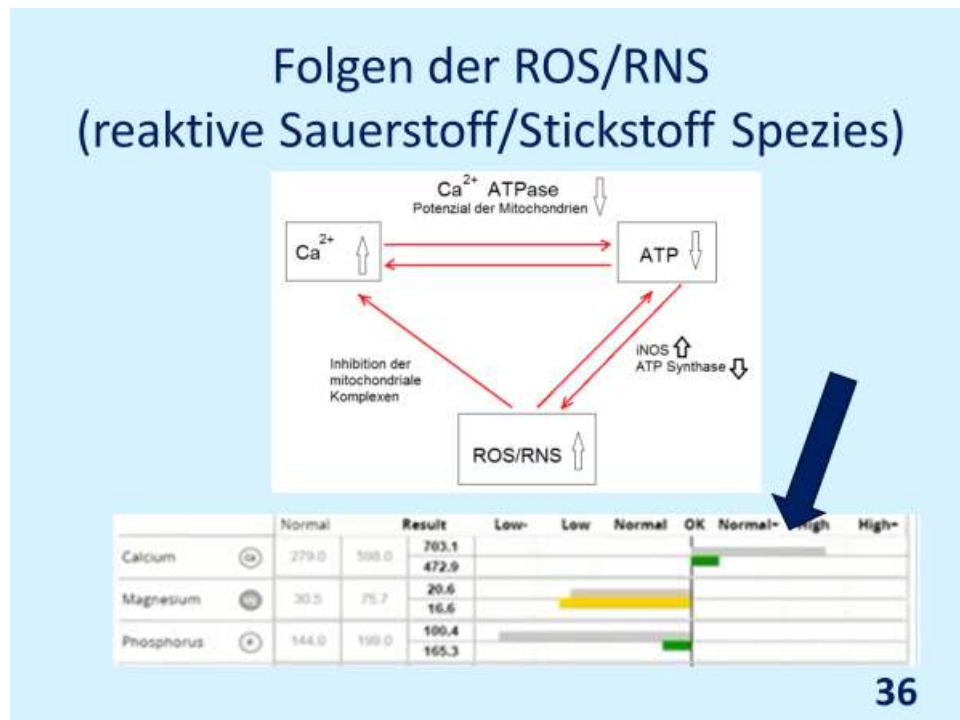
Komplexe regulatorische Mechanismen entscheiden schliesslich, ob eine Apoptosis oder Pyroptosis (verhindert die Ausbreitung einer innerzellulären Infektion) entstehen wird.

- Es kann direkt jedes Molekül zerstören
- Inhibiert die Enzymaktivität und Ionenkanäle
- Reduziert die ATP-Reserven:
 - NO ist ein reversibler Inhibitor der Cytochrom-Oxidase (Multiproteinkomplex, der als Endglied der Kette der elektronenübertragenden Enzyme der Atmungskette 4 Elektronen direkt vom löslichen Cytochrom c auf molekularen Sauerstoff überträgt)
 - Hingegen Peroxynitrit (ONOO^-) inaktiviert irreversibel die Komplexe I/II/III und Aconitase; Eisen-Schwefel Clusters
 - Schädigung der mitochondrialen Membranen blockiert den elektrochemischen Gradienten, der notwendig ist für die ATP-Synthese
- ROS/NOS verursacht schliesslich eine Lipidperoxidation, was die Zelle anschwellen lässt und zerstört.



Auf Grund der Tatsache, dass typischerweise bei einen erhöhten nitrosativen Stress, den Glutamat-Receptor aktiviert wird was zu erhöhte intrazelluläre Kalziumkonzentrationen führt,

eignet sich die spektralphotometrische Testmethode sich bestens, um ein Idee zu bekommen über den Grad des nitrosativen Stresses.



Kalziumüberschuss in der Spektralphotometrie als Hinweis für nitrosativer Stress

Da Vitamin B12 physiologisch beteiligt ist bei der Bewältigung des nitrosativen Stresses und Cobalt ein zentrales Element ist dieses Vitamins, ist wie in dieses Beispiel einer Afrikaner, häufig auch einen Cobaltmangel ersichtlich.



Name: j... ns...

Date: 31/10/2017
männlich 18 Jahre
Geb.datum: 15/03/1999
Blutgruppe: O
Gewicht: 50 Kg
Größe: 1m 65

Mineralstoff - Bilanz

	Ergebnis	Norm	Niedrig-	Niedrig	Norm -	OK	Norm +	Hoch	Hoch +
Kalzium	641.2	279.0	598.0						
Magnesium	40.4	30.5	75.7						
Phosphor	42.8	144.0	199.0						
Silicium	3.2	15.0	31.0						
Natrium	15.7	21.0	89.0						
Kalium	30.4	9.0	39.0						
Kupfer	35.3	11.0	28.0						
Zink	135.4	125.0	155.0						
Eisen	3.0	5.0	15.0						
Mangan	0.08	0.31	0.75						
Chrom	0.19	0.82	1.25						
Vanadium	0.038	0.009	0.083						
Bor	3.22	0.84	2.87						
Cobalt	0.008	0.025	0.045						
Molybdän	0.061	0.035	0.085						
Jod	0.31	0.32	0.59						
Lithium	0.019	0.052	0.120						
Germanium	0.006	0.003	0.028						
Selen	0.48	0.95	1.77						
Schwefel	51.2	48.1	52.0						

Mineralisches Gleichgewicht



Ein weiteres Beispiel weshalb Überschüsse welche spektralphotometrisch gemessen worden sind, sehr häufig zurück zu führen auf reine zelluläre Kompensationsmechanismen, sieht man auch in diesen Zusammenhang mit einer Verschiebung von Lithium nach intra-zellulär. Wie bereits in Studien festgestellt worden, spielt auch Lithium eine entscheidende Rolle beim Vitamin B12-Stoffwechsel:

Abstract

The lithium content of humar
up to 2000 micrograms/d. Fr
and the reference hair lithiun

micrograms/d. Hair lithium concentrations were extremely low in nearly 20% of the American samples, and in samples collected in Munich, Germany and Vienna, Austria. Hair lithium levels are low in certain pathological conditions, e.g., heart disease, in learning-disabled subjects, and in incarcerated violent criminals. The highest levels were observed in samples of a lithium-treated psychiatric patient. A statistically highly significant direct association was observed between the hair lithium and serum concentrations, which suggests a role of lithium in the transport and distribution of vitamin B12. Interactions of lithium with other trace elements are also discussed.



Evidence that Lithium Induces Human Granulocyte Proliferation: Elevated Serum Vitamin B₁₂ Binding Capacity *in Vivo* and Granulocyte Colony Proliferation *in Vitro*

Glenn Tisman, Victor Herbert, Seymour Rosenblatt

First published: June 1973 Full publication history

DOI: 10.1111/j.1365-2141.1973.tb01704.x View/save citation

ntation and evidence

entation at dosage levels of
ninantly American adults,
re calculated to be 730

Möglicherweise steht dieses Phänomen auch in Verbindung mit dem nitrosativen Stress. Weitere Beobachtungen sind notwendig um die festgestellte Konzentrationsverschiebungen, welche auf spektralphotometrisch ersichtlich sind, vollständig zu begreifen.

Weitere Folgen eines dauerhaften Nitrosativen Stresses sind:

- Störung der Mitochondrienfunktion (besonders in den Organen, die sehr viel Energie benötigen, wie Nervensystem und die Muskulatur)
- Hemmung der Steroidhormonsynthese
- Citrullinierung von Peptiden und Aktivierung der Cyclooxygenase-Enzyme
- Nitrosierung aromatischer Aminosäuren
- Hemmung der Synthese von neuronalem und endothelialelem Stickstoffmonoxid
- Gesteigerte Bildung von Nitrosaminen
- Gewichtszunahme, Hypertonie und Diabetes mellitus Typ II
- Es kommt zu Störungen des Magnesium - Calcium Gleichgewichtes in der Zelle.
- Zu hohes Cholesterin und NO: Erhöhtes Cholesterin bei gesundem Essen oder Diät kann hier die Ursache haben. NO blockiert nämlich ein Enzym in der Leber, das Cholesterin in Gallensäure verwandeln soll. Dadurch steigt das Cholesterin an und gleichzeitig kommt es durch den Mangel an Gallensäure zur Fehlverdauung.
- NO und Entzündung: Stickstoffmonoxid erhöht im Körper die Bereitschaft zur Entzündung und erhöht gleichermaßen auch die Bildung von Histamin! Freigesetzte Entzündungsstoffe wiederum erhöhen die Bildung von NO - und der Kreis dreht sich weiter hinein in eine stärkere Entzündung.
- Geistige Erschöpfung und eine starke Einschränkung der Konzentrationsfähigkeit
- Macht Ausdauerleistungen fast unmöglich.
- Die Symptome können damit den Symptomen chronischer viraler und bakterieller Infekte ähneln.

Diagnose des nitrosativen Stresses

Auf Grund des grosse Symptomspektrums was durch Nitrostress ausgelöst werden kann und Tatsache, dass man erfahrungsgemäss diese Symptome relativ einfach effizient und vor allem kausal behandeln kann mit Nährstoffen (wie u.a. B12, Vitamin E und C, Glutathion, Alfa-Liponsäure, Curcumin und SuperOxidDismutase (SOD)), die eine biochemische regulierende Wirkung zeigen bei dieser Form der freie Radikale Pathologie, kann auch hier die Spektralphotometrie nebst der Labordiagnostik, sehr hilfreich sein.

Mögliche labortechnische Testparameter sind:

- Citrullin
- Methylmalonsäure
- Nitrophenyllessigsäure
- DNS-Oxydation (8-OH-Desoxguanosin)
- 8-Epiprostaglandin 2F α
- Lactat Pyruvat-Ratio
- Lipidperoxidation
- Neopterin
- Nitrotyrosin

Die Vergleichbarkeit mit dem intrazellulär spektralphotometrisch gemessene Kalziumanstieg, ist sehr auffällig.

Auftrag: 2303001020 / Endbefund

INTEGRATIVE MEDIZIN			
	Resultat	Ref.Wert	Vorwert
Klinische Chemie und Hämatologie			
Klinische Chemie			
Metabolite			
◦ \uparrow Kreatinin im Urin	286 mg/l	290-2260	
Mitochondriale Medizin			
Nitrosativer Stress			
◦ \uparrow Citrullin	8.48 μ mol/g cre	< 2,7	
◦ \uparrow Methylmalonsäure	2.63 mg/g cre	< 2,3	
◦ \uparrow Nitrophenyllessigsäure	1.86 μ g/g cre	< 1,5	
Oxidativer Stress			
DNS-Oxidation			
◦ 8-OH-Desoxyguanosin (Urin)	2.8 ng/ml	< 14,4	

Oxidativer Stress

8-OH-Desoxyguanosin

8-OH-Desoxyguanosin (8-OH-DG) ist ein Peroxidationsprodukt der DNA-Schädigung durch reaktive Sauerstoffverbindungen. Hohe Werte lassen vor allem auf Schädigung der mitochondrialen DNA schließen und deuten auf erhöhtes Krebsrisiko durch oxidativen Stress hin. Rauchen und verschiedene Umweltchemikalien (z. B. Benzol, Quecksilber) führen zu erhöhter 8-OH-DG-Ausscheidung im Urin. Bei [REDACTED] liegt die **8-OH-DG Konzentration im unauffälligen Bereich**.

Nitrosativer Stress und Mitochondriale Medizin

Citrullin

Das Citrullin im Urin ist erhöht.

Citrullin ist ein Produkt des Eiweißstoffwechsels, welches dann entsteht, wenn im Körper die Aminosäure (Eiweißbestandteil) Arginin unter Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) abgebaut wird. Dieses NO ist einer der wichtigsten Regelsubstanzen für die Weite der Blutgefäße und damit der Durchblutung, z. B. des Herzens, der Muskulatur oder anderer Organe. Die Freisetzung des NO aus Arginin kann dabei vom Körper über verschiedene Wege gesteigert werden, was in einem gewissen Umfang auch ein lebenswichtiger und wünschenswerter Prozess ist.

Problematisch ist es allerdings wenn die NO Produktion dauerhaft zu hoch ist, da ein Teil des NO dann durch freie Radikale (siehe bei Lipidperoxidation) zu einer sehr giftigen Substanz namens Peroxynitrit umgebaut werden kann.

Ein erhöhtes Citrullin kann also auf einen erhöhten Anfall des hochgiftigen, aber leider nicht direkt nachweisbaren, Peroxynitrit hindeuten. Dieses Peroxynitrit schädigt zum Beispiel die Energiegewinnung in den Mitochondrien, den Minikraftwerken jeder Körperzelle. Außerdem kann es an Schilddrüsenerkrankungen und psychischen Symptomen beteiligt sein, da es Vorläufersubstanzen der Hormon- und Neurotransmittersynthese zerstört.

Methylmalonsäure

Die Methylmalonsäure ist erhöht. Das weist auf einen funktionellen Vitamin B12 Mangel hin.

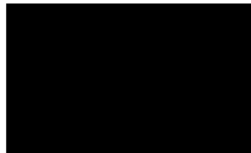
Die meisten Patienten mit einem Vitamin B12-Mangel weisen erhöhte Konzentrationen an Methylmalonsäure (MMA) in Serum und Urin auf, was bedingt ist durch die mangelnde Synthese von 5'-Deoxyadenosylcobalamin, dem Coenzym, das für die enzymatische Konversion von L-Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA durch die Methylmalonyl-CoA-Mutase verantwortlich ist.

Eine Gabe von Vitamin B12 ist anzuraten.

Nitrophenyllessigsäure

Die **erhöhte Nitrophenyllessigsäure** weist auf eine erhöhte Belastung mit Peroxynitrit hin (nitrosativer Stress). Peroxynitrit entsteht bei der Oxidation von Stickstoffmonoxid (NO) durch Superoxidradikale.

Die Nitrierung von aromatischen Aminosäuren durch Peroxynitrit hat zur Folge, dass das Tyrosin nicht mehr zur Synthese von Neurotransmittern (Dopamin, Noradrenalin, Adrenalin) sowie von Schilddrüsenhormonen zur Verfügung steht.



Name: Ma Fr

Date: 01/09/2018
 männlich 68 Jahre
 Geb.datum: 18/11/1949
 Blutgruppe: A
 Gewicht: 90 Kg
 Größe: 1m 82

Mineralstoff - Bilanz

	Ergebnis	Norm	Niedrig-	Niedrig	Norm -	OK	Norm +	Hoch	Hoch +
Kalzium	Ca 777.6	279.0	598.0						
Magnesium	Mg 32.8	30.5	75.7						
Phosphor	P 106.6	144.0	199.0						
Silicium	Si 20.7	15.0	31.0						
Natrium	Na 43.8	21.0	89.0						
Kalium	K 17.1	9.0	39.0						
Kupfer	Cu 20.3	11.0	28.0						
Zink	Zn 151.1	125.0	155.0						
Eisen	Fe 8.7	5.0	15.0						
Mangan	Mn 0.43	0.31	0.75						
Chrom	Cr 0.70	0.82	1.25						
Vanadium	V 0.026	0.009	0.083						
Bor	B 3.73	0.84	2.87						
Cobalt	Co 0.030	0.025	0.045						
Molybdän	Mo 0.051	0.035	0.085						
Jod	I 0.43	0.32	0.59						
Lithium	Li 0.134	0.052	0.120						
Germanium	Ge 0.028	0.003	0.028						
Selen	Se 0.55	0.95	1.77						
Schwefel	S 49.3	48.1	52.0						

4.3.2 Warum wir häufig eine umgekehrte Korrelation zwischen Zink- und Kupferüberschuss spektralphotometrisch und einen Zinkmangel und Kupfermangel im Vollblut finden.

Befund Spektralphotometrie:

[Redacted]	Exx Sxxxxxxxxx	weiblich	Blutgruppe O
		56 Jahre	78 Kg
		Geb.datum 13/03/1964	1m 72
		Datum: 01/05/2020 15:25	

MINERALSTOFF - BILANZ



RATIOS





Einzelwert

weiblich Blutgruppe O
56 Jahre 78 Kg
Gebdatum 13/03/1964 1m 72

Datum: 01/05/2020 15:25

OXIDATIVER STRESS



Freie Radikale
gut



Anti-Oxidativer Schutz
ungenügend

Vollblutanalyse:

Name: Su [redacted]
Geburtsdatum: 13.03.1964
Geschlecht: female
Messdaten Nr.: 40045706
Eingangsdatum: 23.03.2020
Externe Nr.: 21062
Entnahmedatum: 19.03.2020
Druck 27.03.2020 16:54
Page 4/7

Test	Messwert	Zielbereich	Einheit
Verzweigt-kettige Aminosäuren, Fortsetzung			
Isoleucin	0.79	0.6 - 2.0	mg/dL
Schwefelhaltige Aminosäuren			
Cystin	0.10	0.3 - 1.8	mg/dL
Methionin	0.24	0.2 - 0.7	mg/dL
Taurin	0.63	0.5 - 3.4	mg/dL
Aromatische Aminosäuren			
Phenylalanin	0.61	0.6 - 2.5	mg/dL
Präventivmedizinischer Optimalbereich >1.8			
Tyrosin	0.79	0.7 - 1.8	mg/dL
Präventivmedizinischer Optimalbereich >1.8			
Heterocyclische Aminosäuren			
Prolin	4.16	1.1 - 5.4	mg/dL
Hydroxyprolin	0.09	0.2 - 0.6	mg/dL
Histidin	0.79	0.8 - 1.9	mg/dL
Tryptophan	0.65	1.2 - 1.8	mg/dL
Präventivmedizinischer Optimalbereich >1.8			
Saure Aminosäuren			
Asparaginsäure	0.05	0.1 - 0.4	mg/dL
Asparagin	0.41	0.5 - 2.2	mg/dL
Glutaminsäure	0.84	0.7 - 4.6	mg/dL
Glutamin	6.67	4.7 - 11.1	mg/dL
Basische Aminosäuren			
Arginin	0.89	1.0 - 2.3	mg/dL
Präventivmedizinischer Optimalbereich >1.2			
Lysin	1.94	1.6 - 4.0	mg/dL
Ornithin	0.69	0.5 - 1.8	mg/dL
Citrullin	0.40	<1	mg/dL
Mikronährstoffhaushalt			
Zink	6.6	10.7 - 17.5	µmol/L

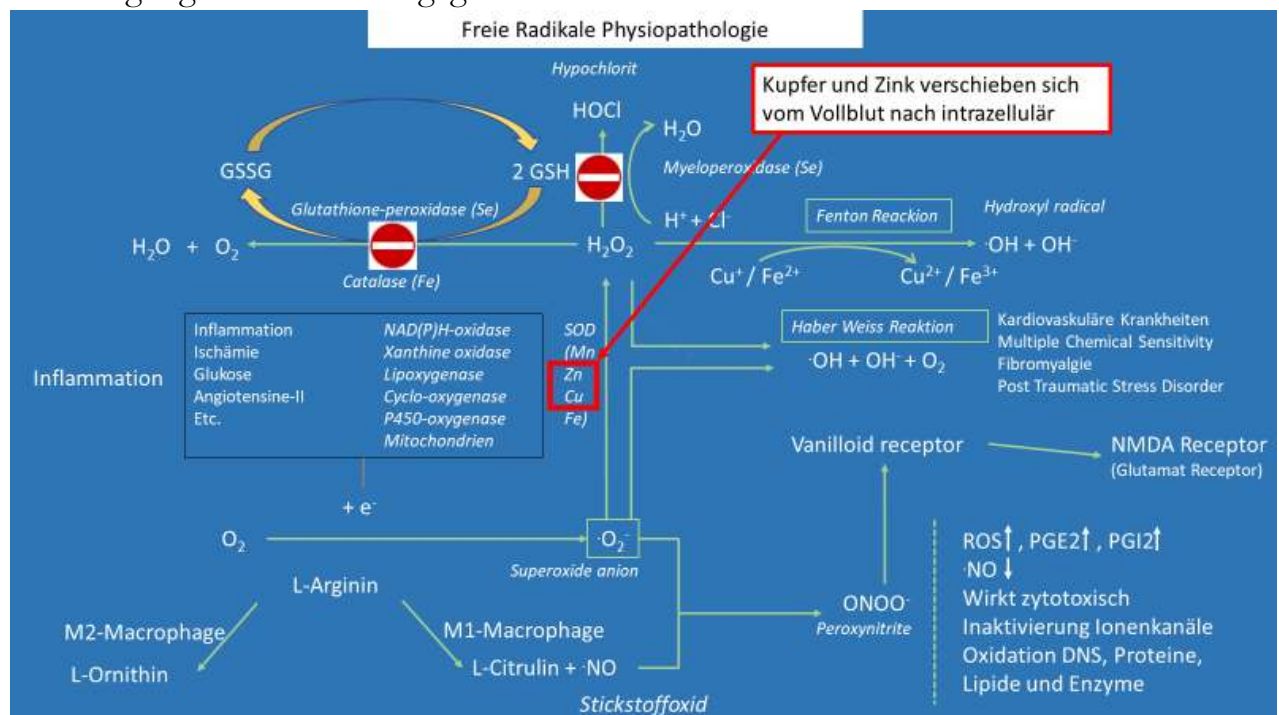
Zink ist Bestandteil einer Vielzahl von Enzymen und daher für die Aktivierung von verschiedensten Stoffwechselprozessen verantwortlich. Eine Mangelversorgung mit Zink erhöht das Infektionsrisiko. Daher resultiert auch die vielfältige Symptomatik, die sich bei einem Mangel an Zink ergeben kann. Diese reichen von Störungen der Wundheilung, über Minderwuchs, Haarausfall, Hautveränderungen bis hin zu psychischen Störungen und häufigeren Infekten.

Legende: Fett=pat. Wert +/-, H=hämolytisch, L=lipämisch, I=ikterisch, ger.=geronnen, kp=keine Probe, zwm=zu wenig Material

Dieses Zink und Kupfer-Phänomen findet man oft auch bei Eisen und Mangan. Patienten mit chronischen Entzündungen und hohen oxidativen Stress mobilisieren

entweder Eisen, Zink und Kupfer oder Mangan vom Vollblut nach intrazellulär. Bei Vollblutanalyse senken die Konzentrationen im Blut während der Konzentration in den Zellen zunimmt (Überschuss). Dies hat vor allem damit zu tun, dass falls intrazellulär eine Glutathionmangel vorliegt, ein Selenmangel (intrazellulär) oder eine Inaktivierung der Enzyme Glutathio-Peroxidase oder Glutathion-s-Transferase, die Zelle gezwungen wird die Superoxiddismutase hoch zuregulieren. (<http://flexikon.doccheck.com/de/Superoxiddismutase>)

Hierdurch werden die entsprechenden Kofaktoren (Zn, Cu, Fe, oder Mn) vermehrt in die Zelle geschleust, um eine solche Hochregulierung zu ermöglichen. Die Erklärung weshalb solche Kompensationsmechanismen möglich sind, lässt sich einfach illustrieren an Hand der in die Zelle zur Verfügung stehende Verteidigungsmechanismen gegen Freie Radikalen:



Oft sieht man dieses Phänomen bei der sogenannten „silent inflammations“ im Bereich des Bauchfettes, virale Belastungen, chronische Entzündungen wie auch Auto-Immunität, NICO-Phänomen, etc

Die Vollblutanalysen sind bei der richtigen Interpretation eindeutig mangelhaft, denn auch wenn viel oder wenig Mineralien im Blut gemessen werden, heißt dies noch lange nicht, dass dies auch intrazellulär in andere Gewebekompartimente der Fall ist (siehe auch Erläuterungen der Vergleichbarkeit zwischen den unterschiedliche Testmethoden für Nährstoffe).

Bei dieser Patientin, mit Diagnose Gebärmutterkrebs, liegt einen Mangel vor an Antioxidantien (gemäß der spektralphotometrische Analyse) sowie einen Engpass bei der Sulfokonjugation (Logarithmische Errechnung der zur Verfügung stehende schwefelhaltige Aminosäuren welche für sowohl eine adäquate Entgiftung als auch eine Reduktion des oxidativen Stresses entscheidend sind).

Wie man schwefelhaltige Aminosäuren spektralphotometrisch detektieren kann, wurde u.a. gezeigt in diese Studie:

Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2018 Sep 5;202:301-304. doi: 10.1016/j.saa.2018.05.060.
Epub 2018 May 16.

A near-infrared fluorescent probe for direct and selective detection of cysteine over homocysteine and glutathione.

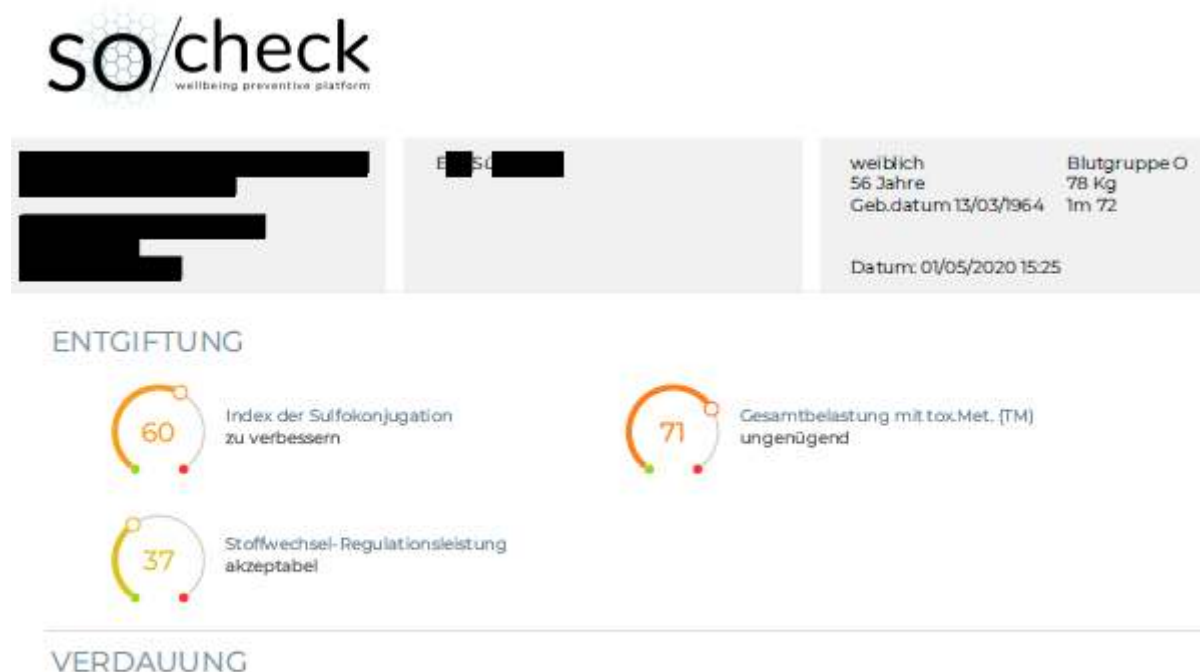
Meng YL¹, Xin ZH¹, Jia YJ², Kang YF³, Ge LP¹, Zhang CH¹, Dai MY¹.

Author information

Abstract

In this work, we have designed and synthesized the fluorescent probe 1, which showed a highly selective and sensitive response to Cys over Hcy/GSH in the test. Moreover, the color of probe solution has changed dramatically from colorless to pink with the addition of Cys within 10 min. Meanwhile, the fluorescence intensity exhibited perfectly positive correlation with concentration of Cys from 0 to 200 μM , which offered the important condition for quantitative analysis. Finally, the bioimaging and fluorescence response of probe 1 for fetal calf serum are a powerful safeguard for practical detection of Cys. Therefore, this near-infrared probe will be of great benefit for detecting Cys in the biological systems.

Copyright © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.



Name: [REDACTED]
 Geburtsdatum: 13.03.1964
 Geschlecht: female
 Messdaten Nr.: 40045706
 Eingangsdatum: 23.03.2020
 Externe Nr.: 21062
 Entnahmedatum: 19.03.2020

[REDACTED]
 [REDACTED]
 [REDACTED]
 [REDACTED]
 [REDACTED]
 [REDACTED]

Arzt:
 Druck 27.03.2020 16:54
 Page 6/7

Test	Messwert	Zielbereich	Einheit
------	----------	-------------	---------

Anämie)als klassische B12 Mangelkrankung. Lange vor dem Auftreten der Blutarmut können auch Symptome wie Gedächtnisstörungen oder eine depressive Stimmungslage auftreten. Vitamin B12 ist das einzige wasserlösliche Vitamin, das in der Leber gespeichert werden kann, sodass sich Mangelzustände erst nach längerer Zeit der unzureichenden Zufuhr entwickeln. Die Hauptursache für einen B12-Mangel ist die verminderte Aufnahme im Verdauungstrakt. Besonders ältere Menschen oder solche mit einer gestörten Funktion der Magenschleimhaut sind daher häufig von einem Vitamin B12-Mangel betroffen. Auch die Einnahme von Antazida oder chronischer Alkoholkonsum kann zu einem B12-Mangel führen.

Beurteilung:
 Ihr Vitamin B12 - Spiegel ist zwar im Normbereich, jedoch zeigen sich in diesem Wertebereich häufig auch funktionelle Mängel. Es empfiehlt sich die Bestimmung des Holotranscobalamins oder in zweiter Stufe der Methylmalonsäure zur Klärung der Versorgungssituation.

Holotranscobalamin	106		>50	pmol/L
Vitamin H (Biotin)	200		>250	ng/L

Werte unter 100 ng/l deuten auf einen Biotinmangel hin.
 Da der Biotinspiegel von Tag zu Tag schwanken kann (bis zu 100%), sind zur Diagnose eines Biotinmangels und zur Therapiekontrolle Biotinbestimmungen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen ratsam. Dabei sollte das Blut stets zur gleichen Zeit nüchtern entnommen werden.

Vitamin D3 (25-OH) LC-MS	104		75 - 175	nmol/L
--------------------------	-----	--	----------	--------

Vitamin D3 ist eines der wichtigsten Regulantien für den Calciumstoffwechsel. Es steigert die Resorption von Calcium aus dem Darm und fördert dessen Einbau in die organische Matrix des Knochens. Dadurch wird ein verstärkter Knochenaufbau ermöglicht. Eine Unterversorgung mit Vitamin D führt zu mangelhafter Mineralisierung des Knochens. Neben seiner Funktion zur Calciumregulierung übt das Vitamin D auch einen wichtigen Einfluss auf unser Immunsystem aus.

L- Carnitin gesamt	46.3		39.1 - 68.6	µmol/L
L-Carnitin frei	29.8		30.4 - 52.9	µmol/L
Coenzym Q10	0.78		0.88 - 1.43	mg/L

Co Q 10 ist Bestandteil der inneren Mitochondrienmembran. Dort fungiert das Molekül als Sammelstelle für energiereiche Elektronen, die dann über die Atmungskette zur Energiegewinnung in Form von ATP weitergeschleust werden. Durch seine besondere Struktur kann Q10 in verschiedenen Stadien stabil sein und Elektronen als Paare sammeln, aber als einzelne Elektronen weitergeben. Q10 ist also unabdingbar mit der Energiegewinnung in der Atmungskette verknüpft. Die körpereigene Herstellung von Coenzym Q10 lässt mit zunehmendem Alter nach und kann daher eine Substitution bei tiefen Spiegeln sinnvoll machen.

Q10 / Cholesterin	0.17		> 0.20	µmol/mmol Chol
-------------------	------	--	--------	----------------

Mineralstoffe und Spurenelemente im Vollblut

Selen im Vollblut	127		73 - 165	µg/L
-------------------	-----	--	----------	------

Die angegebene Normwerte entsprechen dem Bereich der gesunden Bevölkerung. Bei bestimmten Erkrankungen können therapeutisch höhere Zielwerte angestrebt werden.

Magnesium im Vollblut	1.28		1.20 - 1.72	mmol/L
-----------------------	------	--	-------------	--------

Maagnesium gehört zu den Spurenelementen des Körpers. 60 % des Maagnesiums kommen im Knochen. 35 % in der

Einen Mangel an Cystein, Glutamin und Glycin führt zu einer Einschränkung der Synthesekapazität des Glutathions. Dies wurde u.a. auch in diese Studie gezeigt:

Age (Dordr). 2015 Oct;37(5):96. doi: 10.1007/s11357-015-9823-8. Epub 2015 Sep 11.

An increased need for dietary cysteine in support of glutathione synthesis may underlie the increased risk for mortality associated with low protein intake in the elderly.

McCarty MF¹, DiNicolantonio JJ².

Author information

Abstract

Restricted dietary intakes of protein or essential amino acids tend to slow aging and boost lifespan in rodents, presumably because they downregulate IGF-I/Akt/mTORC1 signaling that acts as a pacesetter for aging and promotes cancer induction. A recent analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III cohort has revealed that relatively low protein intakes in mid-life (under 10 % of calories) are indeed associated with decreased subsequent risk for mortality. However, in those over 65 at baseline, such low protein intakes were associated with increased risk for mortality. This finding accords well with other epidemiology correlating relatively high protein intakes with lower risk for loss of lean mass and bone density in the elderly. Increased efficiency of protein translation reflecting increased leucine intake and consequent greater mTORC1 activity may play a role in this effect; however, at present there is little solid evidence that leucine supplementation provides important long-term benefits to the elderly. Aside from its potential pro-anabolic impact, higher dietary protein intakes may protect the elderly in another way-by providing increased amino acid substrate for synthesis of key protective factors. There is growing evidence, in both rodents and humans, that glutathione synthesis declines with increasing age, likely reflecting diminished function of Nrf2-dependent inductive mechanisms that boost expression of glutamate cysteine ligase (GCL), rate-limiting for glutathione synthesis. Intracellular glutathione blunts the negative impact of reactive oxygen species (ROS) on cell health and functions both by acting as an oxidant scavenger and by opposing the pro-inflammatory influence of hydrogen peroxide on cell signaling. Fortunately, since GCL's K_m for cysteine is close to intracellular cysteine levels, increased intakes of cysteine-achieved from whole proteins or via supplementation with N-acetylcysteine (NAC)-can achieve a compensatory increase in glutathione synthesis, such that more youthful tissue levels of this compound can be restored. Supplementation with phase 2 inducers-such as lipoic acid-can likewise increase glutathione levels by promoting increased GCL expression. In aging humans and/or rodents, NAC supplementation has exerted favorable effects on vascular health, muscle strength, bone density, cell-mediated immunity, markers of systemic inflammation, preservation of cognitive function, progression of neurodegeneration, and the clinical course of influenza-effects which could be expected to lessen mortality and stave off frailty. Hence, greater

cysteine availability may explain much of the favorable impact of higher protein intakes on mortality and frailty risk in the elderly, and joint supplementation with NAC and lipoic acid could be notably protective in the elderly, particularly in those who follow plant-based diets relatively low in protein. It is less clear whether the lower arginine intake associated with low-protein diets has an adverse impact on vascular health.

KEYWORDS:

Aging; Arginine; Cysteine; Glutathione; IGF-I; Leucine; N-acetylcysteine; Oxidative stress

PMID:

[26362762](#)

PMCID:

[PMC5005830](#)

DOI:

[10.1007/s11357-015-9823-8](#)

[Einen Zusammenhang zwischen Gluathionmangel, erhöhten oxidativen Stress und Krebs wurde in diese Studie untersucht und beschrieben:](#)

[J Cell Biol.](#) 2018 Jul 2;217(7):2291-2298. doi: 10.1083/jcb.201804161. Epub 2018 Jun 18.

Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance.

[Bansal A¹](#), [Simon MC^{2,3}](#).

Author information

Abstract

Glutathione (GSH) is the most abundant antioxidant found in living organisms and has multiple functions, most of which maintain cellular redox homeostasis. GSH preserves sufficient levels of cysteine and detoxifies xenobiotics while also conferring therapeutic resistance to cancer cells. However, GSH metabolism plays both beneficial and pathogenic roles in a variety of malignancies. It is crucial to the removal and detoxification of carcinogens, and alterations in this pathway can have a profound effect on cell survival. Excess GSH promotes tumor progression, where elevated levels correlate with increased metastasis. In this review, we discuss recent studies that focus on deciphering the role of GSH in tumor initiation and progression as well as mechanisms underlying how GSH imparts treatment resistance to growing cancers. Targeting GSH synthesis/utilization therefore represents a potential means of rendering tumor cells more susceptible to different treatment options such as chemotherapy and radiotherapy.

© 2018 Bansal and Simon.

PMID:

[29915025](#)

PMCID:

[PMC6028537](#)

DOI:

[10.1083/jcb.201804161](https://doi.org/10.1083/jcb.201804161)

Mehrere Studien konnten beweisen, dass es einen Zusammenhang gibt zwischen hohen Homocysteinwerten und Folsäuremangel. Auch durch Zufuhr von B6, B9 und B12 können Homocystein Plasmakonzentrationen reduziert werden.

Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2004 Dec;50(8):877-84.

Ischemic heart disease as deficiency disease.

Klevay LM¹.

Author information

Abstract

Four classes of agents capable of producing human illness have been identified: toxicity, heredity, infection and deficiency. The leading paradigm for the etiology and pathophysiology of ischemic heart disease in the 20th century was that of intoxication by too much of the wrong kind of dietary fat. This overemphasis on lipid metabolism persists because important data are neglected and because of inattention to details. For example, heart disease risk does not correlate with fat intake within nations in contrast to between nations. Also development of ischemic heart disease involves inter alia arterial spasm, cardiac rhythm, metabolism of connective tissue, glucose and homocysteine, plus paraoxonase activity and thrombus formation which generally are unaffected by dietary fat. Homocysteine thiolactone accumulates when homocysteine is high. This lactone specifically inhibits lysyl oxidase which depends on copper to catalyze cross linking of collagen and elastin in arteries and bone. The lactone is hydrolyzed by paraoxonase, activity of which can be decreased by copper deficiency. Just as cholesterol was an important focus for heart disease as intoxication, homocysteine can become an excellent focus for a paradigm shift to heart disease as deficiency because supplementation with several nutrients can alter homocysteine metabolism and decrease its plasma concentration. These supplements include betaine, copper, folate, pyridoxine and vitamin B-12. Opportunities for research on ischemic heart disease as deficiency disease are plentiful.

PMID:

15704251

[Indexed for MEDLINE]

Obwohl diese Patientin hohe Homocysteinkonzentrationen im Blut aufweist, ist trotzdem im Vollblut keine Folsäure-, B12 oder B6- Mangel ersichtlich.

Name: [REDACTED]
 Geburtsdatum: 13.03.1964
 Geschlecht: female
 Messdaten Nr.: 40045706
 Eingangsdatum: 23.03.2020
 Externe Nr.: 21062
 Entnahmedatum: 19.03.2020

Druck 27.03.2020 16:54

Test	Messwert	Zielbereich	Einheit
------	----------	-------------	---------

Klinische Chemie, Fortsetzung

Glomeruläre Filtrationsrate	116		mL/min/1.73m ²
-----------------------------	-----	--	---------------------------

Berechnete GFR nach der CKD-EPI-Formel aus dem gemessenen Kreatinin und Cystatin-C-Wert.

Die aus der Kombination von Cystatin C und Kreatinin errechnete GFR liegt näher an der wahren GFR als die aus den einzelnen Parametern errechnete. Sie kann zur Bestätigung einer chronischen Nierenerkrankung genutzt werden.

GFR: >90: Normal

GFR: 60 - 89: Geringgradige Einschränkung der GFR

GFR: 30 - 59: Mittelschwere Einschränkung der GFR

GFR: 15 - 29: Schwere Einschränkung der GFR

GFR: <15: Nierenversagen

LDH	173		125 - 220	U/L
Creatinkinase	92		< 145	U/L
Lipase	28		8 - 78	U/L
Protein gesamt	76.0		64 - 83	g/L
Albumin im Serum	50.0		35 - 50	g/L
Cholesterin Gesamt	5.4		<6.22	mmol/L
HDL Cholesterin	1.84		> 1.04	mmol/L

Werte unter 1.04 mmol/L sind mit erhöhtem Risiko für koronare Herzerkrankungen assoziiert, Werte über 1.55 mmol/L haben einen protektiven Effekt.

HDL Quotient	2.9		0 - 4	
LDL Cholesterin	3.2		< 3.8	mmol/L
LDL Quotient	1.7		< 3	
Triglyceride	1.45		< 1.7	mmol/L
Homocystein	14.1 +		< 10	µmol/L

Homocystein ist ein Zwischenprodukt des Eiweißstoffwechsels. Das Homocystein selbst hat so viele ungünstige Eigenschaften, dass der Körper versucht, die Konzentration möglichst gering zu halten.

Homocystein gilt mittlerweile als eigenständiger Risikofaktor für die Entstehung arteriosklerotischer Verschlusskrankheiten. Ein tiefer Wert des Homocysteins bedeutet ein geringeres Risiko für Herz-Kreislauferkrankungen. Neue Untersuchungen bestätigen auch den Zusammenhang erhöhter Homocysteinwerte mit der Entstehung von Demenz, vorallem der Alzheimer Erkrankung. Darüberhinaus ist Homocystein vermutlich an der Entstehung weiterer Erkrankungen wie der Osteoporose beteiligt. Neben genetischen Faktoren ist vor allem der Mangel an den Vitaminen Folsäure, B12 und B6 sowie allenfalls auch B2 für eine Erhöhung des Homocysteins verantwortlich.

Beurteilung:

Ihr Homocysteinwert liegt über dem Zielbereich, eine Substitution mit Folsäure, allenfalls auch B12 sollte erwogen werden.

Glucose im Serum	5.2		3.89 - 5.83	mmol/L
CRP ultrasensitiv	0.2		0 - 5.0	mg/L

Die Bestimmung des C-reaktiven Proteins ist zur Bestimmung von akuten Entzündungen seit langem bekannt. Seit

Name: [REDACTED]
 Geburtsdatum: 13.03.1964
 Geschlecht: female
 Messdaten Nr.: 40045706
 Eingangsdatum: 23.03.2020
 Externe Nr.: 21062
 Entnahmedatum: 19.03.2020

Druck 27.03.2020 16:54

Arzt:
Page 5/7

Test	Messwert	Zielbereich	Einheit
------	----------	-------------	---------

Mikronährstoffhaushalt, Fortsetzung

Ferritin	72		30 - 200	µg/L
----------	----	---	----------	------

Ferritin ist der Speicher für Eisen in unserem Körper. Eisen gehört zu den Spurenelementen. Der Tagesbedarf beträgt rund 1,0 Milligramm. Im menschlichen Körper kommt Eisen vor allem als Baustein des für den Sauerstofftransport zuständigen Hämoglobins vor. Zudem ist es Bestandteil des Muskelweißes Myoglobin, sowie von Enzymen und anderen Proteinen. Es wird vor allem in Leber, Milz und Knochenmark gespeichert. Blutungen, verschiedene Stoffwechselstörungen, falsche Ernährung oder bösartige Tumorleiden können zum vorzeitigen Verbrauch des körpereigenen Eisens führen. Da alle Körpergewebe auf den lebensnotwendigen Sauerstoff angewiesen sind, und dieser nur mit Hilfe des Eisens gebunden und transportiert werden kann, fallen ganze Organsysteme innerhalb kurzer Zeit aus. Je nach Vorkommen des Eisens unterscheiden wir zwischen Serum- und Speicher-Eiweiß, dem Transferrin und dem Ferritin. Der spezielle Eiweißstoff Transferrin ist für den Transport des Eisens im Blut bis ins Gewebe zuständig. Im Gewebe wird das Eisen schließlich als Ferritin gespeichert. Zur Beurteilung des Eisenhaushaltes ist es wichtig, die Konzentration beider Eisenstoffe zu kennen. Bei Eisenmangel wird entsprechend mehr Transferrin gebildet, um auch die letzten Eisenreserven zu mobilisieren. Zur Untersuchung des Eisenmangels wird sowohl die Transferrin-Konzentration im Blut als auch die Beladung des Transferrins mit Eisen bestimmt. Andererseits stimmt die im Blut nachweisbare Menge an Ferritin in etwa mit den Eisenvorräten des Körpers überein. Ist die Menge an Ferritin im Blut niedriger als üblich, gilt dies als Indikator für einen Eisenmangel.

Beurteilung:

Ihr Ferritinwert befindet sich im Zielbereich.

Magnesium	0.96		0.66 - 1.07	mmol/L
-----------	------	---	-------------	--------

Magnesium gehört zu den Spurenelementen des Körpers. 60 % des Magnesiums kommen im Knochen, 35 % in der Skelettmuskulatur und nur etwa 1 % im Blutplasma vor. Magnesium gilt als Aktivator von mehr als 300 Enzymsystemen, und spielt daher in zahlreichen Stoffwechselprozessen eine zentrale Rolle. Magnesium stabilisiert Zellmembranen und ist im Rahmen der Erregungsleitung und Übertragung der Nerven- und Muskelzellen als Cofaktor essentiell. Magnesium senkt den kardialen Sauerstoffverbrauch und beugt Herzrhythmusstörungen vor. Mangelsymptome äussern sich in Herz-Kreislaufstörungen, Muskel- und Wadenkrämpfen, Konzentrationsstörungen, Depressionen, Schlafstörungen und Nervosität.

Folsäure	23.3		6 - 38	nmol/L
----------	------	---	--------	--------

Folsäure findet sich vor allem in grünem Blattgemüse. Durch Lagerung, Lichteinwirkung oder Hitze beim Kochen wird Folsäure schnell zerstört und gehört damit zu den Vitaminen, deren Versorgungslage kritisch ist. Die Bedeutung der Folsäure und die Häufigkeit einer Unterversorgung hat in einigen Ländern zur Anreicherung von Grundnahrungsmitteln mit Folsäure geführt. Folsäure spielt gemeinsam mit dem Vitamin B12 bei der Synthese der Erbsubstanz eine wichtige Rolle und ist daher insbesondere in der Schwangerschaft, sowie im Stoffwechsel sich häufig teilender Zellen wichtig. Der Serumspiegel der Folsäure ist ein guter Marker für die aktuelle Folsäurezufuhr, jedoch sind zur Beurteilung des individuellen Folsäurestatus funktionelle Marker wie etwa das Homocystein besser geeignet.

Vitamin B6	93		> 35	nmol/L
------------	----	---	------	--------

Neuer Referenzbereich

B6- Mangel: <35 nmol/L

Median: 117 nmol/L

Werte >150 nmol/L sind meist auf angereicherte Lebensmittel oder Supplemente zurückzuführen.

Vitamin B12	256		156 - 672	pmol/L
-------------	-----	---	-----------	--------

Mehre klinische Fälle zeigen, dass ergänzende Analyse auf Gewebesebene sinnvoll sind, denn einen normale Blutspiegel bedeutet aber in keiner Weise, dass die Zellen ausreichend mit Mineralien und Vitaminen versorgt sind, denn das Innere der Zelle ist der Ort des Geschehens, nicht das Serum oder Blut. Der Mineralgehalt der Zellen hängt in erster Linie von der Energieproduktion (ATP-Herstellung) der Zelle und der Effektivität des aktiven Transportes ab. Wenn man sich also ein Bild von der Mineralversorgung der Zellen machen will, sind die Messungen im Blut nicht selten irreführend!

Gemäß der hohen Homocysteinwerte, würde man tiefe Werte an B6m B9 und B12 erwarten, diese Mangel an Nährstoffkonzentrationen ist aber nur auf Gewebesebene ersichtlich:

so/check
wellbeing preventive platform

♀ 54

weiblich
 56 Jahre
 Geburtsdatum 15/03/1964

Blutgruppe O
 78 Kg
 1m 72

Datum: 01/05/2020 15:25

BILANZ DER TOXISCHEN METALLE



VITAMINE



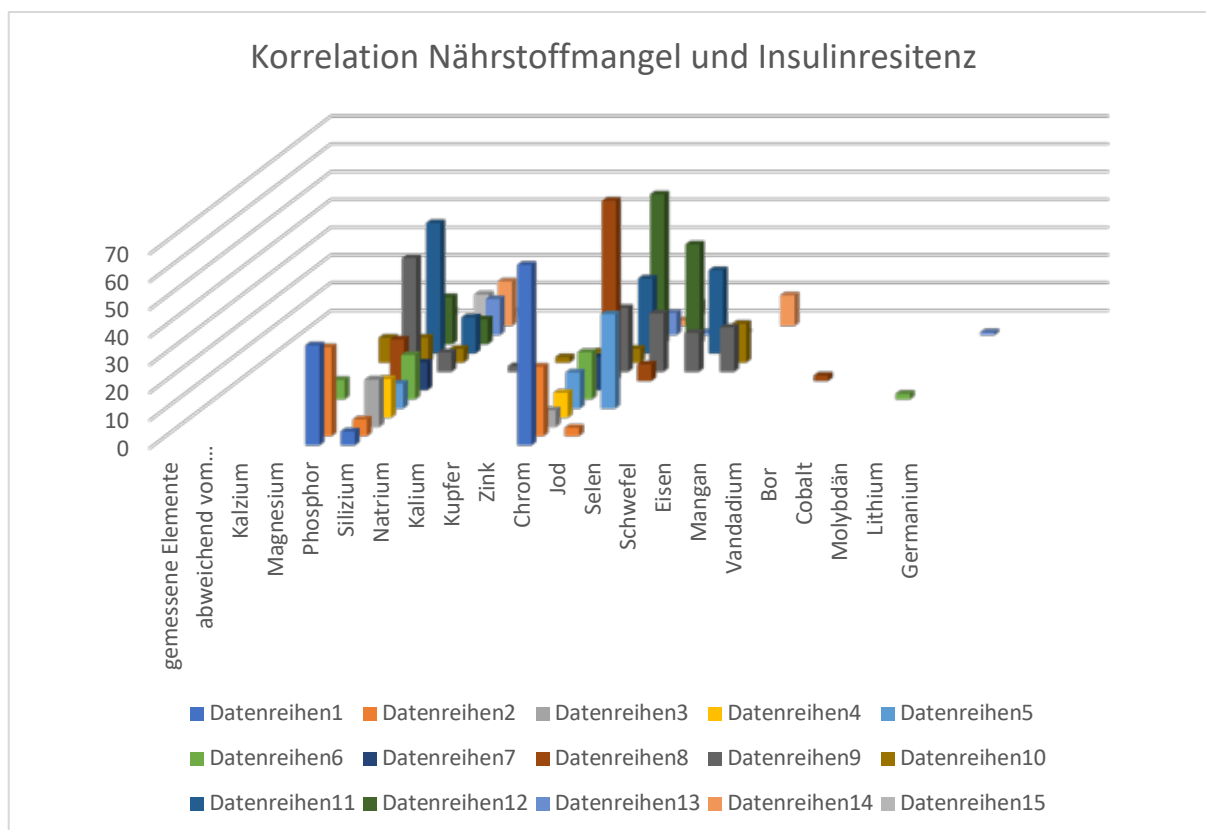
4.3.3 Zusammenhang zwischen Insulinresistenz, Chrom und Glutathionmangel

Labortechnische festgestellte Insulinresistenz widerspiegelt sich spektralphotometrisch immer mit Chrommangel:

Zusammenhang zwischen spektralphotometrisch festgestellte Nährstoffdefizite und Insulinresistenz															
Initialen des Testprobanden	E.H.	E.R.	R-B.M	T.C	R-M.D.	F.B	d'A L	H.S.	K.C.	M.S.	M.B	RS	N.A	P.G	N.C
Alter	39	38	20	24	20	26	18	28	58	49	53	50	60	52	40
Gewicht	99	84	66	54	66	58	65	100	97	56	97	97	70	75	75
Grösse	1.73	1.68	1.69	1.58	1.69	1.58	1.62	1.7	1.84	1.64	1.88	1.7	1.69	1.68	1.78
Blutgruppe	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	O	O	A	B
Geschlecht	M	W	W	W	W	W	W	W	M	W	M	W	M	W	M
Insulin 1 (mU/L)	14.7	10.6	12.4	4.8	11.1	10.1	12.8	15.5	6.7	9.2	35	89	11	8.2	5.1
Insulin 2 (nach 30 Min und 75 g Glukose) (mU/L)	51.3	50.5	65.2	67.2	78.4	53.3	177.3	70	58.4	74.1	566	452	78.7	105.9	54
Glukose nüchtern (mmol/L)	4.9	5.3	5.8	5.1	5.5	5.5	5.2	5.2	7	5.6		5.4	6.1	5	5.6
Glukose (nach 30 Min und 75 g Glukose) (mmol/L)	9.2	7.8	7.3	7.4	10.9	9.4	9.1	7.1	7.4	8.2		6.77	9.8	7.4	11
Diagnose	IR - MITTEL	IR - MITTEL	IR-MITTEL	IR-MITTEL	IR-HOCH	IR-MITTEL	IR-HOCH	IR-MITTEL	IR-MITTEL	IR-MITTEL	IR-HOCH	IR-HOCH	IR-MITTEL	IR-HOCH	IR-MITTEL
gemessene Elemente abweichend vom Optimum in %															
Kalzium															
Magnesium						7					9		2		2
Phosphor	36	32						15	41	9	47	17		3	8
Silizium	5	6	17	14	9	16	10		7	5	13	9	13	16	2
Natrium															
Kalium									2						
Kupfer										2					
Zink										4					
Chrom	65	25	6	9	13	17	12	65	23	5	27	54	8	2	9
Jod		3			34			6	21			36	1		
Selen									14		30		1		
Schwefel									16	14				11	
Eisen															
Mangan															
Vandadium								2							
Bor															
Cobalt															
Molybdän						2								1	
Lithium															
Germanium															

Referenzwerte für Insulinresistenz:

	IST-Wert	sensitiv	mittel	IR	DM	
Glukose nüchtern		< 5,0	- 5,8	- 6,9	> 6,9	mmol/l
		> 90	-105	-125	> 125	mg/dl
Glukose nach 30'		< 6,9	- 9,2	- 11,1	> 11,1	mmol/l
		< 125	-165	-200	> 200	mg/dl
(HbA1c < 5,6 // Spontanzucker nie über 11,1)						
Insulin nüchtern		< 6,5	-10	> 10		mU/l (1mU=7pmol/l)
Insulin nach 30'		< 40	-75	> 75		mU/l



Das Chrom eine entscheidende Rolle spielt beim Kohlenhydratstoffwechsel und Insulinresistenz, ist eine physiologische Tatsache und Korreltaionen wurden auch in mehrere Untersuchungen festgestellt:

Biometals. 2018 Oct;31(5):891-908. doi: 10.1007/s10534-018-0132-4. Epub 2018 Jul 16.

Chromium malate alleviates high-glucose and insulin resistance in L6 skeletal muscle cells by regulating glucose uptake and insulin sensitivity signaling pathways.

Feng W^{1,2}, Ding Y¹, Zhang W³, Chen Y¹, Li Q³, Wang W³, Chen H¹, Feng Y⁴, Zhao T⁵, Mao G¹, Yang L⁶, Wu X^{7,8}.

Author information

Abstract

Previous study revealed that chromium malate improved the regulation of fasting blood glucose and insulin resistance in type 2 diabetic rats. In this study, the effect of chromium malate on anti-high-glucose and improve insulin resistance activities in L6 skeletal muscle cells with insulin resistance and its acting mechanism were investigated. Chromium malate showed direct anti-high-glucose activity in vitro. The glucose levels had a significant downward trend compared to chromium trichloride. Compared with model group, chromium malate could significantly promote the secretion levels of GLUT-4, Akt, Irs-1, PPAR γ , PI3K and p38-MAPK, promote AMPK β 1 phosphorylation, and reduced the level of p-Irs-1 in L6 cells with insulin resistance. And the relate mRNA expression of chromium malate was significantly increased. Chromium malate is more

effective at improving the related proteins and mRNA expression than those of chromium trichloride and chromium picolinate. Pretreatment with the specific p38MAPK inhibitor completely inhibited the GLUT-4 and Irs-1 proteins and mRNA expression induced by the chromium malate when compared with model group, but GLUT-4 and Irs-1 proteins and mRNA expression was partially inhibited after inhibiting p38MAPK/PI3K expression. The results suggested that chromium malate had a beneficial influence on the improvement of controlling glucose levels and insulin resistance in L6 cells with insulin resistance by regulating proteins production and genes expression in glucose uptake and insulin sensitivity signaling pathways. The signaling pathways of glucose uptake and insulin sensitivity. This study shown that chromium malate could significant increase in the production levels of GLUT-4, p-AMPK β 1, Akt, Irs-1, PPAR γ , PI3K and p38-MAPK proteins and mRNA in L6 cells with insulin resistant. Pretreatment with the specific p38MAPK inhibitor completely inhibited the GLUT-4 and Irs-1 proteins and mRNA expression induced by the chromium malate compared to model group, but the proteins and mRNA were partially inhibited after inhibiting p38MAPK/PI3K. Therefore, chromium malate had beneficial influence on improvement of controlling glucose levels and insulin resistant in L6 cells by regulating proteins production and genes expression in glucose uptake and insulin sensitivity signaling pathways. The key proteins of glucose uptake and insulin sensitivity signaling pathways were p38MAPK, PI3K and PPAR γ .

KEYWORDS:

Chromium malate; Glucose uptake; Insulin resistance; Signaling pathway

PMID:

30014353

DOI:

[10.1007/s10534-018-0132-4](https://doi.org/10.1007/s10534-018-0132-4)

[Indexed for MEDLINE]

J Nutr Biochem. 2012 Apr;23(4):313-9. doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.11.001.

Molecular mechanisms of chromium in alleviating insulin resistance.

[Hua Y](#)¹, [Clark S](#), [Ren J](#), [Sreejayan N](#).

Author information

Abstract

Type 2 diabetes is often associated with obesity, dyslipidemia and cardiovascular anomalies and is a major health problem approaching global epidemic proportions. Insulin resistance, a prediabetic condition, precedes the onset of frank type 2 diabetes and offers potential avenues for early intervention to treat the disease. Although lifestyle modifications and exercise can reduce the incidence of diabetes, compliance has proved to be difficult, warranting pharmacological interventions. However, most of the currently available drugs that improve insulin sensitivity have adverse effects. Therefore, attractive strategies to alleviate insulin

resistance include dietary supplements. One such supplement is chromium, which has been shown to reduce insulin resistance in some, but not all, studies. Furthermore, the molecular mechanisms of chromium in alleviating insulin resistance remain elusive. This review examines emerging reports on the effect of chromium, as well as molecular and cellular mechanisms by which chromium may provide beneficial effects in alleviating insulin resistance.

Copyright © 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.

PMID:

[22423897](#)

PMCID:

[PMC3308119](#)

DOI:

[10.1016/j.jnutbio.2011.11.001](#)

J Inorg Biochem. 2006 Jul;100(7):1187-93. Epub 2006 Mar 20.

Insulin-sensitizing and cholesterol-lowering effects of chromium (D-Phenylalanine)₃.

[Yang X¹](#), [Li SY](#), [Dong F](#), [Ren J](#), [Sreejayan N](#).

Author information

Abstract

Low-molecular weight organic chromium complexes are thought to play a key role in carbohydrate and lipid metabolism and therefore have been gaining popularity as nutritional supplement for patients with diabetes and concomitant lipid disorders. The aim of the present study was to evaluate the effects of a novel synthetic chromium (d-phenylalanine)₃ complex on insulin-sensitivity, plasma lipid-profile and oxidant stress in a mouse model of type II diabetes. Plasma glucose levels following intraperitoneal insulin-challenge (1U/kg) to obese ob/ob(+/-) mice treated with Cr(d-Phe)₃ (150 microg/kg/day for 6 weeks) were significantly lower compared to vehicle-control (control: 175.8±43.2mg/dL versus Cr(d-Phe)₃ 115.3±18.0mg/dL, p<0.01, n=12). Total serum cholesterol to high-density lipoprotein ratio was significantly reduced following Cr(d-Phe)₃-treatment (control: 2.19±0.08 versus Cr(d-Phe)₃ 1.63±0.05; p<0.05). Hepatic oxidant stress, assessed as malondialdehyde equivalents and protein-carbonyl content were significantly attenuated following Cr(d-Phe)₃ treatment. The complex also inhibited lipid-oxidation in vitro, in a concentration dependent manner. Taken together, these data suggest that Cr(d-Phe)₃ may be of potential value in the therapy or prophylaxis of insulin-resistance and dyslipidemia associated with obesity.

PMID:

[16545457](#)

DOI:

[10.1016/j.jinorgbio.2006.01.039](#)

Obwohl man bei viele Patienten durch Zufuhr von chromhaltigen Präparaten eine Korrektur des Chromwertes und Verbesserung der Insulinresistenz laut Studien erwarten würde, gibt es häufig das Phänomen, dass trotz Nahrungsergänzung mit chromhaltigen Präparaten überhaupt keine Verbesserung feststellbar ist.

Trotz Nahrungsergänzung keine Verbesserung feststellbar:



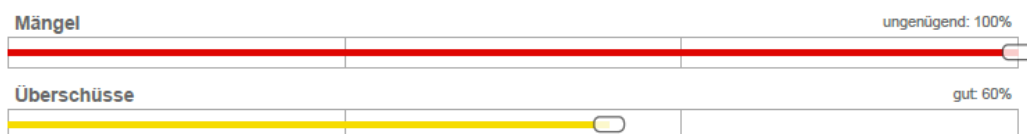
Name: XXXXX XXXXX

Date: 17/11/2016
 weiblich 56 Jahre
 Geb. am.: 04/02/1960
 Blutgruppe: O
 Gewicht: 102 Kg
 Größe: 1m 66

Mineralstoff - Bilanz

	Ergebnis	Norm	Niedrig-	Niedrig	Norm -	OK	Norm +	Hoch	Hoch +
Kalzium	515.4	279.0	598.0						
Magnesium	24.6	30.5	75.7						
Phosphor	129.0	144.0	199.0						
Silicium	9.5	15.0	31.0						
Natrium	51.1	21.0	89.0						
Kalium	12.4	9.0	39.0						
Kupfer	28.9	11.0	28.0						
Zink	164.0	125.0	155.0						
Eisen	6.7	5.0	15.0						
Mangan	0.45	0.31	0.75						
Chrom	0.37	0.82	1.25						
Vanadium	0.010	0.009	0.083						
Bor	2.96	0.84	2.87						
Cobalt	0.026	0.025	0.045						
Molybdän	0.035	0.035	0.085						
Jod	0.13	0.32	0.59						
Lithium	0.072	0.052	0.120						
Germanium	0.021	0.003	0.028						
Selen	0.83	0.95	1.77						
Schwefel	49.9	48.1	52.0						

Mineralisches Gleichgewicht





Name: XXXXX XXXXX

Date: 15/02/2017
weiblich 57 Jahre
Geb. am.: 04/02/1960
Blutgruppe: O
Gewicht: 102 Kg
Größe: 1m 66

Mineralstoff - Bilanz

		Ergebnis	Norm		Niedrig-	Niedrig	Norm -	OK	Norm +	Hoch	Hoch +
Kalzium	Ca	489.2	279.0	598.0							
Magnesium	Mg	38.5	30.5	75.7							
Phosphor	P	164.2	144.0	199.0							
Silicium	Si	13.0	15.0	31.0							
Natrium	Na	54.8	21.0	89.0							
Kalium	K	12.4	9.0	39.0							
Kupfer	Cu	27.6	11.0	28.0							
Zink	Zn	165.2	125.0	155.0							
Eisen	Fe	7.8	5.0	15.0							
Mangan	Mn	0.48	0.31	0.75							
Chrom	Cr	0.40	0.82	1.25							
Vanadium	V	0.010	0.009	0.083							
Bor	B	2.82	0.84	2.87							
Cobalt	Co	0.030	0.025	0.045							
Molybdän	Mo	0.034	0.035	0.085							
Jod	I	0.13	0.32	0.59							
Lithium	Li	0.081	0.052	0.120							
Germanium	Ge	0.021	0.003	0.028							
Selen	Se	0.90	0.95	1.77							
Schwefel	S	52.2	48.1	52.0							

Mineralisches Gleichgewicht





Name: XXXXX XXXXX

Date: 02/05/2017

weiblich 57 Jahre

Geb. am.: 04/02/1960

Blutgruppe: O

Gewicht: 101 Kg

Größe: 1m 88

Mineralstoff - Bilanz

	Ergebnis	Norm	Niedrig-	Niedrig	Norm -	OK	Norm +	Hoch	Hoch +
Kalzium	Ca	581.2	279.0	598.0					
Magnesium	Mg	28.9	30.5	75.7					
Phosphor	P	138.2	144.0	199.0					
Silicium	Si	14.8	15.0	31.0					
Natrium	Na	64.4	21.0	89.0					
Kalium	K	14.6	9.0	39.0					
Kupfer	Cu	32.2	11.0	28.0					
Zink	Zn	191.8	125.0	155.0					
Eisen	Fe	7.1	5.0	15.0					
Mangan	Mn	0.56	0.31	0.75					
Chrom	Cr	0.47	0.82	1.25					
Vanadium	V	0.011	0.009	0.083					
Bor	B	3.35	0.84	2.87					
Cobalt	Co	0.027	0.025	0.045					
Molybdän	Mo	0.040	0.035	0.085					
Jod	I	0.15	0.32	0.59					
Lithium	Li	0.074	0.052	0.120					
Germanium	Ge	0.025	0.003	0.028					
Selen	Se	0.92	0.95	1.77					
Schwefel	S	50.1	48.1	52.0					

Mineralisches Gleichgewicht



Auf Grund der Tatsache, dass Studien einen Zusammenhang zeigen zwischen Glutathionmangel und Diabetes Mellitus, entstand die Idee, dass man durch die Empfehlung um liposomales Glutathion einzunehmen, möglicherweise ein positives Effekt sehen könnte auf dieses Phänomen.

Pak J Med Sci. 2013 Jul;29(4):938-42.

The relationship between the level of glutathione, impairment of glucose metabolism and complications of diabetes mellitus.

Hakki Kalkan I¹, Suher M².

Author information

1

Ismail Hakki Kalkan, MD, Department of Gastroenterology, Kirikkale State Hospital, Kirikkale, Turkey.

2

Murat Suher, MD, Associate Professor, Department of Internal Medicine, Ataturk Training and Research Hospital, Ankara, Turkey.

Abstract

OBJECTIVE:

To investigate whether there is a difference between the subjects with new-onset type 2 diabetes mellitus (DM), impaired glucose tolerance (IGT) and normal fasting blood glucose levels with respect to the level of glutathione (GSH) and the relationship between the presence of complication of diabetes and the level of GSH.

METHODS:

Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) was performed in IFG patients, with no episode of drug use, who were admitted to hospital. According to the results of the application 30 subjects with type 2 DM, 30 subjects with IGT and 28 subjects with normal blood glucose level were included in the study. Anthropometric measurements and blood pressure values of all subjects were recorded. The biochemical parameters of subjects were studied in the biochemistry laboratory by utilizing Olympus AV-2700. The subjects with diabetic retinopathy and nephropathy were established subsequent to the examination of the retina and 24-hour urine collection test performed to subjects with diagnosis of DM. Levels of GSH in all subjects were measured by enzymatic recycling method.

RESULTS:

The mean levels of GSH in subjects with DM were significantly reduced compared with IGT or normal subjects (respectively $p=0.02$ and $p<0.001$). Besides, lower levels of GSH were acquired in subjects with IGT compared to normal subjects ($p<0.001$). The mean levels of GSH in subjects with diabetic retinopathy were lower than the subjects with no established diagnosis of diabetic retinopathy ($p<0.001$). Similarly, lower levels of GSH ($p<0.001$) were obtained in microalbuminuric subjects than normoalbuminuric subjects.

CONCLUSIONS:

At the end of the study, we came to the conclusion that GSH deficiency was of great significance in the pathogenesis of Diabetes Mellitus.

KEYWORDS:

Complications; Diabetes mellitus; Glutathion

PMID:

24353663

PMCID:

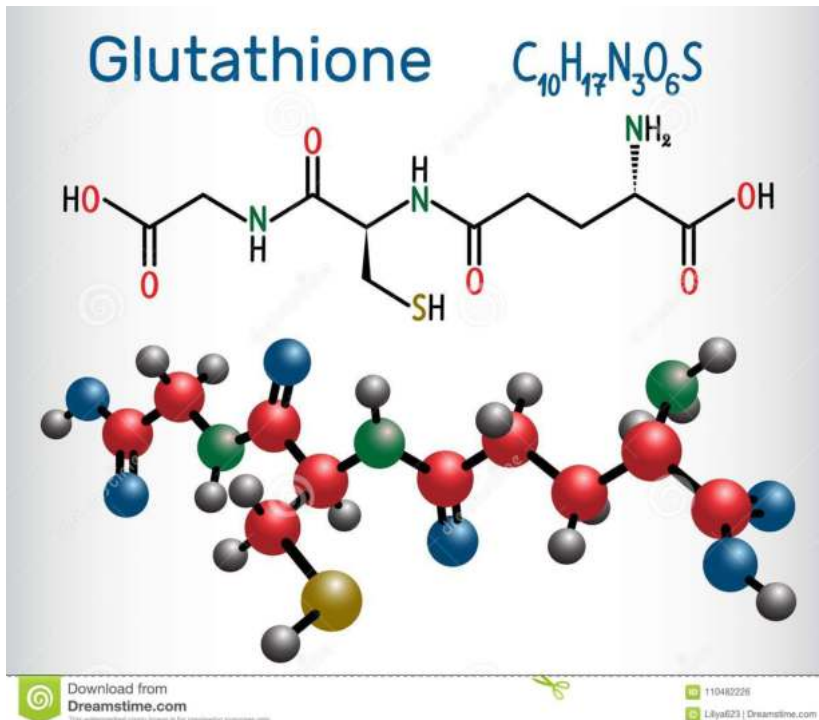
[PMC3817774](#)

DOI:

[10.12669/pjms.294.2859](#)

Warum liposomales Glutathion gegenüber nicht liposomales Glutathion in reduzierter Form, in Bezug zur Bioverfügbarkeit auf Zellebene Vorteile hat, lässt

sich erklären auf Grund der Tatsache, dass Glutathion wegen der Molekularstruktur kaum durch die Zellmembrane transportiert werden kann.



Der positive Effekt von liposomales Glutathion wurde mehrfach bewiesen in Studien:

[Eur J Clin Nutr.](#) 2018 Jan;72(1):105-111. doi: 10.1038/ejcn.2017.132. Epub 2017 Aug 30.

Oral supplementation with liposomal glutathione elevates body stores of glutathione and markers of immune function.

[Sinha R¹](#), [Sinha I¹](#), [Calcagnotto A²](#), [Trushin N²](#), [Haley JS³](#), [Schell TD³](#), [Ritchie JP Jr²](#).

Author information

Abstract

BACKGROUND/OBJECTIVES:

Glutathione (GSH) is the most abundant endogenous antioxidant and a critical regulator of oxidative stress. Maintenance of optimal tissues for GSH levels may be an important strategy for the prevention of oxidative stress-related diseases. We investigated if oral administration of liposomal GSH is effective at enhancing GSH levels in vivo.

SUBJECTS/METHODS:

A 1-month pilot clinical study of oral liposomal GSH administration at two doses (500 and 1000 mg of GSH per day) was conducted in healthy adults. GSH levels in whole blood, erythrocytes, plasma and peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were assessed in 12 subjects at the baseline and after 1, 2 and 4 weeks of GSH administration.

RESULTS:

GSH levels were elevated after 1 week with maximum increases of 40% in whole blood, 25% in erythrocytes, 28% in plasma and 100% in PBMCs occurring after 2 weeks ($P < 0.05$). GSH

increases were accompanied by reductions in oxidative stress biomarkers, including decreases of 35% in plasma 8-isoprostane and 20% in oxidized:reduced GSH ratios ($P<0.05$). Enhancements in immune function markers were observed with liposomal GSH administration including Natural killer (NK) cell cytotoxicity, which was elevated by up to 400% by 2 weeks ($P<0.05$), and lymphocyte proliferation, which was elevated by up to 60% after 2 weeks ($P<0.05$). Overall, there were no differences observed between dose groups, but statistical power was limited due to the small sample size in this study.

CONCLUSIONS:

Collectively, these preliminary findings support the effectiveness of daily liposomal GSH administration at elevating stores of GSH and impacting the immune function and levels of oxidative stress.

PMID:

28853742

PMCID:

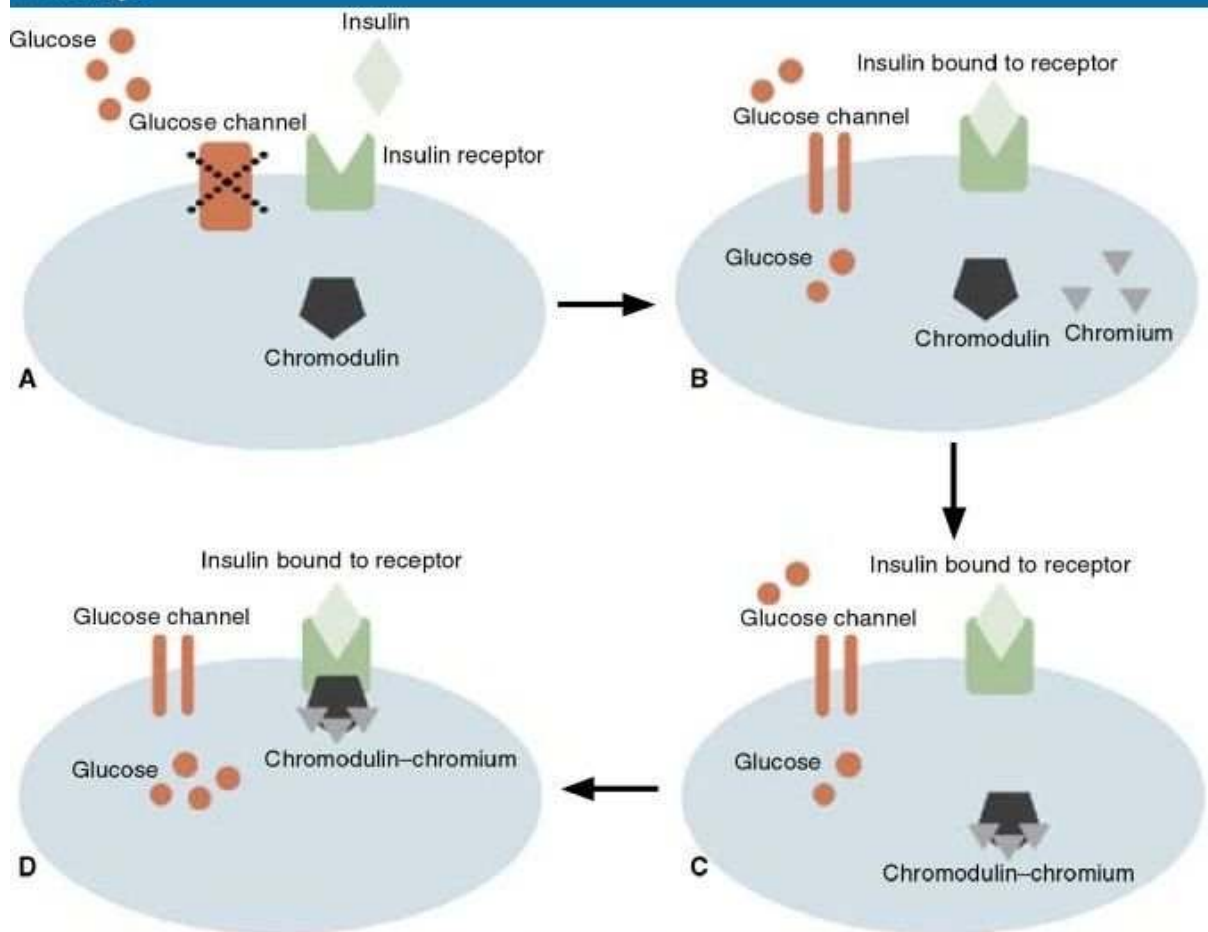
[PMC6389332](#)

DOI:

[10.1038/ejcn.2017.132](#)

Was hat Insulinresistenz, Chrom mit Glutathion zu tun?

Mehrere Studien zeigen, dass Chromodulin (https://en.wikipedia.org/wiki/Low-molecular-weight_chromium-binding_substance) einen direkten Einfluss hat auf die Bindung des Insulins am Insulinrezeptor:



Source: Am J Health-Syst Pharm © 2010 American Society of Health-System Pharmacists

Proc Nutr Soc. 2004 Feb;63(1):41-7.

Recent advances in the nutritional biochemistry of trivalent chromium.

Vincent JB¹.

Author information

Abstract

The nutritional biochemistry of trivalent Cr has been a poorly understood field of study; investigations of the biochemistry of the other essential transition metals have not proven as problematic. Despite over four decades of endeavour, only recently has a picture of the role of Cr potentially started to be defined. The biologically-relevant form is the trivalent ion. Cr³⁺ appears to be required for proper carbohydrate and lipid metabolism in mammals, although fortunately Cr deficiency is difficult to achieve. Conditions that increase circulating glucose and insulin concentrations increase urinary Cr output. Cr is probably excreted in the form of the oligopeptide chromodulin. Chromodulin may be the key to understanding the role of Cr at a molecular level, as the molecule has been found to bind to activated insulin receptor, stimulating its kinase activity. A mechanism for the action of chromodulin has recently been proposed; this mechanism can serve as a potential framework for further studies to test the role of Cr in metabolism. An examination of

the nutritional supplement chromium picolinate illustrates some of the difficulties associated with these biochemical studies.

PMID:

15070438

DOI:

[10.1079/PNS2003315](https://doi.org/10.1079/PNS2003315)

Da Chromodulin (aufgebaut aus Aspartat, Cystein, Glycin und Glutamin) und Glutathion (Glycin, Cystein und Glutamin) eine sehr ähnliche molekulare Struktur haben, kann man feststellen, dass bei einer Auslaugung der Glutathion Vorräte (Sulfokonjugation) durch beispielsweise einen erhöhten oxidativer Stress oder Toxinbelastung, möglicherweise Konkurrenzaktivität für diese Aminosäuren entsteht.

Dies ist vermutlich ein weiterer Verteidigungsmechanismus gegen intrazelluläre Glutathion-Mängel.

Dass es einen Zusammenhang zwischen der Entwicklung von chronischen Erkrankungen und einer starken Verschiebung der Konzentration an oxidiertem Glutathion zu dem Nachteil vom reduzierten Glutathion gibt, wurde bereits beschrieben:

J Lab Clin Med. 2000 May;135(5):402-5.

Blood glutathione decreases in chronic diseases.

Lang CA¹, Mills BJ, Mastropaolo W, Liu MC.

Author information

Abstract

Previously a high blood glutathione level was correlated with long life span in the mouse and rat and in healthy elderly human beings. This raised the question of whether low glutathione levels occur in unhealthy subjects. To this end, 74 consecutive patients newly admitted to the hospital, with ages ranging from 21 to 89 years and diagnosed with chronic diseases, were studied along with 32 healthy control subjects. Blood samples were analyzed for reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione with a high-performance liquid chromatography-dual electrochemical method. The data were integrated with the clinical diagnoses and statistically analyzed. Marked total glutathione decreases from the control levels occurred in over 36% of the patients with chronic diseases including cancer and genitourinary, gastrointestinal, cardiovascular, and musculoskeletal diseases ($P < .001$). The deficit was due to low GSH concentrations and not to GSSG, which was the same as that in the control subjects. The conclusion is that a decrease in GSH is a risk factor for chronic diseases that may be used to monitor the severity and progress of the diseases. Future work is necessary to elucidate the mechanism of action.

PMID:

10811055

DOI:

[10.1067/mlc.2000.105977](https://doi.org/10.1067/mlc.2000.105977)

Fehlen die Ressourcen der Zelle, um Glutathion zu reduzieren oder neu zu synthetisieren, wird möglicherweise Chromodulin «geopfert» um aus eine Umstrukturierung von Chromodulin, Glutathion zu synthetisieren. Dies könnte eine Erklärungsmechanismus sein, weshalb bei einige Fälle eine reine Zufuhr von Chrom keine Verbesserung des Messresultates ergibt.

Eine Kombination von ketogene Nahrung, ein Chrompräparat und liposomales Glutathion, führt nach einigen Monaten zu einer markanten Korrektur wie diese beiden Messungen zeigen:



Name: [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]

Date: 14/07/2017
weiblich 69 Jahre
Geb.datum: 12/01/1948
Blutgruppe: O
Gewicht: 98 Kg
Größe: 1m 71

Mineralstoff - Bilanz

	Ergebnis	Norm	Niedrig-	Niedrig	Norm -	OK	Norm +	Hoch	Hoch +
Kalzium (Ca)	597.9	279.0	598.0						
Magnesium (Mg)	33.6	30.5	75.7						
Phosphor (P)	124.9	144.0	199.0						
Silicium (Si)	8.7	15.0	31.0						
Natrium (Na)	46.0	21.0	89.0						
Kalium (K)	12.0	9.0	39.0						
Kupfer (Cu)	29.4	11.0	28.0						
Zink (Zn)	156.1	125.0	155.0						
Eisen (Fe)	5.9	5.0	15.0						
Mangan (Mn)	0.39	0.31	0.75						
Chrom (Cr)	0.32	0.82	1.25						
Vanadium (V)	0.011	0.009	0.083						
Bor (B)	3.30	0.84	2.87						
Cobalt (Co)	0.024	0.025	0.045						
Molybdän (Mo)	0.039	0.035	0.085						
Jod (I)	0.12	0.32	0.59						
Lithium (Li)	0.073	0.052	0.120						
Germanium (Ge)	0.021	0.003	0.028						
Selen (Se)	0.66	0.95	1.77						
Schwefel (S)	51.2	48.1	52.0						

Mineralisches Gleichgewicht





██████████
██████████
██████████

Name: ██████████
██████████
██████████
██████████

Date: 29/11/2017
weiblich 89 Jahre
Geb.datum: 12/01/1948
Blutgruppe: O
Gewicht: 89 Kg
Größe: 1m 71

Mineralstoff - Bilanz

	Ergebnis	Norm	Niedrig-	Niedrig	Norm -	OK	Norm +	Hoch	Hoch +
Kalzium (Ca)	547.5	279.0	598.0						
Magnesium (Mg)	31.4	30.5	75.7						
Phosphor (P)	137.5	144.0	199.0						
Silicium (Si)	12.2	15.0	31.0						
Natrium (Na)	50.3	21.0	89.0						
Kalium (K)	12.3	9.0	39.0						
Kupfer (Cu)	25.5	11.0	28.0						
Zink (Zn)	144.4	125.0	155.0						
Eisen (Fe)	6.5	5.0	15.0						
Mangan (Mn)	0.38	0.31	0.75						
Chrom (Cr)	0.76	0.82	1.25						
Vanadium (V)	0.022	0.009	0.083						
Bor (B)	2.27	0.84	2.87						
Cobalt (Co)	0.027	0.025	0.045						
Molybdän (Mo)	0.037	0.035	0.085						
Jod (I)	0.13	0.32	0.59						
Lithium (Li)	0.074	0.052	0.120						
Germanium (Ge)	0.021	0.003	0.028						
Selen (Se)	0.77	0.95	1.77						
Schwefel (S)	51.2	48.1	52.0						

Mineralisches Gleichgewicht



4.3.4 Zusammenhang zwischen HPU und typischem Mikronährstoffmangel

Laut Kritikern sei weder die Existenz dieser Krankheit selbst noch die Wirksamkeit von dagegen gerichteten Therapien bislang nicht nachgewiesen worden. Dies beruht u.a. auf Grund der Tatsache, dass die durch diese Krankheit ausgelöste typische Nährstoffmängeln wie u.a. Zink und B6 bei Blutanalysen nicht nachvollziehbar sind. Es ist jedoch ein bekanntes Phänomen, dass das Blut, als wichtigste Transportsystem des Körpers, zwecks Stabilisierung der Homöostase, in der Lage ist Nährstoffkonzentrationen stabil zu halten indem Mineralien und Spurenelemente aus Gewebstrukturen wie beispielsweise Haut, Knochen und Muskeln entzogen werden können und dort typische Nährstoffmangelsymptome auslösen können obwohl sie im Vollblut nicht detektierbar sind. Viele Hauterkrankungen, Haarausfall, Wundheilungsstörungen wie auch Osteoporose sind solche typischen Symptome wovon man die Ursächlichkeit vielfach nicht auf Ebene des Blutes findet.

Nimmt man hingegen bei solchen klinischen Fällen spektralphotometrische Messungen vor, sind sehr wohl an der Krankheit relatierte Nährstoffmängeln ersichtlich.

Allein auf Grund der fehlende Nachweis im Blut Krankheiten als erfunden bezeichnen obwohl viele Patienten, die auf Basis dieser Erkenntnisse enorm profitieren konnten, ist schlichtweg falsch. Seit zehn Jahren erforscht das Klinisch Ökologische Allergiezentrum (KEAC) unter Leitung von Dr. rer. nat. John Kamsteeg in Weert (Niederlande) diese Stoffwechselerkrankung mit vielen symptomatischen Gesichtern. Die Hämopyrrollaktamurie (HPU), einst zu Unrecht Kryptopyrrolurie genannt, gehört zu den angeborenen Porphyrinopathien, Störungen des Porphyrinstoffwechsels.

Mittlerweile wird die diagnostische Methode zur Bestimmung dieser Stoffwechselkrankheit praktisch in alle Labore angeboten und die Übereinstimmung mit der in der Literatur beschriebene typische Symptome und dem Laborbefund ist beträchtlich. Auch die Erfolgsquote der eingestellten Behandlung, welche eigentlich nur beruht auf eine Ergänzung der Krankheit bezogene mangelhaften Nährstoffe, ist erfahrungsgemäss sehr hoch. Dies zeigt sich aus der wachsenden Zahl der durchgeführte Labortests und zunehmende Bekanntheitsgrad bei den nach Ursache suchende Therapeuten und Ärzte. Typischerweise können auch viele Patienten nachdem sie auf Grund der Diagnose einen strategische Behandlungswechsel vornehmen, viele ihrer Medikamente weglassen. Die Frage lautet deshalb ob das Verleugnen des Zusammenhangs zwischen diesen zahlreiche Krankheitssymptome und eine sehr einfache und kostengünstige zu behandelnder Kausalität, möglicherweise durch andere Interessen gesteuert wird.

Gemäss Kamsteeg ist HPU eine Erscheinungsform der Krankheit Porphyrinurie (Toxic Induced Porphyrinuria). Hierbei werden Pyrrole und Porphyrine im Urin ausgeschieden. Eine dieser Pyrrole ist das HPL (Hydroxy-Hämopyrrollaktam). Dieser Stoff wird an Zink oder Mangan gebunden sowie von Pyridoxal-5-Phosphat abgeleiteten Substanzen, wie z.B. Pyridoxinsäure. Es ist eine erbliche Variante, die aus einer Störung in der Hämsynthese hervorgeht und über eine nicht-enzymatische Ringschliessung von Methylhydroxybilan zur Bildung von Coproporphyrinogen I führt. Bei der erworbenen Form wird aus Archidonsäure (Iso-)Levuglandin gebildet. Diese Stoffe verbinden sich mit Membranen und bilden so Gewebeaddukte. Dieser Vorgang ist der Auslöser für eine Anzahl von Autoimmunerkrankungen, oft schon in sehr jungem Alter. Die am Häufigsten auftretende Autoimmunreaktion ist die Produktion von Antikörpern gegen die Schilddrüse. Der TSH sollte bei HPU immer niedriger als 2 IU/ml sein; bei einen Wert niedriger als 1 redet man von einer verringerten Fruchtbarkeit. Bei einem Wert grösser als 2.5 ist eine Untersuchung auf Antikörper gegen die Schilddrüse (TPO-AK und TAK) sinnvoll. Zumeist werden im Blut bei einem typischen Hypothyreosebild normale FT3 und FT4 Werte gefunden.

Die Produktion von T3 und T4 in einem 24-Stunden-Urin ist ansonsten wohl oft abweichend. Gewebeaddukte werden umgewandelt in Hydroxylaktam, das

die Häm-synthese hemmt. Dieses gebildete Hydroxylaktam kann an Pyridoxal-5-Phosphat-Derivate und Zink (oder bei einem Zinkdefizit Mangan oder Eisen) gebunden werden und mit dem Urin ausgeschieden werden. Neben HPL findet man Isoprostan im Urin. In der Häm-synthese findet die so genannte spontane nicht-enzymatische Umsetzung von Hydroxymethylhydroxybilan in Coproporphyrinogen I (auf Kosten der enzymatischen Bildung von Coproporphyrinogen III) in erhöhtem Maße statt. Dies ist ein Anlass zur weiteren HPL-Bildung.

Die Aufnahme von Fruktose (Fruchtzucker) im Darm ist durch die Wirkung des Schilddrüsenhormons und der Glukose auf den GLUT5-Transporter in der Darmwand herabgesetzt. Gleichzeitig ist die Umsetzung der aufgenommenen Fruktose in der Leber verzögert. Ein erhöhtes Fruktose-1-Phosphat kann nachgewiesen werden. In manchen Fällen ist die Folsäure, Zink und

das Eisen dadurch herabgesetzt, ebenso die Aufnahme des Tryptophans. Die im Darm stattfindende Umwandlung der Fruktose in Säuren verursacht viel Gasbildung, Blähungen und eine Reizung der Darmwand. Sekundäre allergische Reaktionen und die Produktion von Antikörpern gegen Gluten (keine Zöliakie), Kasein und das Rinderserum Albumin sind die Folge. Diese Reaktionen, die hauptsächlich bei primären Nahrungsmitteln vorkommen, erschöpfen das Immunsystem und setzen die Funktion der Nebenniere herab.

Eine herabgesetzte Nebennierenfunktion, Nebennierenschwäche sind an vermehrtem Wasserlassen, niedrigem Blutdruck und ernsthafter Erschöpfung erkennbar.

Die Reaktion auf Fruktose stört den Blutzuckerspiegel, wodurch ein stark wechselnder Blutzuckerspiegel auftritt.

Diese Störungen sind in 40% der Fälle allein durch die Behebung der – auf Grund der Ausscheidung von HPL entstandenen – Mangelerscheinungen zu korrigieren.

Da die Mängel so erheblich sind, dass sie mit der Ernährung nicht aufzufangen sind, kann die Basisbehandlung mit speziellen Präparaten, die es neben dem

Basispräparat auch für Kinder und empfindliche Personen mit erheblichen Muskel- oder Beckenbeschwerden oder Migräne gibt, durchgeführt werden. In anderen Fällen sollte eine Blutuntersuchung hinsichtlich der Erkrankungen wie TSH und IgA-Totalgluten und eine Fruktosamin-Bestimmung sowie eine Vollblut-Histamin-Bestimmung durchgeführt werden.

Die Behandlung besteht in der Regel aus der Gabe dieser Spezialpräparate für mindestens 4 Monate. Die ersten drei Wochen sollte die Gabe einer Kapsel jeden zweiten Tag, danach jeden Tag erfolgen. Durch ergänzende

Blutuntersuchungen kann bei Menschen mit unklaren Gesundheits-beschwerden mehr Klarheit über den Status der Erkrankung erzielt werden, wodurch eine genauere und schnellere Behandlung eingeleitet werden kann. Typische Symptome von Menschen mit HPU, die deren Belastbarkeit beeinflussen, sind eine Hypermobilität der Gelenke, Beckeninstabilität, vorangegangene traumatische Verletzungen (Schleudertrauma), Konzentrationsschwächen, Licht-, Geräusch und Schmerzüberempfindlichkeiten.

Der Mangel an Vitamin B6, Pyridoxin erzeugt eine Anämie vom hypochromen Typ mit hohem Serums-Eisen, erythroblastische Hyperplasie des Knochenmarks.

Durch die gestörte Zink- und Eisenaufnahme aus dem Darm findet man hier oft einen niedrigen Eisen- und Ferritinwert. Aus anderen Patientengruppen meldet man allgemeine Siderose. Als Siderosen bezeichnet man Erkrankungen, bei denen Salze des Eisens im Organismus abgelagert werden (Eisenspeicherkrankheiten). Der Eisengehalt des Körpers kann bei Siderosen bis zum Zehnfachen des Normwertes ansteigen. Sekundäre Siderosen kommen nach chronischer Zufuhr überhöhter Eisenmengen vor, beispielsweise bei chronischer Überdosierung oraler Eisenpräparate oder nach jahrelanger Transfusionsbehandlung von hämolytischen Anämien und bei Patienten mit alkoholtoxischen Leberschäden. Bemerkenswert ist das nur bei einigen HPU-Patienten der Eisenwert ansteigt. Bei den meisten Patienten ist er innerhalb des Referenzwertes oder sogar niedriger. Bei diesen Patienten

wurden kein Fruktose-Intoleranz nachgewiesen. Dieser Anämietyp entspricht also nicht in allen Symptomen dem Typ einer reiner sideroachrestischen Anämie. Bekannt ist, dass ein Teil der Menschen mit dieser Form von Anämie sehr gut auf die Gabe von Vitamin B6 reagieren. Innerhalb der Pyrrolurie ist bekannt, dass sich 40% der Patienten ohne weitere Hilfe auf die Basistherapie verbessert. Weitere 40% verbessern sich, wenn begleitende Krankheiten wie z.B. Hashimoto, Allergie behandelt wurden. Die Verbesserung findet normal erst ab vier Monaten statt, aber es gibt Patienten, die sehr schnell auf die Gabe von mangelhaften Nährstoffen reagieren und ein chronisches Krankheitsbild, manchmal mit gravierenden psychischen Symptomen, in einigen Wochen hinter sich lassen.

Im Gegensatz zu anderen angeborenen Stoffwechselstörungen zeigen sich Porphyrinen oft erst im Erwachsenenalter. Das Krankheitsbild kann stressinduziert sein. Dabei geht es aber nicht nur um psychischen, sondern auch um physischen Stress wie grippale Infekte, Verbrennungen und Darminfektionen. Durch Bleivergiftungen kam es, gemäss Dr. Kamsteeg, in der Vergangenheit auch zu erworbenen beziehungsweise symptomatischen Porphyrinen.

Früher ließen Messungen von Porphyrinen im Urin vermuten, dass Porphyrinen mit einer Prävalenz von 1:10.000 sehr seltene Krankheiten sind. Die Mayo-Kliniken haben sich auf diese Krankheiten spezialisiert und neue, sehr empfindliche Blutzell-Porphyrin-Enzymtests eingeführt. Porphyrinen kommen

aber offensichtlich mit einer Prävalenz von 1:20, bei Frauen sogar 1:10, sehr häufig vor. Entgegen der klassischen Auffassung verlaufen Porphyrinen eher mild und chronisch.

Porphyrien treten bei Enzymstörungen im Zuge der Häm-Synthese auf. Bei anderen angeborenen Porphyrinen unterliegt meist nur ein beteiligtes Enzym einer Funktionsstörung, bei der HPU sind es dagegen vier von acht. Die blockierte Hämsynthese stört zahlreiche biochemische Prozesse, an denen das Häm beteiligt ist: das Sauerstofftransportsystem des Hämoglobins und Myoglobins sowie das Cytochrom-P450 Enzymsystem, das zu Entgiftungsreaktionen in der Leber genutzt wird. Ist der Stoffwechselfad für die Hämsynthese blockiert, reichern sich nicht metabolisierte Porphyrine in bestimmten Organen an. Dort können sie toxisch wirken – Symptome des zentralen, peripheren oder vegetativen Nervensystems und der Haut sind die Folge.

Stress, porphyrinogene Medikamente, Chemikalien, Licht, Infektionen

und vor allem Lebererkrankungen können den Übergang vom latenten ins manifeste Stadium auslösen. Das defizitäre Enzymsystem scheint dann endgültig überfordert zu sein. Der Schweregrad der Störung kann

sehr variieren. Bei akuten Anfällen können Porphyrinen durch die Anreicherung von Porphyrinen oder deren Vorstufen – vor allem Delta-Aminolävulinsäure (Delta-ALA) und Porphobilinogen (PBG) – im Blut, Stuhl oder Urin oder durch die veränderte Enzymaktivität im Porphyrinstoffwechsel nachgewiesen werden.

Bei HPU-Patienten häufig Histaminspiegel herabgesetzt

Das KEAC hat anhand eines Fragebogens 5.500 Frauen untersucht und deren HPL-Konzentration im Urin bestimmt. Bei der überwiegenden Zahl der HPU-Patienten ist gleichzeitig eine Glutenüberempfindlichkeit zu beobachten, die nicht zu verwechseln ist mit Zöliakie, der angeborenen Glutenüberempfindlichkeit. Bislang sind jedoch wenige Erkenntnisse über einen eventuell untergeordneten Mechanismus gesichert. In Anbetracht potenzieller Zusammenhänge erweist sich neben dem HPU-Test auch ein

Glutenüberempfindlichkeitstest als sinnvoll. Dieser Test sollte ein relatives IgA-Defizit anzeigen und das IgA-Totalgluten – Proteine aus Weizen, Roggen, Gerste und Hafer – messen. Manche Patienten reagieren auch überempfindlich gegenüber Kasein oder Sojaprotein.

Der Kupferüberschuss (gemessen im Vollblut) im Körper von HPU-Patienten können gemäss Dr. Kamsteeg einen herabgesetzten Histaminspiegel verursachen. Das Kupfer aktiviert Enzyme (MAO, DAO), die Histamine

abbauen. Die negative Korrelation zwischen Vollblutmessungen zeigt sich auch hier, denn bei 13 von 16 gemessene Patienten zeigen bei der spektralphotometrischen Messung einen Kupfermangel (mögliche Verschiebung der Kupfer-Gewebkonzentrationen in Richtung Blut)

Durch andere Mechanismen kann der Histaminspiegel jedoch auch erhöht oder durch Kompensierung ganz normal sein. Da viele der Symptome kausal mit dem herabgesetzten Histamingehalt zusammenhängen, ist die Bestimmung sinnvoll. Die Beschwerden eines Histaminmangels äußern sich unter anderem in Müdigkeit, Allergien, Migräne, Durchblutungsstörungen und Depressionen.

Hormonelle Störungen nicht selten

Viele HPU-Patienten haben zudem einen instabilen Blutzuckerspiegel: Besonders Kinder und junge Menschen leiden häufig unter reaktiver Hypoglykämie. Bei Frauen ab 30 Jahren kann es schon zu Glukoseintoleranz

oder Prädiabetes kommen. Die Ursache dafür ist häufig eine Herabsetzung des TSH – ein Hormon, das die Hypophyse sezerniert. Durch das meist schon in frühen Jahren reduzierte TSH kann der Serumgastrin-Spiegel fallen.

Ebenso kann der niedrige TSH-Spiegel (< 2,0 mU/L) Funktionsstörungen der Schilddrüse oder Nebennieren verursachen.

Eine Nebennierenunterfunktion kann schließlich zu chronischen Infektionen, rheumatischer Arthritis, Beschwerden der oberen Luftwege, Kreislaufinstabilität und Hypoglykämie führen.

Mittels einer Laboruntersuchung kann HPL im Urin angezeigt werden. Hierfür reichen zehn Milliliter Urin, wobei ein Konservierungsmittel zugefügt werden muss. Ein Patient mit erhöhtem HPL-Wert (> 1,0 nmol/l) im Urin wird täglich

2 g Vitamin B6 brauchen, um dessen Konzentration zu normalisieren. Pyridoxal-5'-Phosphat ist aber viel effektiver. Bei einer Behandlung mit Nahrungsergänzungsmitteln, die Pyridoxal-5'-Phosphat, Zink und gegebenenfalls auch Mangan enthalten, sind schizophrenartige Symptome ausgeblieben. Der Zustand der Patienten verbesserte sich meist innerhalb weniger Wochen, der Atem roch nicht mehr nach Aldehyden. War auch der Histaminspiegel herabgesetzt, dauerte die Wiederherstellung jedoch erheblich länger – eine vollständige Gesundung kann viele Monate in Anspruch nehmen. Beendet der Patient die Einnahme, können das biochemische Ungleichgewicht und die Symptome innerhalb von ein bis zwei Wochen zurückkehren.

Da Vitamin B6 entscheidend an der Serotonin-Synthese mitbeteiligt ist, ist ein Erklärungsmodell für die hohe Prävalenz von Depressivität bei HPU-Betroffenen.

Literatur

[1] Heilmeyer, L. In-vitro-Testung B6-sensibeler Anämien. Blut 16(1967), 1.

[2] Kamsteeg, J. HPU und dann...? Beschwerden und Erkrankungen infolge von „Pyrrolurie“. KEAC-Weert, 2005, 195.

[3] Kamsteeg, J. HPU - Eine angeborene Porphyrinopathie. Zeitschrift für Umweltmedizin 10 (2002), 134.

[4] McGinnis, W. Urinary pyrrole (Mauve Factor): Metric for oxidative stress in behavioral disorders. The Linus Pauling Institute Annual Meeting in Portland, Oregon 21-24 mai 2003.

[5] Hart, GJ, Leeper F.J und Battersby AR. Modification of Hydroxymethylbilane synthase (Porphobilinogen deaminase) by pyridoxal-5'-phosphate. Demonstration of an essential lysine residue.

Bei einer Studie mit 16 diagnostizierte HPU-Fälle wurde eine Kombination von folgenden Symptomen festgestellt:

- **Hirn / Nervensystem / Psyche** mit u.a. Kopfschmerzen, Migräne, Schlaflosigkeit, chronischer Erschöpfung, fehlender Stresstoleranz, psychischen Problemen und Konzentrationsschwächen, teilweise starke Depressionen
- **Immunsystem** mit u.a. Infektanfälligkeit, chronischen Infektionen, Allergien, Fruktose- und Histaminintoleranz
- **Hormonsystem** verminderter Fruchtbarkeit, Morbus Basedow und Hashimoto, Menstruationsbeschwerden, Schilddrüsenfehlfunktionen
- **Verdauungsorgane** mit u.a. Unterzuckerungssymptomen, "Morgenübelkeit", Reizdarmsyndrom, Oberbauchschmerzen, diversen Nahrungsmittelnunverträglichkeiten, Enzymopathien
- **Haut, Haare, Nägel, Zähne** Hautproblemen und -erkrankungen verschiedenster Art, Haarausfall, weißen Flecken oder Querstreifen auf den Nägeln, schlechtem Zahnschmelz
- **Bewegungsapparat** mit u.a. Rücken- und Gelenkschmerzen, Überbeweglichkeit von Gelenken, Muskelkrämpfen, chronische Entzündungen der Gelenke

Die Schweregrad der HPU-Erkrankung wird gemäss KEAC wie folgt eingestuft. Für die statistische Auswertung wurde eine Skore von 0 bis 5 zugeteilt.

Interpretation des HPU-Testes			Skore
<0.60	µMol/24 Stunden	HPU nicht vorhanden	0
0.60 - 0.85	µMol/24 Stunden	HPU schwach, zweifelhaft	1
0.85-1.40	µMol/24 Stunden	HPU vorhanden, leicht positiv	2
1.40-3.50	µMol/24 Stunden	HPU positiv	3
3.50-5.60	µMol/24 Stunden	HPU stark positiv	4
>5.60	µMol/24 Stunden	HPU sehr stark positiv	5

Im Folgenden werden einige Korrelationsbeispiele aus SO-Check- und dazugehöriger HPU-Labormessung vorgestellt:

		weiblich	Blutgruppe A
		55 Jahre	53 Kg
		Geb.datum 26/03/1963	1m 65
Datum: 04/09/2018 11:15			

MINERALSTOFF - BILANZ



HPU-test®

Patient:	K. U.	
	C.	
	C.	
	S.	
Geburtsdatum:	26-3-1963	
Nummer:	563971	
Referentie nr.:		

Datum 27-4-2018

	Wert	Referenzwert
Hemopyrrolactam Komplex	1,015	< 1 µMol/L
Volumen 24 Std. Urin	1700	1100 - 2100 ml
Total ausgeschiedene Menge HPL	1,73	µMol/24 Std. (siehe Tabelle)

[Redacted]

[Redacted]

weiblich
57 Jahre
Geb.datum 08/02/1959

Blutgruppe A
58 Kg
Im 65

Datum: 28/12/2016 11:22

MINERALSTOFF - BILANZ



Klinisch Ecologisch Allergie Centrum
P. Dorstraat 4a, 6486 HZ Kerkrade
Nederland
Tel. (31)45-5436248 Fax (31)45-5436243
Email: info@keac.nl www.keac.nl/de

HPU-test®

Patient:	St. [Redacted] G. [Redacted]	
Geburtsdatum:	02-1959	
Nummer:	547548	
Referentie nr.:	[Redacted]	
Datum:	1-4-2016	
	Wert	Referenzwert
Hemopyroglactam Komplex	1,44	< 1 µMol/L
Volumen 24 Std. Urin	1700	1100 - 2100 ml
Total ausgeschiedene Menge HPL	2,45	µMol/24 Std. (siehe Tabelle)

[Redacted]

[Redacted]

weiblich
37 Jahre
Geb.datum 10/06/1981
Blutgruppe B
57 Kg
1m 68

Datum: 19/09/2018 08:47

MINERALSTOFF - BILANZ



Tel. (31)45-5439248 Fax (31)45-5439243
Email: info@keac.nl www.keac.nl/de

HPU-test®

Patient: [Redacted] H [Redacted] in
[Redacted] Schweiz
Geburtsdatum: 11-6-1981
Nummer: 567821
Referentie nr.:

Datum	Wert	Referenzwert
5-10-2018	0,99	< 1 µMol/L
	2000	1100 - 2100 ml
	1,98	µMol/24 Std. (siehe Tabelle)

[Redacted]

[Redacted]

weiblich Blutgruppe A
 34 Jahre 56 Kg
 Geb.datum 27/08/1982 1m 65

Datum: 15/09/2016 15:43

MINERALSTOFF - BILANZ



Klinisch Ecologisch Allergie Centrum
 P. Dorstraat 4a, 6466 HZ Kerkrade
 Nederland

Tel. (31)45-5439248 Fax (31)45-5439243
 Email: info@keac.nl www.keac.nl/de

HPU-test®

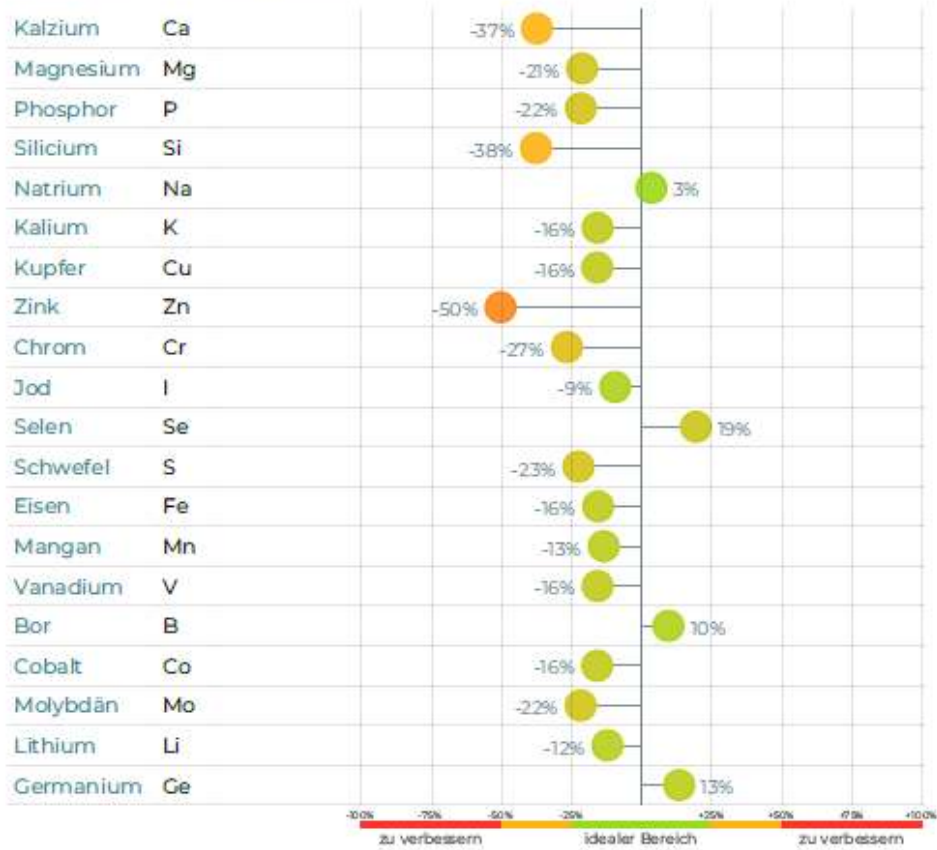
Patient:	P. [Redacted], C. [Redacted]	P. [Redacted], C. [Redacted]
	A. [Redacted]	A. [Redacted]
	C. [Redacted] ar	C. [Redacted]
	S. [Redacted]	S. [Redacted]
Geburtsdatum:	27-8-1982	
Nummer:	548625	
Referentie nr.:		
Datum	20-5-2016	
	Wert	Referenzwert
Hemopyrrolactam Komplex	1,38	< 1 µMol/L
Volumen 24 Std. Urin	1400	1100 - 2100 ml
Total ausgeschiedene Menge HPL	1,93	µMol/24 Std. (siehe Tabelle)

[Redacted]

[Redacted]

weiblich
59 Jahre
Geb.datum 10/03/1959
Blutgruppe A
64 Kg
1m 69
Datum: 25/10/2018 15:11

MINERALSTOFF - BILANZ



Tel. (31)45-5439248 Fax (31)45-5439243
Email: info@keac.nl www.keac.nl/de

HPU-test®

Patient: K. Ma. - Th. [Redacted]
 In [Redacted] 3
 C [Redacted] n
 S [Redacted]
 H K O S [Redacted] rin

Geburtsdatum: 10-3-1959
 Nummer: 563811
 Referentie nr.:

Datum	13-4-2018	
	Wert	Referenzwert
Hemopyrrolactam Komplex	0,98	< 1 µMol/L
Volumen 24 Std. Urin	4000	1100 - 2100 ml
Total ausgeschiedene Menge HPL	3,92	µMol/24 Std. (siehe Tabelle)



weiblich Blutgruppe B
 50 Jahre 71 Kg
 Geb.datum 08/03/1967 1m 80

Datum: 10/07/2017 15:41

MINERALSTOFF - BILANZ



Klinisch Ecologisch Allergie Centrum
 P. Dorrstraat 4a, 6466 HZ Kerkrade
 Nederland

Tel. (31)45-5439248 Fax (31)45-5439243
 Email: info@keac.nl www.keac.nl/de

HPU-test®

Patient: Lir [redacted], Ma [redacted]
 M [redacted]
 D- [redacted] tätt
 De [redacted]
 Geburtstag: 8-3-1967
 Nummer: 555115
 Referentie nr.: [redacted]

Datum 24-3-2017

	Wert	Bezugswert
Hemopyrrolactam Komplex	0,91	< 1 µMol/L
Volumen 24 Std. Urin	2000	1100 - 2100 ml
Total ausgeschiedene Menge HPL	1,82	µMol/24 Std. (siehe Tabelle)

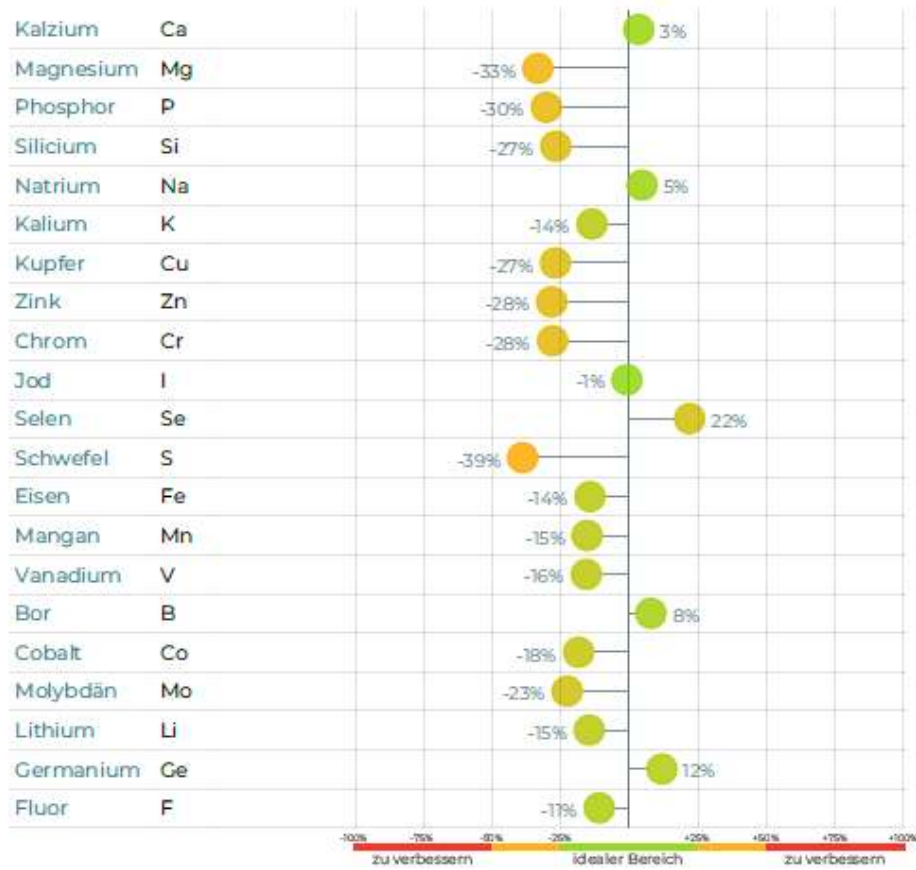
Pra [redacted] n
 Lu [redacted]
 CH [redacted]
 04 [redacted]
 ed [redacted]

E [redacted] E [redacted]
 e [redacted]

weiblich Blutgruppe A
 34 Jahre 57 Kg
 Geb.datum 19/12/1984 1m 64

Datum: 26/09/2019 09:20

MINERALSTOFF - BILANZ



Klinisch Ecologisch Allergie Centrum
 P. Dorrstraat 4a, 6466 HZ Kerkrade
 Nederland

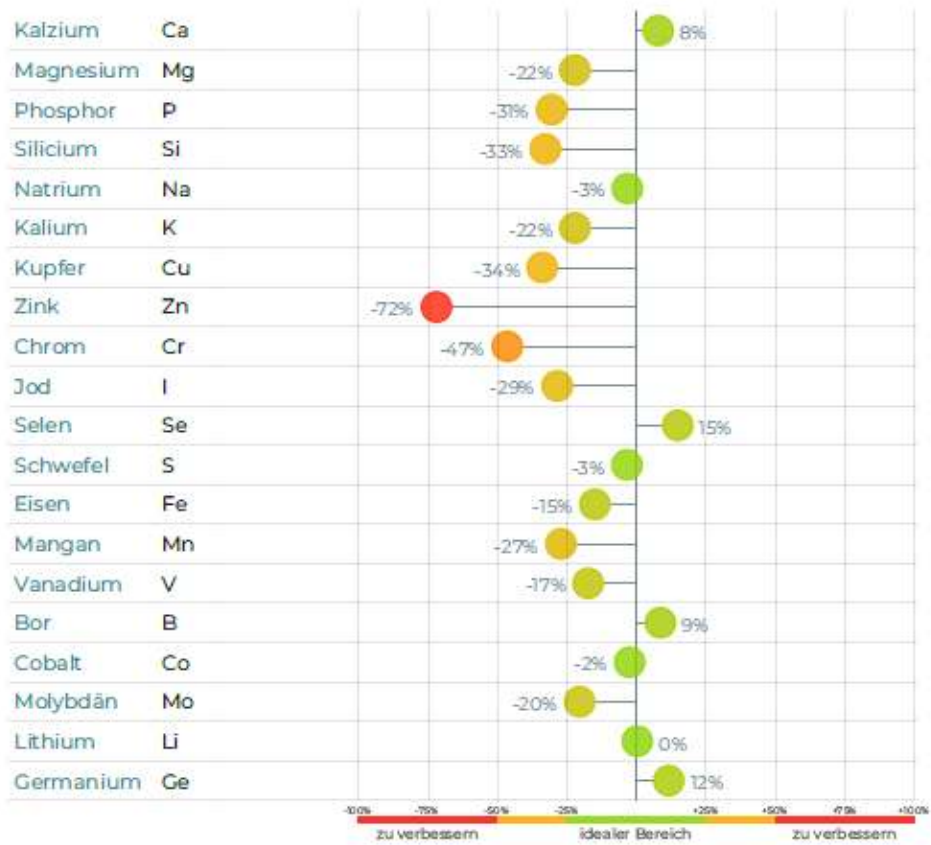
Tel. (31)45-5439248 Fax (31)45-5439243
 Email: info@keac.nl www.keac.nl/de

HPU-test®

Patient:	Et [redacted] El [redacted] V [redacted] C [redacted] m S [redacted]	Et [redacted] El [redacted] V [redacted] C [redacted] n S [redacted]
Geburtsdatum:	19-12-1984	
Nummer:	578251	
Referentie nr.:		
Datum	11-10-2019	
	Wert	Referenzwert
Hemopyrrolactam Komplex	0,51	< 1 µMol/L
Volumen 24 Std. Urin	2100	1100 - 2100 ml
Total ausgeschiedene Menge HPL	1,07	µMol/24 Std. (siehe Tabelle)

Ar Ki 60 +4 in	Ca Fu 60 ca	weiblich 41 Jahre Geb.datum 13/04/1977 Datum: 23/04/2018 11:24	Blutgruppe B 51 Kg 1m 68
----------------------------	----------------------	---	--------------------------------

MINERALSTOFF - BILANZ



Klinisch Ecologisch Allergie Centrum
P. Dorrstraat 4a, 6466 HZ Kerkrade
Nederland
Tel. (31)45-5439248 Fax (31)45-5439243
Email: info@keac.nl www.keac.nl/de

HPU-test®

Patient:	Sc [redacted] C [redacted] Fu [redacted] Ch [redacted] s Sc [redacted]	He [redacted] in Kir [redacted] CH [redacted] Sc [redacted]
Geburtsdatum:	13-4-1977	
Nummer:	564386	
Referentie nr.:		
Datum	11-5-2018	
	Wert	Referenzwert
Hemopyrrolactam Komplex	0,49	< 1 µMol/L
Volumen 24 Std. Urin	1910	1100 - 2100 ml
Total ausgeschiedene Menge HPL	0,94	µMol/24 Std. (siehe Tabelle)

Prä
Lu
CH
04
ed

Jo e B

weiblich
60 Jahre
Geb.datum 08/02/1956
Blutgruppe B
58 Kg
1m 64

Datum: 20/06/2016 08:50

MINERALSTOFF - BILANZ



DATE



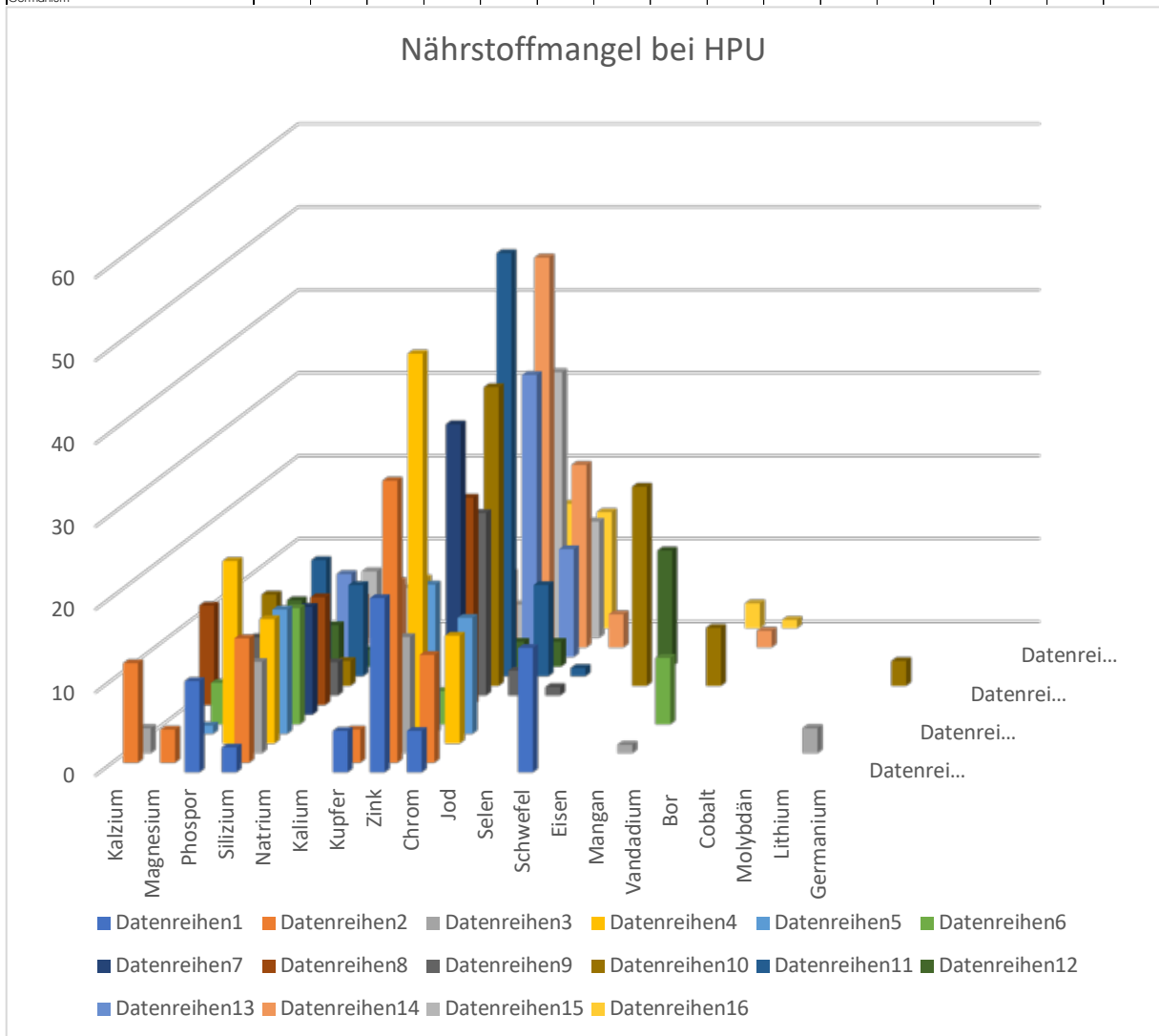
Klinisch Ecologisch Allergie Centrum
P. Dorrstraat 4a, 6466 HZ Kerkrade
Nederland

Tel. (31)45-5439248 Fax (31)45-5439243
Email: info@keac.nl www.keac.nl/de

HPU-test®

Patient:	Be [redacted] Jo [redacted]	Gr [redacted]
	A [redacted]	Gr [redacted]
	C [redacted]	CH [redacted]
	S [redacted]	So [redacted]
Geburtsdatum:	8-2-1956	
Nummer:	550821	
Referentie nr.:		
Datum	2-9-2016	
	Wert	Referenzwert
Hemopyrrolactam Komplex	0,66	< 1 µMol/L
Volumen 24 Std. Urin	3000	1100 - 2100 ml
Total ausgeschiedene Menge HPL	1,98	µMol/24 Std. (siehe Tabelle)

Initialien des Testprobanden	K.U.	S.G.	S.S.	W.P.	P.C.	J.N.	M.F.P.	K.M.T.	L.M.	LP	J.S.	E.E.	F.D.	S.C.	B.J.	B.P.
Alter	55	57	36	37	34	30	34	59	50	41	33	34	39	41	59	39
Gewicht	53	58	52	57	56	42	52	64	71	47	52	57	52	51	58	48
Grösse	1.65	1.65	1.59	1.68	1.65	1.63	1.63	1.69	1.8	1.63	1.7	1.64	1.67	1.68	1.64	1.67
Blutgruppe	A	A	O	B	A	O	A	A	B	O	B	A	A	B	B	A
Geschlecht	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Testergebnis HPU	1.73	2.45	2.51	1.98	1.93	1.68	3.51	3.92	1.82	1.16	1.07	4.44	0.94	1.98	1.57	
Skore HPU	3	3	3	3	3	3	4	4	3	2	3	2	4	2	3	
gemessene Elemente abweichend vom Optimum in %																
Kalzium		12	3			1	5		12	7	11	7	8	3		1
Magnesium		4														
Phosphor	11			22							14	5	10	6	8	
Silizium	3	15	11	15	15	14	13	13	4	3	11	2	7	8	6	
Natrium																
Kalium										3	8	2	7	9	4	
Kupfer	5	4		3	4	3	4								9	
Zink	21	34	14	47	18	4	35	25	22	36	51	3	34	47	32	
Chrom	5	13		13	14				3		11	3	13	22	14	
Jod									1		1			4		
Selen																
Schwefel	15									24		14				
Eisen															3	
Mangan			1			8				7				2	1	
Vandadium																
Bor																
Cobalt																
Molybdän																
Lithium										3						
Germanium			3													



Gemäss dieser Statistik ist ersichtlich, dass tatsächlich die spektralphotometrischen Messungen auf Gewebsebene in Zusammenhang mit dieser Pyrrolen

Stoffwechselstörung vor allem die Elemente Zink, Chrom, Magnesium, jedoch vor allem auch Kupfer und Silizium mangelhaft sind.

Die therapeutische Unterstützung bei HPU-Betroffenen bezieht sich erfahrungsgemäss auf folgende Aspekte:

- 1. Nahrungsergänzung**
- 2. gesunde Ernährung**
- 3. Entgiftung**
- 4. Stressabbau**

1. Welche Nahrungsergänzungen kann man nehmen?

Hier ist die Auswahl riesig. Es gilt, den individuellen Bedarf zu ermitteln. Sinnvoll könnte eine Unterstützung sein mit zusätzlichen Nährstoffen wie:

- Zink
- Chrom
- Magnesium
- B-Vitamine vor allem aktive B's wie P-5-P, Methylfolat, Methylcobalamin, ...
- Kieselerde
- Ungesättigte Fettsäuren
- Schwefelhaltige Aminosäuren

Nicht selten ist eine Darm- und Enzymunterstützung notwendig, denn auf Grund des Zinkmangels, liegt sehr häufig eine Enzymopathie vor. Deshalb wäre es sinnvoll zuerst ein wenig Enzyme zu nehmen, sodass die Spaltung der Nahrung wieder richtig erfolgen kann.

Viele HPUers haben einen Mangel an essenzielle Aminosäuren, da B6 eine wichtige Aufgabe bei der AS-Verstoffwechslung spielt!

Alle anderen Begleitsymptome sollte man Einzel beurteilen. Bei schwere Histamin-Intoleranz könnte man noch DAOSIN oder MSM empfehlen, um Histamin aus der Nahrung zu binden.

4.4 Ausgewählte Arbeiten/Publikationen mit dem Zell/SO-Check Messsystem

4.4.1 Cutaneous spectrophotometry, the new method to monitor heavy metals in our skin.

Dr Philippe Blanchemaison*, Jade Frucot**, Dr Thierry Hertoghe***

*Vascular medicine

** Biotechnology Engineer *** Anti-age medicine

Heavy metals such as lead, cadmium, mercury are known for their toxicity. Through history, pollution linked to this kind of materials lead to serious poisoning, sickness, or death. The first serious pollution attributed to a heavy metal, mercury, occurred in Japan in 1953, following the contamination of rivers in Minamata with waste from a plastic manufactory. During the 1950s and 1960s, 150 tons of mercury has been dumped into the bay and mercury levels found in contaminated fishes were 500,000 times

higher than in the waters of the bay. 25 years later, scientists continue to study the amount of mercury in the bay [1] and its impact in Japanese population.

Beside this kind of tragedy, in our daily life, we are all exposed to heavy metal. For example, in France (2013), French population was exposed to 138 tons of lead (Table 1: Heavy metals emission in France – 2013).

Pollutants	Amount emitted in 2013 (in tons)	Main industries implicated
Arsenic	6,4	Manufacturing industry (non-metallic minerals and building materials, ferrous metallurgy)
Cadmium	2,5	Manufacturing industry (ferrous metallurgy, non- metallic minerals and construction materials)
Mercury	4,2	Manufacturing industry (chemicals, non-metallic minerals and building materials, ferrous metallurgy, waste treatment)
Lead	138	Road transport and manufacturing industry (ferrous metallurgy), building industry (lead paint)

Table 1 : Amount in tons of heavy metals emitted in the atmosphere in France – 2013

Ref : Citepa, 2014. Inventaire des émissions de polluants atmosphériques et de gaz à effet de serre en France – format Secten © Citepa 2014

In developing countries such as China or Brazil these amount are so much higher than in developed countries. Thus, heavy metals intoxication seems to be a reality.

Disorder linked to heavy metals

Nowadays, acute intoxication due to heavy metals is quite rare. However, since we are exposed to such substance all our life, it could have a real impact on our health and well-being. For example, lead (Pb) mostly infects neurologic capacity [2] and mental

development. An excess of lead induce a debilitating disease, the saturnism. Moreover, studies showed significant excess of gastric cancers, broncho-pulmonary and urinary tract in workers exposed

1

to lead. That is why, lead was also classified in 2B group by the International Agency for Cancer Research (IACR) or in other words, classified as an oncogene substance. Mercury (Hg), for its part, is a neurotoxic agent which could seriously affect the development and function of the central nervous system. Studies have also shown that methylmercury, present in fishes and seafoods, increases the risk of cardiovascular diseases [3] and infertility [4].

Since, it knows that we are exposed to such heavy metal emissions and with regard to disorder associated to these kinds of chemical substance, monitoring their quantity in human body seems to be essential.

How to monitor the presence of heavy metal in our body?

Innovative method to measure heavy metals in our tissues

This innovative analytical method is based on the concept of spectrophotometry, in other word, the used of light spectrum to identify chemical element according to their absorbance and to measure their quantity according to their absorption capacity. Each chemical element has the capacity to absorb its own wavelength of light. For example, mercury absorbance is 254 nm [6], thus, if a light absorbance for this wavelength is noted, it means that there is the presence of mercury in the skin. Then the intensity of the absorption allows to determine the quantity. Higher is the absorption, higher is the quantity of chemical element in the medium. Based on this concept,

The emergence of various “detox cure” in agribusiness, in health and pharmacology fields but also in cosmetic is a clue of the awareness of heavy metal danger. However, an important point before starting a cure or any treatment, is to assess the amount of heavy metals which is stored in human body and which one we are exposed to.

Various methods are usually used to measure heavy metals in human body such as urine, hair or blood analysis. Urine analysis is the most used method which allows seeing what the body excretes at a t-time. Hair analysis illustrates what happened in the body weeks or months ago and blood analysis allows to show what circulates in human body. However, in the case of heavy metal, the issue is that there are stored in human organs and living tissues. This is less interesting to monitor what human body excreted (urine analysis) than what it keep inside. However, none of the reference analyses inform on the quantity of heavy metal stored in muscle, skin and other living tissues.

That is why, a new technology appears to monitor the presence of heavy metals in our body. It allows to make precise test on the bioavailability of heavy metals in the body's living tissues.

OligoScan® allows us to know the amount of an important range of heavy metals (Hg, Cd, Pb, Ni, etc.) in our living tissues. The measure is done on the palm of the hand, on which four light beams permit to evaluate epithelial cells concentration in heavy metals. With a single analysis, it cans determine the kind of heavy metals present in patient's body and its quantity. Moreover, every measure is correlated to human characteristics (age, weight, sexe...) which assure a representative analysis results.

2

In order support the necessity of this new kind of analysis, an observational comparative study has been lead on 65 volunteers, whose 61.5% was women and 38.5% men aged from 28 to 78 years old, recruited among patients of a medical practice. This study aim to determine if there is a correlation between urine and tissue analysis in other words if there is a link between heavy metals that human body excretes and what it stores.

Those 65 volunteers was subjected to heavy metals analysis in urines regarding the amount of heavy metal in gram per 24hours and per gram of creat which are the most used methods for urine analysis. Then, they analyzed their skin heavy metals content with the OligoScan® (photo 1).

!

Photo 1: Example of a result analysis with OligoScan®.

All data were statistically treated by an independent structure, the Société Française d'Accréditation Santé (S.F.A.S). Using a Statistic Analyzing Software (SAS) with correlation matrices, data revealed that

there is a positive correlation between the amount of mercury in urine analysis and in tissue analysis. It determined that when the amount is important in tissues, the one in urine tend to be important too (correlation significance test gives a p- value=0.0238 i.e. we only have 2.38% probability to make a mistake when saying we have a positive correlation). Thus, it seems that there is a link between these two kinds of analyses. However, with regard to Positive Predictive Value (PPV) i.e. the probability to have an analysis result in the norms for tissues analysis when the one in urine analysis is in the norms too, it was notice that PPV was only 56.3%. Thus, even if results in urine analysis are normal, 43.7% of these subjects present a toxic amount of heavy metal in their skin. This PPV underlines the necessity to complete usual heavy metal analysis (Urines, blood, hair) with a tissue analysis since the urine analysis results is representative for only 56.3% of the subjects. Moreover, faster than urine analysis since the results are available in few seconds, this predictive and preventive value includes a wide range of testable heavy metals. Indeed, this analysis of living tissue permit an effective screening of heavy metals exposure.

Heavy Metal Test Report

	Result	Normal	High -	High +	Excess
Aluminium (Al)	0.01469	[Yellow bar]			
Antimony (Sb)	0.00201	[Green bar]			
Silver (Ag)	0.01412	[Yellow bar]			
Arsenic (As)	0.00402	[Green bar]			
Barium (Ba)	0.00344	[Green bar]			
Beryllium (Be)	0.00474	[Green bar]			
Bismuth (Bi)	0.00813	[Yellow bar]			
Cadmium (Cd)	0.00967	[Yellow bar]			
Mercury (Hg)	0.00065	[Green bar]			
Nickel (Ni)	0.00453	[Green bar]			
Platinum (Pt)	0.00267	[Green bar]			
Lead (Pb)	0.00959	[Yellow bar]			
Thallium (Tl)	0.00083	[Green bar]			
Thorium (Th)	0.00052	[Green bar]			

You can get help on the items by clicking on the item line

Once a first diagnosis has been done, “detox cure” could be lead in order to eliminate those toxins. And, in order to monitor a treatment, the ease of use, the painless and

the rapidity of the OligoScan® device make it the most useful tool to access the efficacy of latter cure.

Monitoring the efficacy of a DETOX cure

Heavy metals are a tangible risk we all are exposed to, mostly in industrial city, or in capital where the human activity is more important. Sources are various, so we cannot escape this reality. Once diagnosed, further treatments are available to detoxify the body for health or simply well-being such as detoxifying diet with garlic, algae, trace-elements and other natural aliments which help to clean liver, activate lymphatic and blood circulation to evacuate heavy metals, etc. Others method which accelerate sweating such as infrared light combined to

clay can improve the evacuation of heavy metals through the sweating. For an effective detoxifying treatment it can take several weeks or months.

In order to monitor the efficacy of a detoxifying treatment, there is a wide panel of screening methods which allows to monitor heavy metals in our circulate blood or heavy metals that we excrete, but the more interesting analysis is the spectrophotometry to determine heavy metals amount in our living tissues since this measure is representative of the quantity of heavy metals that human body stores.

References:

- [1] Akito M, Shinichiro Y, Akihiro H, Michiaki K, Ikuko S, Akihide T, Hirokatsu A. Reevaluation of Minamata Bay, 25 years after the dredging of mercury-polluted sediments. *Mar Pollut Bull.* 2014 Dec 15;89(1-2):112-20.
- [2] Hou S, Yuan L, Jin P, Ding B, Qin N, Li L, Liu X, Wu Z, Zhao G, Deng Y. A clinical study of the effects of lead poisoning on the intelligence and neurobehavioral abilities of children. *Theor Biol Med Model.* 2013 Feb 18;10:13.
- [3] Stern AH. A review of the studies of the cardiovascular health effects of methylmercury with consideration of their suitability for risk assessment. *Environ Res.* 2005 May;98(1):133-42.
- [4] Lei HL, Wei HJ, Chen PH, Hsi HC, Chien LC. Preliminary study of blood methylmercury effects on reproductive hormones and relevant factors among infertile and pregnant women in Taiwan. *Chemosphere.* 2015 Sep;135:411-7.
- [5] Dittman JA, Shanley JB, Driscoll CT, Aiken GR, Chalmers AT, Towse JE. Ultraviolet absorbance as a proxy for total dissolved mercury in streams. *Environ Pollut.* 2009 Jun;157(6):1953-6.

Übersetzung Google Übersetzer:

Cutaneous spectrophotometry, the new method to monitor heavy metals in our skin.

Dr Philippe Blanchemaison*, Jade Frucot**, Dr Thierry Hertoghe***

*Vascular medicine

** Biotechnology Engineer *** Anti-age medicine

Schwermetalle wie Blei, Cadmium und Quecksilber sind für ihre Toxizität bekannt. Durch die Geschichte führt die Verschmutzung im Zusammenhang mit dieser Art von Materialien zu schweren Vergiftungen, Krankheiten oder Todesfällen.

Die erste schwere Verschmutzung, die einem Schwermetall, Quecksilber, zugeschrieben wird, ereignete sich 1953 in Japan, nachdem Flüsse in Minamata mit Abfällen aus einer Kunststoffmanufaktur kontaminiert worden waren. In den 1950er und 1960er Jahren

wurden 150 Tonnen Quecksilber in die Bucht gekippt, und die Quecksilberwerte in kontaminierten Fischen waren 500.000 Mal höher als in den Gewässern der Bucht. 25 Jahre später untersuchen Wissenschaftler weiterhin die Quecksilbermenge in der Bucht [1] und ihre Auswirkungen auf die japanische

Bevölkerung. Neben dieser Art von Tragödie sind wir in unserem täglichen Leben allen Schwermetallen ausgesetzt. In Frankreich (2013) beispielsweise war die französische Bevölkerung 138 Tonnen Blei ausgesetzt (Tabelle 1: Schwermetallemissionen in Frankreich – 2013).

Pollutants	Amount emitted in 2013 (in tons)	Main industries implicated
Arsenic	6,4	Manufacturing industry (non-metallic minerals and building materials, ferrous metallurgy)
Cadmium	2,5	Manufacturing industry (ferrous metallurgy, non-metallic minerals and construction materials)
Mercury	4,2	Manufacturing industry (chemicals, non-metallic minerals and building materials, ferrous metallurgy, waste treatment)
Lead	138	Road transport and manufacturing industry (ferrous metallurgy), building industry (lead paint)

Table 1 : Amount in tons of heavy metals emitted in the atmosphere in France – 2013

Ref : Citepa, 2014. Inventaire des émissions de polluants atmosphériques et de gaz à effet de serre en France – format Secten © Citepa 2014

Blei 138 Straßentransport und verarbeitende Industrie (Eisenmetallurgie), Bauindustrie (Bleilack) Tabelle 1 : Menge in Tonnen von serre en France – Format Secten © Citepa 2014 In Entwicklungsländern wie China oder Brasilien sind diese Mengen so viel höher als in Industrieländern. So scheint die Vergiftung von Schwermetallen Realität zu sein. Unordnung im Zusammenhang mit Schwermetallen Heutzutage ist eine akute Vergiftung durch Schwermetalle sehr selten. Da wir jedoch unser ganzes Leben lang solchen Substanzen ausgesetzt sind, könnte dies einen echten Einfluss auf unsere Gesundheit und unser Wohlbefinden haben. Beispielsweise infiziert Blei (Pb) meist die neurologische Kapazität [2] und die geistige Entwicklung. Ein Überschuss an Blei induziert eine schwächende Krankheit, den Saturnismus. Darüber hinaus zeigten Studien einen signifikanten Überschuss an Magenkrebs, Broncho-Pulmon und bei 1 zu führen. Aus diesem Grund wurde Blei auch

Schwermetallen in der Atmosphäre in Frankreich emittiert – 2013 Ref : Citepa, 2014. Inventaire des émissions de polluants atmosphériques et de gaz à effet de

von der Internationalen Agentur für Krebsforschung (IACR) in die 2B-Gruppe eingestuft, oder anders gesagt, als Onkogensubstanz eingestuft. Quecksilber (Hg) ist seinerseits ein neurotoxisches Mittel, das die Entwicklung und Funktion des zentralen Nervensystems ernsthaft beeinträchtigen könnte. Studien haben auch gezeigt, dass Methylquecksilber, das in Fischen und Meeresfrüchten vorhanden ist, das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen [3] und Unfruchtbarkeit erhöht [4]. Da sie weiß, dass wir solchen Schwermetallemissionen ausgesetzt sind, und im Hinblick auf Störungen im Zusammenhang mit diesen Arten chemischer Substanzen scheint die Überwachung ihrer Menge im menschlichen Körper von wesentlicher Bedeutung zu sein. Wie überwacht man das Vorhandensein von

Schwermetall in unserem Körper? Das Aufkommen verschiedener "Entgiftungskuren" in der Agrarwirtschaft, in der Gesundheits- und Pharmakologie, aber auch in der Kosmetik ist ein Hinweis auf das Bewusstsein für Schwermetallgefahr. Ein wichtiger Punkt vor Beginn einer Kur oder Behandlung ist jedoch die Bewertung der Menge an Schwermetallen, die im menschlichen Körper gelagert wird und denen wir ausgesetzt sind. Verschiedene Methoden werden in der Regel verwendet, um Schwermetalle im menschlichen Körper wie Urin, Haare oder Blutanalyse zu messen. Urinanalyse ist die am häufigsten verwendete Methode, die es ermöglicht zu sehen, was der Körper zu einem T-Zeitpunkt ausscheidet. Haaranalyse zeigt, was im Körper vor Wochen oder Monaten passiert und

Blutanalyse ermöglicht zu zeigen, was im menschlichen Körper zirkuliert. Bei Schwermetallen geht es jedoch darum, dass in menschlichen Organen und lebenden Geweben gelagert wird. Dies ist weniger interessant zu überwachen, was der menschliche Körper ausgeschieden (Urinanalyse) als was es im Inneren zu halten. Keine der Referenzanalysen gibt jedoch einen Hinweis auf die Menge an Schwermetallen, die in Muskel-, Haut- und anderen lebenden Geweben gelagert werden. Deshalb scheint eine neue Technologie das Vorhandensein von Schwermetallen in unserem Körper zu überwachen. Es ermöglicht einen präzisen Test auf die Bioverfügbarkeit von Schwermetallen im lebenden Gewebe des Körpers zu machen.

Heavy Metal Test Report

	Result	Normal	High -	High +	Excess
Aluminium (Al)	0.01469				
Antimony (Sb)	0.00201				
Silver (Ag)	0.01412				
Arsenic (As)	0.00402				
Barium (Ba)	0.00344				
Beryllium (Be)	0.00474				
Bismuth (Bi)	0.00813				
Cadmium (Cd)	0.00967				
Mercury (Hg)	0.00065				
Nickel (Ni)	0.00453				
Platinum (Pt)	0.00267				
Lead (Pb)	0.00959				
Thallium (Tl)	0.00083				
Thorium (Th)	0.00052				

You can get help on the items by clicking on the item line

Innovative Methode zur Messung von Schwermetallen in unseren Geweben Diese innovative Analyseverfahren basiert auf dem Konzept der Spektrophotometrie, mit anderen Worten, der Verwendung von Lichtspektrum, um chemische Elemente nach ihrer Absorption zu identifizieren und ihre Menge nach ihrer Absorptionsfähigkeit zu messen. Jedes chemische Element hat die Fähigkeit, seine eigene Wellenlänge des Lichts zu absorbieren. Zum Beispiel beträgt die Quecksilberabsorption 254 nm [6], also, wenn eine Lichtabsorption für diese Wellenlänge festgestellt wird, bedeutet dies,

dass Quecksilber in der Haut vorhanden ist. Dann erlaubt die Intensität der Absorption, die Menge zu bestimmen. Höher ist die Absorption, höher ist die Menge des chemischen Elements im Medium. Basierend auf diesem Konzept, OligoScan® ermöglicht es uns, die Menge einer wichtigen Reihe von Schwermetallen (Hg, Cd, Pb, Ni, etc.) in unseren lebenden Geweben zu kennen. Die Maßnahme erfolgt auf der Handfläche, auf der vier Lichtstrahlen die Konzentration von Epithelzellen in Schwermetallen bewerten können. Mit einer einzigen Analyse kann es die Art der Schwermetalle im Körper des

Patienten und seine Menge bestimmen. Darüber hinaus ist jede Maßnahme korreliert mit menschlichen Merkmalen (Alter, Gewicht, Geschlecht...), die eine repräsentative Analyseergebnisse gewährleisten. 2 Um die Notwendigkeit dieser neuen Art der Analyse zu unterstützen, wurde eine beobachtungsvergleichliche Studie an 65 Freiwilligen durchgeführt, deren 61,5 % Frauen und 38,5 % Männer im Alter von 28 bis 78 Jahren waren, die unter Patienten einer medizinischen Praxis rekrutiert wurden. Diese Studie soll feststellen, ob es eine Korrelation zwischen Urin- und Gewebeanalyse gibt, d. h. ob es einen Zusammenhang zwischen Schwermetallen gibt, die der menschliche Körper ausscheidet, und dem, was er speichert. Diese 65 Freiwilligen wurden einer Schwermetallanalyse in Urinen hinsichtlich der Menge an Schwermetall in Gramm pro 24 Stunden und pro Gramm Kreatin unterzogen, die die am häufigsten verwendeten Methoden für die Urinanalyse sind. Anschließend analysierten sie ihren Haut-Schwermetallgehalt mit dem OligoScan® (Foto 1). ! Foto 1: Beispiel für eine Ergebnisanalyse mit OligoScan®. Alle Daten wurden statistisch durch eine unabhängige Struktur, die Société Française d'Accréditation Santé (S.F.A.S), behandelt. Anhand einer Statistikanalysesoftware (SAS) mit Korrelationsmatrizen ergaben die Daten, dass es eine positive Korrelation zwischen der Quecksilbermenge in der Urinanalyse und der Gewebeanalyse gibt. Es stellte fest, dass, wenn die Menge in Geweben wichtig ist, die im Urin tendenziell auch wichtig ist (Korrelationssignentest ergibt einen p-Wert=0,0238 d.h. wir haben nur 2,38% Wahrscheinlichkeit, einen Fehler zu machen, wenn wir sagen, dass wir eine positive Korrelation haben). Es scheint also einen Zusammenhang zwischen diesen beiden Arten von Analysen zu bestehen. In Bezug auf den positiven Prädiktiven Wert (PPV), d.h. die Wahrscheinlichkeit, ein Analyseergebnis in den Normen für die Gewebeanalyse zu haben, wenn die in der Urinanalyse ebenfalls in den Normen liegt, wurde jedoch festgestellt, dass PPV nur 56,3% betrug. Selbst wenn die Ergebnisse der

Urinanalyse normal sind, stellen 43,7 % dieser Probanden eine giftige Menge an Schwermetall in ihrer Haut dar. Diese PPV unterstreicht die Notwendigkeit, die übliche Schwermetallanalyse (Urin, Blut, Haare) mit einer Gewebeanalyse abzuschließen, da die Ergebnisse der Urinanalyse nur für 56,3% der Probanden repräsentativ sind. Darüber hinaus, schneller als Urinanalyse, da die Ergebnisse in wenigen Sekunden verfügbar sind, umfasst dieser prädiktive und präventive Wert eine breite Palette von testbaren Schwermetallen. Tatsächlich ermöglicht diese Analyse des lebenden Gewebes ein effektives Screening der Schwermetallexposition.

Sobald eine erste Diagnose gestellt wurde, könnte "Entgiftungskur" geführt werden, um diese Toxine zu beseitigen. Und, um eine Behandlung zu überwachen, die Benutzerfreundlichkeit, die schmerzlose und die Schnelligkeit des OligoScan® Gerät machen es zum nützlichsten Werkzeug, um die Wirksamkeit der letzteren Heilung zugreifen. Überwachung der Wirksamkeit einer DETOX-Kur Schwermetalle sind ein greifbares Risiko, dem wir alle ausgesetzt sind, vor allem in Industriestädten oder in DerHauptstadt, wo die menschliche Aktivität wichtiger ist. Die Quellen sind vielfältig, daher können wir uns dieser Realität nicht entziehen. Einmal diagnostiziert, stehen weitere Behandlungen zur Verfügung, um den Körper für die Gesundheit oder einfach nur das Wohlbefinden zu entgiften, wie z. B. entgiftende Ernährung mit Knoblauch, Algen, Spurenelementen und anderen natürlichen Nahrungsmitteln, die helfen, die Leber zu reinigen, Lymph- und Durchblutung zu aktivieren, um Schwermetalle zu evakuieren, usw. Andere Verfahren, die das Schwitzen beschleunigen, wie Infrarotlicht kombiniert zu Ton, können die Evakuierung von Schwermetallen durch das Schwitzen verbessern. Für eine wirksame Entgiftungsbehandlung kann es mehrere Wochen oder Monate dauern. Um die Wirksamkeit einer entgiftenden Behandlung zu überwachen, gibt es ein breites Spektrum von Screening-Methoden, die es ermöglichen, Schwermetalle in unserem

zirkulierenden Blut oder Schwermetallen zu überwachen, die wir ausscheiden, aber die interessantere Analyse ist die Spektrophotometrie, um die Schwermetallmenge in unseren lebenden

Geweben zu bestimmen, da diese Maßnahme repräsentativ für die Menge an Schwermetallen ist, die der menschliche Körper speichert.

References:

- [1] Akito M, Shinichiro Y, Akihiro H, Michiaki K, Ikuko S, Akihide T, Hirokatsu A. Reevaluation of Minamata Bay, 25 years after the dredging of mercury-polluted sediments. *Mar Pollut Bull.* 2014 Dec 15;89(1-2):112-20.
- [2] Hou S, Yuan L, Jin P, Ding B, Qin N, Li L, Liu X, Wu Z, Zhao G, Deng Y. A clinical study of the effects of lead poisoning on the intelligence and neurobehavioral abilities of children. *Theor Biol Med Model.* 2013 Feb 18;10:13.
- [3] Stern AH. A review of the studies of the cardiovascular health effects of methylmercury with consideration of their suitability for risk assessment. *Environ Res.* 2005 May;98(1):133-42.
- [4] Lei HL, Wei HJ, Chen PH, Hsi HC, Chien LC. Preliminary study of blood methylmercury effects on reproductive hormones and relevant factors among infertile and pregnant women in Taiwan. *Chemosphere.* 2015 Sep;135:411-7.
- [5] Dittman JA, Shanley JB, Driscoll CT, Aiken GR, Chalmers AT, Towse JE. Ultraviolet absorbance as a proxy for total dissolved mercury in streams. *Environ Pollut.* 2009 Jun;157(6):1953-6.

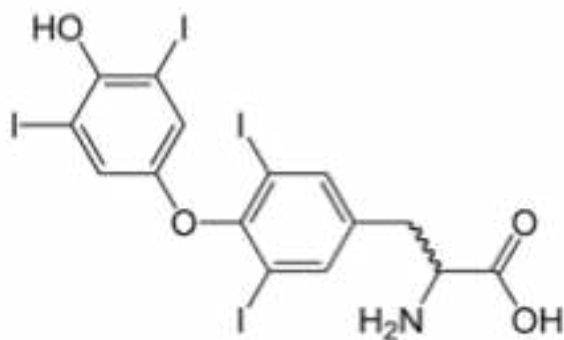
4.4.2 Cutaneous spectrophotometry, a new method to monitor the iodine in human skin

P. Blanchemaison*, J. Frucot**

*Vacular medecin

** Biotechnology engineer

Iodine is a chemical element known in human body for its close link to thyroid hormones which are the main molecule in the regulation of human metabolism. These hormones, thyroxin (T4) and triiodothyronin (T3) are made of tyrosine, an amino acid and iodine (Figure 1) which explains its importance in human alimentation.



!

!

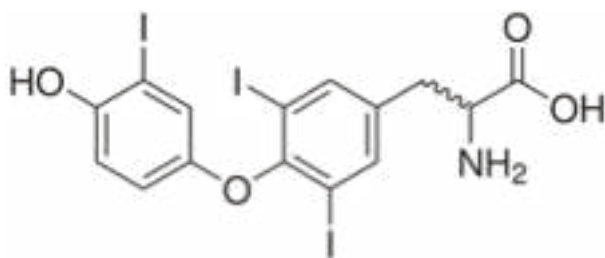


Figure 1: Thyroxin and Triiodothyronin 2D skeletal

Role of thyroid hormones in human body

Once these hormones crossed cell's membrane, T3 binds to cytosolic receptors on the nucleus' membrane; the complex enters the nucleus and participates in the regulation of gene expression. Outside the

At a biologic level, these hormones have an important role in the development of the nervous system [1], mostly in infant development [2]. For them, a lack of these hormones can induce a significant mental delay or in the worst case, cretinism. For an adult, a lack of these hormones

(Hypothyroidism) cans induce somnolence, and a mental slowing whereas an excess (Hyperthyroidism) is characterized by an excitability and irritability [3].

These hormone also impact skeletal development by allowing the differentiation and maturation of bones cells in relation with growth factor, it affect body metabolism and body thermogenesis and has an effect on protein regulation or on the hydro mineral balance

Thus, thyroid hormones are essential to our body but a balance must be respected to avoid hyper or hypothyroidism. However, this balance is in mayor part regulated by our daily iodine intake.

How to monitor iodine in our body?

An excess or a lack of iodine in our alimentation could affect globally human body since it could induce hyperthyroidism or hypothyroidism. That is why, it is really important to monitor its iodine balance.

nucleus, T3 exerts a facilitating effect on membrane and cellular metabolism by potentiating adrenergic receptors and ion pumps, and by facilitating substrate energy flow, such as glucose and amino acids. It also has effects in the mitochondria with increased calorigenesis.

Actually, the reference method to measure the concentration of iodine in human body is the endocrinology in other words a blood analysis to show off T3 and T4 concentration. The second reference analysis for Iodine is a urine analysis. For it, the quantity of iodine is evaluated in gram per liter or according to the quantity (in gram) excreted in a day. These methods respectively allow having a point of view on iodine circulating in human body (blood analysis) and iodine eliminated by human body (urine analysis). However, none of these analytical methods allow determining the quantity of iodine in human's organs, living tissues or simply human cells.

Iodine and thyroid hormones act in all our body and the existing analyses are not representative of this fact. That is why, a new technology appears to monitor the presence of iodine in human living tissues such as the skin. It allows to make precise test on the bioavailability of iodine.

Innovative method to measure iodine in our tissues

This innovative analytical method is based on the concept of spectrophotometry, in other word, the used of light spectrum to identify chemical element according to their absorbance and to measure their quantity according to their absorption capacity. Each chemical element has the capacity to absorb

its own wavelength of light. For example, diiodine (a derivative of iodine) absorbance is 470 nm, thus, if a light absorbance for this wavelength is noted, it means that there is the presence of diiodine in the skin. Then the intensity of the absorption allows determining the quantity. Higher is the absorption, higher is the quantity of chemical element in the skin.

Based on this concept, OligoScan®, a medical device, allows us to know the amount of iodine in living tissues. The measure is done on the palm of the hand, on which four light beams are emitted to evaluate epithelial cells concentration in iodine. With a single analysis, it can determine its presence in patient's body and its quantity. Moreover, every measure is

correlated to human characteristics (age, weight, sexe...) which assure a representative analysis results.

What is the interest of this analytical method regarding the others?

In order to determine if there is a link between blood, urines and tissues analyses, an observational study was lead on 300 volunteers whose 61.7% of women and 38.3% of men aged from 18 to 84 years old, from a private practice. Those 300 volunteers was submitted to an endocrinology screening followed by a urine analysis to measure iodine amount (g/L and g/24h). Then a tissue analysis was carried out by spectrophotometry, via the OligoScan®. All data were entrusted to an independent structure, the Société Française d'Accréditation Santé (S.F.A.S.) which carried out several statistical analyses on it. Using the SAS Software (Statistics Analysis Software) to make correlation matrix, data revealed:

First, there is a negative correlation between quantity of iodine in tissues and its quantity in blood. In other words, when the quantity of iodine increases in the blood, the one in tissues decreases (correlation significance test gives a p-value=0.0622 for T3 and p-value=0.0584 for T4 i.e. we only have 6.22% probability to make a mistake when saying we have a negative correlation with T3 and 5.84% chance for T4).

Second, there is a negative correlation between quantity of iodine in tissues and its quantity in urines. So, as well as with blood analysis, when the quantity in urines increases, the one in tissues decreased (correlation significance test gives a p-value=0.0477 i.e. we only have 4.77% probability to make a mistake when saying we have a negative correlation).

Third, more than a half of the population was in lack of iodine in their tissues (Figure 2).



Figure 2: Iodine tissue analysis results with OligoScan® (300 volunteers)

These results are underlying by Positive Predictive Value (PPV) in other words, the probability to have a normal level of iodine in patient skin when the level in blood and urine is normal too.

PPV with blood analysis revealed that there is only 43.5% of probability that if the patient is in the norm with its blood analysis for iodine measurement, he will be in the norm regarding its iodine amount in the skin.

Moreover, iodine is more required in tissue in which it exerts its regulation activity as a thyroid hormone than in blood or in urine.

How to react in case of hypothyroidism or hyperthyroidism symptoms?

In case of hypothyroidism or hyperthyroidism symptoms (somnolence, fatigue, memory loss, ... or a contrario in case

References:

[1] Bougma K, Aboud FE, Harding KB, Marquis GS. Iodine and mental development of children 5 years old and under: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2013 Apr 22;5(4):1384-416.

[2] Clarridge KE, Conway EE, Bucuvalas J. Hypothyroidism and iodine deficiency in an infant requiring total parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2014 Sep;38(7):901-4.

[3] Milgrom E. [Recent data on the physiopathology of hyperthyroidism]. *Bull Acad Natl Med*. 2003;187(4): 671-80; discussion 680-2.

Übersetzung Google Übersetzer:

:

Kutane Spektrophotometrie, eine neue Methode zur Überwachung des Jods in der menschlichen Haut

P. Blanchemaison*, J. Frucot** *Vacular medecin ** Biotechnologie-Ingenieur

P. Blanchemaison*, J. Frucot**

Moreover the study shows off that in 100% of the case of unbalanced iodine in the skin, this unbalanced concerns a lack of iodine.

Thus, analysis of iodine quantity in the tissue is essential to have a real vision of body needs since statistical analysis on a panel of 300 peoples show that even if, the iodine quantity excreted and which circulates in the blood are normal, the one in tissues could be low (negative correlation).

of excessive irritability, thermophobia, etc.) it could be interesting to carry out a endocrinology analysis but completed by an analysis of iodine quantity in the tissue in order to determine if these symptoms are not the consequences of a iodine deficiency or excess in human tissues. Moreover, faster than blood analysis since the results are available in few seconds, these predictive and preventive values permit an effective screening of iodine quantity in the body.

*Vacular medecin

** Biotechnology engineer

Jod ist ein chemisches Element, das im menschlichen Körper für seine enge Verbindung zu Schilddrüsenhormonen bekannt ist, die das Hauptmolekül bei der Regulierung des menschlichen Stoffwechsels sind. Diese Hormone, Thyroxin (T4) und Triiodothyronin (T3) bestehen aus Tyrosin, einer Aminosäure und Jod (Abbildung 1), was ihre Bedeutung bei der menschlichen Ernährung erklärt.

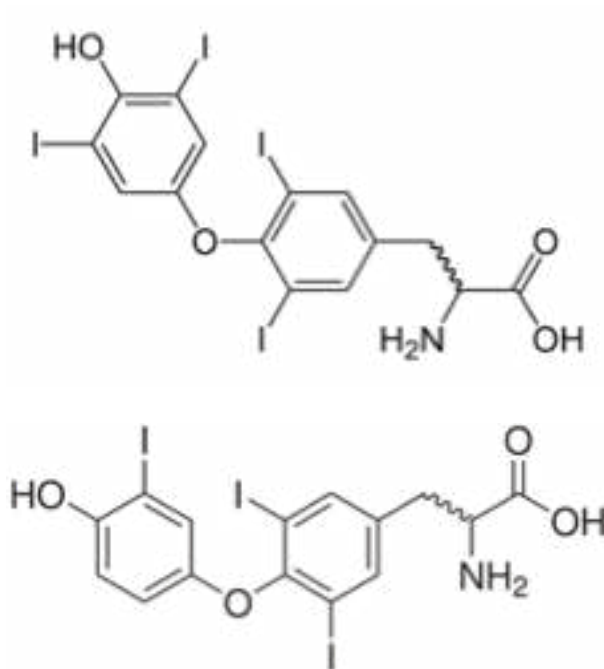


Abbildung 1: Thyroxin und Triiodothyronin 2D Skelett

Rolle der Schilddrüsenhormone im menschlichen Körper

Sobald diese Hormone die Zellmembran kreuzen, bindet T3 an zytosolische Rezeptoren auf der Membran des Kerns; der Komplex tritt in den Zellkern ein und beteiligt sich an der Regulierung der Genexpression. Außerhalb des Zellkerns wirkt T3 durch Potenzierung von adrenergen Rezeptoren und Ionenpumpen und durch

Erleichterung des Substrat-Energieflusses wie Glukose und Aminosäuren eine erleichternde Wirkung auf den Membran- und Zellstoffwechsel. Es hat auch Auswirkungen in den Mitochondrien mit erhöhter Kalorigenese.

Auf biologischer Ebene spielen diese Hormone eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des Nervensystems [1], vor allem in der Säuglingsentwicklung [2]. Für sie

kann ein Mangel an diesen Hormonen eine erhebliche geistige Verzögerung oder im schlimmsten Fall Kretinismus induzieren. Für einen Erwachsenen, ein Mangel an diesen Hormonen

(Hypothyreose) Dosen induzieren Somnolenz, und eine geistige Verlangsamung, während ein Überschuss (Hyperthyreose) durch eine Erregbarkeit und Reizbarkeit gekennzeichnet ist [3].

Dieses Hormon wirkt sich auch auf die Skelettentwicklung aus, indem es die Differenzierung und Reifung von Knochenzellen in Bezug auf den Wachstumsfaktor ermöglicht, es beeinflusst den Körperstoffwechsel und die Körperthermogenese und wirkt sich auf die Proteinregulation oder auf das Hydromineralgleichgewicht aus.

Daher sind Schilddrüsenhormone für unseren Körper unerlässlich, aber ein Gleichgewicht muss respektiert werden, um Hyper- oder Hypothyreose zu vermeiden. Diese Ausgewogenheit wird jedoch im Bürgermeisterteil durch unsere tägliche Jodaufnahme reguliert.

Wie überwacht man Jod in unserem Körper?

Ein Überschuss oder ein Mangel an Jod in unserer Ernährung könnte den globalen menschlichen Körper beeinflussen, da er Hyperthyreose oder Hypothyreose auslösen könnte. Deshalb ist es wirklich wichtig, seine Jodbilanz zu überwachen. Tatsächlich ist die Referenzmethode zur Messung der Jodkonzentration im menschlichen Körper die Endokrinologie, d. h. eine Blutanalyse, um die T3- und T4-Konzentration zu zeigen. Die zweite Referenzanalyse für Jod ist eine Urinanalyse. Dazu wird die Jodmenge in Gramm pro Liter oder nach der Menge (in Gramm) ausgewertet, die an einem Tag ausgeschieden wird. Diese Methoden erlauben es, einen Standpunkt über Jod, das im menschlichen Körper zirkuliert (Blutanalyse) und Jod durch den menschlichen Körper eliminiert (Urinanalyse) zu haben. Jedoch, keine dieser

analytischen Methoden erlauben es, die Menge an Jod in menschlichen Organen, lebenden Geweben oder einfach menschlichen Zellen zu bestimmen.

Jod- und Schilddrüsenhormone wirken in unserem ganzen Körper und die bestehenden Analysen sind nicht repräsentativ für diese Tatsache. Aus diesem Grund scheint eine neue Technologie das Vorhandensein von Jod in menschlichen lebenden Geweben wie der Haut zu überwachen. Es ermöglicht eine präzise Prüfung der Bioverfügbarkeit von Jod. Innovative Methode zur Jodmessung in unseren Geweben Diese innovative Analyseverfahren basiert auf dem Konzept der Spektrophotometrie, mit anderen Worten, der Verwendung von Lichtspektrum, um chemische Elemente nach ihrer Absorption zu identifizieren und ihre Menge nach ihrer Absorptionsfähigkeit zu messen. Jedes chemische Element hat die Fähigkeit, seine eigene Wellenlänge des Lichts zu absorbieren. Zum Beispiel, Dijod (ein Derivat von Jod) Absorption ist 470 nm, so, wenn eine Lichtabsorption für diese Wellenlänge festgestellt wird, bedeutet es, dass es das Vorhandensein von Dijod in der Haut. Dann erlaubt die Intensität der Absorption die Bestimmung der Menge. Höher ist die Absorption, höher ist die Menge des chemischen Elements in der Haut. Basierend auf diesem Konzept, OligoScan®, ein medizinisches Gerät, ermöglicht es uns, die Menge an Jod in lebenden Geweben zu wissen. Die Maßnahme erfolgt auf der Handfläche, auf der vier Lichtstrahlen emittiert werden, um die Konzentration der Epithelzellen in Jod zu bewerten. Mit einer einzigen Analyse kann es seine Anwesenheit im Körper des Patienten und seine Menge bestimmen. Darüber hinaus ist jede Maßnahme korreliert mit menschlichen Merkmalen (Alter, Gewicht, Geschlecht...), die eine repräsentative Analyse ergebnisse. Was ist das Interesse dieser Analyseverfahren an den anderen? Um festzustellen, ob es einen Zusammenhang zwischen Blut-, Urin- und Gewebeanalysen gibt, wurde eine Beobachtungsstudie an 300 Probanden durchgeführt, deren 61,7 % der Frauen und

38,3 % der Männer im Alter von 18 bis 84 Jahren aus einer Privatpraxis stammten. Diese 300 Probanden wurden einem **Endokrinologie-Screening** unterzogen, gefolgt von einer Urinanalyse zur Messung der Jodmenge (g/L und g/24h). Anschließend wurde eine Gewebeanalyse mittels Spektrophotometrie über die OligoScan® durchgeführt. Alle Daten wurden einer unabhängigen Struktur anvertraut, der Société Française d'Accréditation Santé (S.F.A.S.), die mehrere statistische Analysen dazu durchführte. Mithilfe der SAS-Software (Statistics Analysis Software) zur Herstellung einer Korrelation mit T3 haben und 5,84% Chance für T4). Zweitens gibt es eine negative Menge in Urinen. So, wie bei der Blutanalyse, wenn die Menge in Urinen steigt, verringerte sich die Menge in Geweben (Korrelationssignentest ergibt einen p-Wert=0,0477 d.h. wir haben nur 4,77% Wahrscheinlichkeit, einen Fehler zu machen, wenn wir sagen, dass wir eine negative Korrelation haben). Drittens war mehr als die Hälfte der Bevölkerung an Jod in ihrem Gewebe (Abbildung 2).

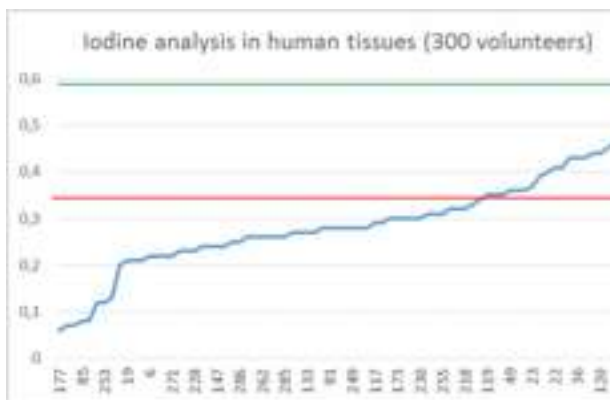


Abbildung 2: Ergebnisse der Jodgewebeanalyse mit OligoScan® (300 Probanden)

Diese Ergebnisse werden durch Positive Predictive Value (PPV) zugrunde liegen, mit anderen Worten, die Wahrscheinlichkeit, ein normales Niveau von Jod in der Patientenhaut zu haben, wenn der Wert in

Korrelationsmatrix ergaben sich folgende Daten:

Erstens gibt es eine negative Korrelation zwischen der Menge an Jod im Gewebe und seiner Menge im Blut. Mit anderen Worten, wenn die Menge an Jod im Blut zunimmt, **nimmt** die Menge an **Geweben** ab (Korrelationssignentest ergibt einen p-Wert=0,0622 für T3 und p-Wert=0,0584 für T4, d.h. wir haben nur 6,22% Wahrscheinlichkeit, einen Fehler zu machen, wenn wir sagen, dass wir eine negative Korrelation zwischen der Menge an Jod in Geweben und ihrer

Blut und Urin ist auch normal. PPV mit Blutanalyse ergab, dass es nur 43,5% der Wahrscheinlichkeit, dass, wenn der Patient in der Norm mit seiner Blutanalyse für Jodmessung ist, wird er in der Norm in Bezug auf seine Jodmenge in der Haut sein. • Darüber hinaus zeigt die Studie, dass bei 100% des Falles von unausgewogenem Jod in der Haut, diese unausgewogene betrifft einen Mangel an Jod. Daher ist die Analyse der Jodmenge im Gewebe unerlässlich, um eine reale Vision der Körperbedürfnisse zu haben, da statistische Analysen auf einem Panel von 300 Völkern zeigen, dass selbst wenn die Jodmenge, die ausgeschieden wird und die im Blut zirkuliert, normal ist, die im Gewebe niedrig sein könnte (negative Korrelation). Darüber hinaus ist Jod mehr im Gewebe erforderlich, in dem es seine Regulationsaktivität als Schilddrüsenhormon ausübt als im Blut oder im Urin. Wie reagiert man bei Hypothyreose oder Hyperthyreose-Symptomen? Bei Hypothyreose oder Hyperthyreose Symptome (Somnolenz, Müdigkeit, Gedächtnisverlust, ... oder ein Contrario bei übermäßiger Reizbarkeit, Thermophobie usw.) es könnte interessant sein, eine Endokrinologie-Analyse durchzuführen, aber **durch** eine Analyse der Jodmenge im Gewebe ergänzt, um festzustellen, ob diese Symptome nicht die Folgen eines Jodmangels oder eines Überschusses an menschlichen Geweben sind. Darüber hinaus, schneller als Blutanalyse, da die Ergebnisse in wenigen

Sekunden verfügbar sind, ermöglichen diese prädiktiven und präventiven Werte ein effektives Screening der Jodmenge im Körper.

References:

- [1] Bougma K, Aboud FE, Harding KB, Marquis GS. Iodine and mental development of children 5 years old and under: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2013 Apr 22;5(4):1384-416.
- [2] Clarridge KE, Conway EE, Bucuvalas J.

Hypothyroidism and iodine deficiency in an infant requiring total parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2014 Sep;38(7):901-4.

[3] Milgrom E. [Recent data on the physiopathology of hyperthyroidism]. *Bull Acad Natl Med*. 2003;187(4): 671-80; discussion 68

4.4.3 Application of OligoCheck spectrophotometric analysis to discover new questions for in-depth research

Andrzej R. Kozłowska,1,2 and Anna S. Łoban-Kozłowska,1
aSpec. Family Medicine, Pediatrician Andrzej Rajmund Kozłowski
Spec. Family Medicine, Physician Anna Sylwia Łoban-Kozłowska
Specjalistyczna Praktyka Lekarska (Specialist Medical Practice), ul. Augustowska 2a, 15-218
Białystok, POLAND

This manuscript was compiled on April 24, 2020

The following study is of a pilot nature, whose purpose is to determine the suitability of the Oligo Check spectrophotometric method to search for yet unknown or underestimated and significant interdependencies within the human body. The pilot serves as an inspiration for further in-depth research.

In our research program we have selected the issue of broadly understood skin diseases. We have chosen the skin for a pilot study because it is the easiest organ to confirm or exclude the pathological process. On the other hand, after many years of running a medical practice, we note a constantly growing number of skin diseases, especially in the population of infants and young children.

Through the study we want to answer the question of whether there are any factors related to the level of micronutrients and their proportions that increases the skin's susceptibility to diseases. These types of

disorders can cause metabolic dysfunctions due to excess or deficiency of ingredients, paving the way to initiate the disease process. Notably we were expecting to find irregularities in levels of zinc and lowered levels of silicon in skin tissue of subjects suffering from skin conditions as compared to ones not affected by them.

The most likely candidate for differentiation between groups were Zinc levels. Main reason for this is that zinc is necessary for functioning of a great number of enzymes, as well as is required for DNA synthesis, protein synthesis and cell division. Zn deficiency has been shown to affect immunity and can cause cutaneous changes(1, 2).

Silicon is noted to be linked to healthy formation of bones and connective tissue(3), it may play a role in formation of collagen, though exact mechanisms are yet unknown. It has also been suggested that silicon mitigates in part aluminum toxicity(4).

27 people with clinically diagnosed skin disease and 27 random people without skin disease entered the study. To avoid differences due to the impact of the season, the study was conducted over the same period.

Description of testing process

Quantitative analysis by spectrophotometry is based on the measurement of absorbance within the examined tissue at a specific wavelength and using the Lambert-Beer law. If the tested system meets the principle of straightforwardness, according to the Lambert-Beer law, the quantitative parameters of the tested ingredients can also be determined.



Fig. 1. OligoCheck spectrophotometric sensor unit on its stand. Top: button to used to initiate scanning; bottom (not visible, hidden in stand): sensor's head.

OligoCheck analysis is performed by using sensor unit (fig. 1) connected to computer with internet access and manufacturer's software installed. Before testing can take place software must be provided with basic patient's data such as sex, age, weight, height and blood type. Test consist of taking 4 separate consecutive spectrum readings of subject's palm. Readings are passed via internet connection to servers for processing and within few seconds result report is available.

The application of the OligoCheck spectrophotometric method requires use of a laser beam which has the advantages of being non-invasive, fast and affordable. These features have made it easy to obtain the consent of patients to participate in the study.

Sensor unit is compact and doesn't need lengthy setup, making it very portable.

Results and discussion

In the course of research, we obtained a result in which the effect of deviations from the norm of chromium content in the tissues of people suffering from skin diseases turned out to be statistically significant ($p = 0.032$) with difference of on average -39.75pp (percentage points) from studied group (fig. 4).

Chromium(III) plays an important role in metabolism of carbohydrates, fats and proteins(5). Low levels in both studied group and control can be explained as poor nutrition habits(diet high in simple sugars) as well as measure of stress. Heightened levels of chromium (as compared to control) may be linked to workplace or environmental exposition to chromium.

While trivalent chromium, in very high concentration can elicit dermatitis in chromium-sensitive patients, we propose that hexavalent chrome, a water-soluble form is more likely cause. It has been found in trace amounts as unintended byproduct of oxidation of Cr(III) used in manufacturing process in tanned leather products(6).

This result (as shown in table (1)) is somewhat divergent with our expectations regarding the influence of trace elements. As mentioned before, we expected to see a statistically significant difference in silicon over that of any other elements. Our study did not find silicon to be differentiation factor between studied group and the control (fig. 3).

We have however shown that there seems to greater divergence in levels of zinc in studied group then in control one (fig. 5). We find this to be consistent with our experience in course of our practice testing using OligoCheck.

Conclusions

The goal of this study was application of OligoCheck technology in order to forward new exploratory research looking into correlations between particular disorders and micronutrient imbalances. If such regularity can be established, it is an introduction for further studies on whether these observations can be successfully reproduced on bigger

samples, thereby expanding our knowledge about possible causes for development of morbidity.

Forgoing study is of pilot nature, before engaging in broader research of this subject. We have tested a local patient group suffering

from dermatosis, contrasting it with a control group of patients

Übersetzung:

Anwendung der spektrophotometrischen Analyse von OligoCheck zur Entwicklung neuer Fragestellungen für eingehende Untersuchungen

Andrzej R. Kozłowski^{a,1,2} und Anna S. Łoban-Kozłowska^{a,1}

^aFachärzte für Familienmedizin, Kinderarzt Andrzej Rajmund Kozłowski, Facharzt für Familienmedizin, Ärztin Anna Sylwia Łoban-Kozłowska
Specjalistyczna Praktyka Lekarska (Facharztpraxis), ul. Augustowska 2a, 15-218 Białystok, POLEN

Dieses Manuskript wurde am 24. April 2020 erstellt

Die folgende Studie hat Pilotcharakter und verfolgt das Ziel, die Eignung der spektrophotometrischen Oligo Check-Methode für die Suche nach noch unbekanntem oder unterschätzten und signifikanten Abhängigkeiten im menschlichen Körper zu bewerten. Die Pilotstudie soll als Inspiration für weitere eingehende Untersuchungen dienen.

Wir haben uns entschieden, uns in unserem Forschungsprogramm auf im Allgemeinen gut bekannte Hautkrankheiten zu konzentrieren. Wir haben für die Pilotstudie die Haut ausgewählt, da sie das Organ ist, mit dem der pathologische Prozess am einfachsten bestätigt oder ausgeschlossen werden kann. Andererseits sind wir in den vielen Jahren in der von uns geleiteten Arztpraxis auf eine stetig wachsende Anzahl von Hauterkrankungen aufmerksam geworden, insbesondere bei Säuglingen und Kleinkindern.

Mit der Studie wollen wir die Frage beantworten, ob es Faktoren gibt, die mit dem Mikronährstoffgehalt und ihren Anteilen zusammenhängen und die Anfälligkeit der Haut für Krankheiten erhöhen. Diese Arten von Störungen können aufgrund eines Überschusses oder Mangels an Inhaltsstoffen zu Stoffwechselstörungen führen und Krankheiten den Weg ebnen. Insbesondere erwarteten wir im Hautgewebe von Probanden, die unter Hauterkrankungen leiden, Unregelmäßigkeiten in den Zinkspiegeln und verringerte Siliziumspiegel, im Vergleich zu Probanden, die nicht von solchen betroffen sind.

Der wahrscheinlichste Kandidat für eine Differenzierung zwischen den Gruppen waren die Zinkspiegel. Hauptgrund dafür ist, dass Zink für die Funktion einer großen Anzahl von Enzymen sowie für die DNA-Synthese, Proteinsynthese und Zellteilung erforderlich ist. Studien zufolge beeinflusst ein Mangel an Zink die Immunität und kann Hautveränderungen verursachen (1, 2).

Festgestellt wird weiter, dass Silizium mit einer gesunden Bildung von Knochen und Bindegewebe zusammenhängt (3) und für die Bildung von Kollagen möglicherweise eine Rolle spielt, obwohl die genauen Mechanismen noch unbekannt sind. Es gibt auch Anzeichen dafür, dass Silizium die Aluminiumtoxizität teilweise verringert (4).

27 Personen mit einer klinisch diagnostizierten Hautkrankheit und 27 zufällig ausgewählte Personen ohne Hautkrankheiten nahmen an der Studie teil. Um jahreszeitbedingte Auswirkungen zu vermeiden, wurde die Studie über denselben Zeitraum hinweg durchgeführt.

Beschreibung des Testprozesses

Die quantitative Analyse durch Spektrophotometrie basiert auf der Messung der Absorption innerhalb des untersuchten Gewebes bei einer bestimmten Wellenlänge und unter Verwendung des Lambert-Beer-Gesetzes. Wenn das getestete System das Prinzip der Unkompliziertheit gemäß dem Lambert-Beer-Gesetz erfüllt, können auch die quantitativen Parameter der getesteten Inhaltsstoffe bestimmt werden.



Abb. 1. Spektrophotometrische OligoCheck-Sensoreinheit auf ihrem Ständer. Oben: Schaltfläche zum Einleiten des Scanvorgangs; unten (nicht sichtbar, im Ständer versteckt): Sensorkopf.

Die OligoCheck-Analyse wird mithilfe einer Sensoreinheit (Abb. 1) durchgeführt, die an einen Computer mit Internetzugang und installierter Herstellersoftware angeschlossen ist. Bevor Tests durchgeführt werden können, müssen grundlegende Patientendaten wie Geschlecht, Alter, Gewicht, Größe und Blutgruppe in die Software eingegeben werden. Der Test besteht aus 4 getrennten aufeinanderfolgenden Spektrumsmessungen auf der Handfläche des Probanden. Die Messwerte werden zur Verarbeitung über eine Internetverbindung an die Server weitergeleitet und innerhalb weniger Sekunden ist ein Ergebnisbericht verfügbar.

Die Anwendung der spektrophotometrischen OligoCheck-Methode erfordert die Verwendung eines Laserstrahls, der die Vorteile hat, nicht invasiv, schnell und kostengünstig zu sein. Dank dieser Merkmale war es einfach, die Zustimmung der Patienten zur Teilnahme an der Studie zu erhalten. Die Sensoreinheit ist kompakt und bedarf keiner langen Einrichtung, weshalb sie leicht zu transportieren ist.

Ergebnisse und Diskussion

Das Ergebnis unserer Untersuchungen zeigt, dass die Auswirkung der Abweichung des Chromspiegels von der Norm im Gewebe von Menschen, die an Hautkrankheiten leiden, statistisch signifikant ($p = 0,032$) ist, wobei in der untersuchten Gruppe ein Unterschied von durchschnittlich $-39,75$ pp (Prozentpunkten) beobachtet wurde (Abb. 4).

Chrom (III) spielt eine wichtige Rolle im Stoffwechsel von Kohlehydraten, Fetten und Proteinen (5). Niedrige Werte sowohl in der untersuchten Gruppe als auch in der Kontrollgruppe können durch schlechte Ernährungsgewohnheiten (Ernährung mit hohem Zuckergehalt) sowie mit einem hohem Stresslevel erklärt werden. Erhöhte Chromwerte (im Vergleich zur Kontrollgruppe) können mit der Exposition gegenüber Chrom am Arbeitsplatz oder in der Umwelt zusammenhängen.

¹A.E. (Autor Eins) und A.Z. (Autor Zwei) haben gleichermaßen zu dieser Arbeit beigetragen.

²Korrespondenz ist zu richten an E-Mail: asmozdrowie@gmail.com

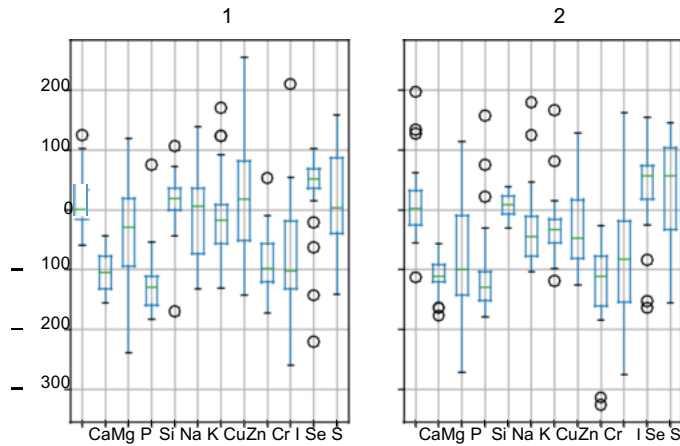


Abb. 2. Boxdiagramm der Analyseergebnisse für beide Gruppen.

Tabelle 1. Vergleich der Mittelwerte von zn, si und cr und ihrer Standardabweichung

Element	Gruppe	Mittelwert	Standardabweichung
Zn	1	15,08	108,15
	2	-28,26	71,18
Si	1	-123,96	51,92
	2	-105,33	78,24
Cr	1	-85,32	56,06
	2	-125,07	72,05

Gruppenübergreifender Cr-Unterschied, festgelegt mit $P < 0,05$

Während dreiwertiges Chrom in sehr hoher Konzentration bei chromempfindlichen Patienten Dermatitis hervorrufen kann, gehen wir davon aus, dass sechswertiges Chrom, eine wasserlösliche Form, die wahrscheinlichere Ursache ist. Es wurde in Spuren als unbeabsichtigtes Nebenprodukt der Oxidation von Cr (III) gefunden, das im Herstellungsprozess von gegerbten Lederprodukten verwendet wird (6).

Dieses Ergebnis (wie in Tabelle (1) gezeigt) weicht etwas von unseren Erwartungen hinsichtlich des Einflusses von Spurenelementen ab. Wie bereits erwähnt, erwarteten wir einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen Silizium und anderen Elementen. Unsere Studie ergab nicht, dass Silizium ein Differenzierungsfaktor zwischen der untersuchten und der Kontrollgruppe ist (Abb. 3).

Wir haben jedoch gezeigt, dass die Zinkspiegel in der untersuchten Gruppe offenbar stärker voneinander abweichen als in der Kontrollgruppe (Abb. 5). Dies stimmt mit unserer Erfahrung im Verlauf unserer Praxistests mit OligoCheck überein.

Fazit

Das Ziel dieser Studie war die Anwendung der OligoCheck-Technologie, um neue explorative Untersuchungen der Korrelationen zwischen bestimmten Störungen und Mikronährstoff-Ungleichgewichten voranzutreiben. Wenn eine solche Regelmäßigkeit festgestellt werden kann, ist diese eine Grundlage für weitere Studien darüber, ob diese Beobachtungen erfolgreich an größeren Proben reproduziert werden können, wodurch wir unsere Kenntnisse über mögliche Ursachen für die Entwicklung der Morbidität erweitern können.

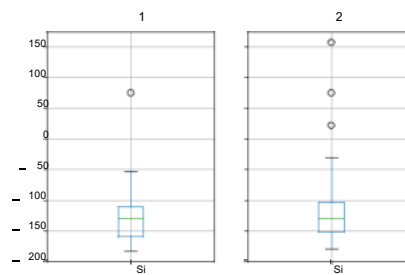


Abb. 3. Siliziumspiegel in den Gruppen 1 und 2

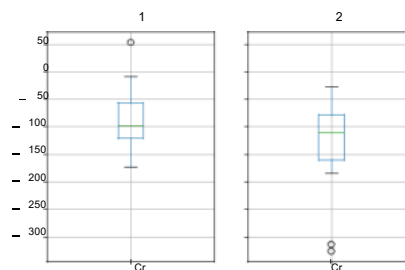


Abb. 4. Chromspiegel in den Gruppen 1 und 2

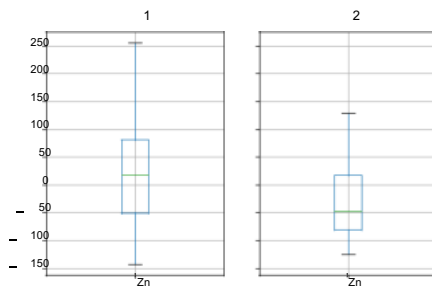


Abb. 5. Zinkspiegel in den Gruppen 1 und 2

Die vorangehende Studie ist eine Pilotstudie im Vorfeld einer umfassenderen Erforschung dieses Themas. Wir haben eine lokale Patientengruppe getestet, die an Dermatoze leidet und sie mit einer Kontrollgruppe von Patienten mit anderen Erkrankungen verglichen. Die getesteten Patienten wurden aus derselben Region ausgewählt und Tests wurden in derselben Jahreszeit durchgeführt.

Bei der Analyse der Ergebnisse haben wir bei Patienten mit einer Dermatoze einen höheren Chromgehalt und eine höhere Variabilität von Zink im Vergleich zu in der Kontrollgruppe gemessenen Werten festgestellt. Dies gibt Anlass zu einer weiteren Untersuchung des Themas, insbesondere angesichts der Tatsache, dass Chrom eines der Metalle ist, die häufig Kontaktdermatitis verursachen.

Weitere Klärungen eines möglichen Zusammenhangs zwischen Dermatoze, die durch Chrom oder andere Elemente ausgelöst wird und unregelmäßigen Zinkspiegeln, die wiederum die Chromempfindlichkeit im Gewebe erhöhen können, sind erforderlich.

1. Prasad A (1995) Zinc: An overview. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif). 11:93-9.
2. Rink L, Gabriel P (2000) Zinc and the immune system. *The Proceedings of the Nutrition Society* 59: 541-52.
3. Jugdaohsingh R (2007) Silicon and bone health. *The journal of nutrition, health & aging* 11:99-110.
4. Birchall JD, Espie AW (2007) Biological Implications of the Interaction (Via Silanol Groups) of Silicon with Metal Ions. (John Wiley & Sons, Ltd), pp. 140-159.
5. Mertz W (1993) Chromium in human nutrition – a review. *The Journal of nutrition* 123:626-33.
6. Hansen M, Rydin S, Menné T, Johansen J (2002) Quantitative aspects of contact allergy to chromium and exposure to chrome-tanned leather. *Contact dermatitis* 47:127-34.

4.4.4 Ergebnis und Gutachten über die non-invasive zelluläre Mikronährstoffanalyse

Dr. med. Marion Ljuba



**Bericht bzw. Ergebnis und Gutachten über die
non-invasive zelluläre Mikronährstoff-Analyse sowie
zusätzliche Schwermetalltests als Ablagerung im Gewebe
mit dem OLIGOSCAN**

Gutachten aus der
Privatpraxis
Dr. med. univ. Marion Ljuba
Fachärztin für
Kardiologie (Herz-Kreislauf & Gefäße)
Interne Medizin mit Physiologiediagnostik & Regulationsmedizin
Allgemeinmedizin & Ernährungsmedizin

Ort: A-9020 Klagenfurt, Kardinalplatz 9

Datum: 24.Jänner 2013

Dr. Marion Ljuba

Fachärztin für Innere Medizin
und Kardiologie
Kardinalplatz 9
A-9020 Klagenfurt
Ordination nach Vereinbarung
Tel. 590 20 01 od. 0664 / 340 49 11

Unterschrift / Stempel

Adresse: A-9020 Klagenfurt
Kardinalplatz 9

Kontakt:
Tel.: +43 0463-5902001
e-Mail: dr.ljuba@herzcenter.at
marion.ljuba@aon.at
www.dr.ljuba-medizin.at

Das Messsystem.:

Der Oligoscan erlaubt, die Technologie des Spektrometers Raman zu nutzen, eine Methode zur schnellen Bioanalyse, einfach zu handhaben und mit wertvollen Hinweisen für eine gute Beratung des Patienten.

Das Niveau der Spurenelemente und Mineralstoffe in den epithelialen Zellen gibt die für einen funktionierenden Stoffwechsel im Gewebe gelagerten Mineralstoffe an. Deshalb kann man Defizite oder Mängel zuerst in den Epithelzellen erkennen, oft schon Monate oder Jahre bevor die Serumwerte abweichen. Bisher war es sehr schwierig und kostenintensiv die Biodisponibilität der Mineralstoffe und Spurenelemente zu messen:

Die im Serum gemessenen Werte geben die Mineralstoffe an, die zum Zeitpunkt der Entnahme im Blut zirkulieren – es sind schwankende Werte. Die Werte im Urin gemessen, sind Werte der ausgeschiedenen Mineralstoffe. Sie sind ebenfalls schwankend.

Die Mineralienanalyse über die Haare zeigt, was im Stoffwechsel bereits in der Vergangenheit (fast bis zu 3 Monaten her) geschehen ist, und ist sehr empfindlich gegenüber den Stoffen mit denen das Haar in Berührung kommt: Färben, Abgase und sonstige Umwelteinflüsse.

Aus diesen Gründen sind die epithelialen Zellen das Auswahlkriterium, wenn man die Mineralstoffreserven des Körpers erkennen will. Der Oligoscan ermöglicht das „mineralische Terrain“ und die Schwermetall-belastung der Klienten zu bestimmen. Bei Praxisanwendungen können schnelle Bilanzen erstellt werden, zuverlässig und genau, um den Bedarf objektiv zu bestimmen.

zellulären Bindegewebe – mittels des Raman-Laser- Spektrometers möglich?

3. Auswertungs- oder Analyse-Stabilität bei Wiederholuntersuchungen

4. Vergleichsuntersuchungen von Mikronährstoffen und Schwermetallen im Bindegewebe und Blut (Teilblut ca. 85%)

Oligoscan -Test:

Seit Mai 2012 wurden in unserer Praxis ca. 650 Tests mit dem Oligoscan durchgeführt. Ab Juli 2012 wurde eine neue Software für die offizielle Testserie programmiert.

Mit der neuen Software ist es möglich die Mikronährstoffmessung über oberflächennahe Blutgefäße aus dem Blut und wie üblicherweise in den epithelialen Zellen des Gewebes durchzuführen. Dadurch konnten bessere Vergleiche und Gegenüberstellungen realisiert werden, was wiederum auch eine sichere Qualitätsbestimmung leichter und übersichtlicher machte.

Ab Juli 2012 bis Mitte Dezember (5 Monate) führten wir mit bestimmten festgelegten Vorgaben den Test bei 59 verschiedenen Personen/Probanden mit Wiederholuntersuchungen durch. Das gesamte Vorhaben ist in 4 Gruppenanalysen aufgeteilt.

Die 59 Personen sind in unserer Praxis gut bekannt, hinsichtlich der sonstigen Laborwerte, Physiologie, Anamnese und Psychosomatik (in etwa auch der Lebensstil). Damit erhalten wir auch sicherlich – trotz ausgeprägter Individualität der einzelnen Personen – eine eingrenzbar Beurteilung der Ergebnisse.

Aufklärung und Feststellung für den Einsatz des Oligoscan:

Feststellungsfragen:

1. Ist der Oligoscan in der Medizin oder für den Gesundheitstest als Testgerät einsetzbar?

2. Ist die non-invasive Applikation für die Mikronährstoffanalyse und Schwermetalltests im

5. Applikationssicherheit und beste Möglichkeiten mit neuen Erkenntnissen

6. Neue sonstige Erkenntnisse und Vorteile gegenüber anderen angewandten Methoden oder Möglichkeiten

Gruppe A bestehend aus 43 Probanden, bei denen innerhalb von 5 Monaten 3 Messungen im Abstand von 6 – 8 Wochen durchgeführt wurden, ein kleiner Teil von 17

Ergebnisse:

Schwermetallanalyse:

Die nGruppe der 21 Personen (15 mit Lebensstilveränderung) haben erkennbare Verbesserungen der Schwermetallausleitung oder Minderung; diese aber unterschiedlich verteilt. Dies ist durch die Individualität der Personen nachvollziehbar.

Die wiederholte Testmessung bestätigt dies mit Schwankungen von 4 bis 8 %.

Weiterhin waren die Werte bei der Erstmessung im Blut viel geringer als im Gewebe.

Bei der 3. Messung waren Blut und Gewebe deutlich geringer und der Unterschied zwischen

Blut und Gewebe ebenfalls.

Dies ist fast logisch und erwartet worden und mit dem Oligoscan sehr gut analysiert.

Mikronährstoffanalyse:

Bei den 26 Personen ohne Lebensstilveränderung waren die Werte im Inhaltsvergleich bei allen 3 Messungen schwankend von 5 bis 20%;

Dies war bei Blut und Gewebe gleich. der Menge sehr unterschiedlich (Ernährungsbedingt, Altersunterschiede usw.).

Bei allen 3 Zyklen lagen die Ähnlichkeiten mit durchschnittlicher Abweichung von ca. 15 %.

Die Schwermetallbewertungen nahmen bei einigen Personen im Laufe des Tages zu. Aber dies war wiederum bei allen 3 Zyklen ähnlich.

Bei Gewebe:

Je nach Belastungen (körperliche Anstrengungen oder sonstiger Stress - Berichte v.

Personen) nahmen die Werte der Analysen von Morgenmessung über Mittag zur Abendmessung ab. Dies ist bekannt und wurde auch entsprechend vom Oligoscan

Personen stellten auf einen bewussteren Lebensstil um;

die anderen blieben konstant im bisherigen Lebensstilverhältnis 21 Personen haben neu mit Algen- oder Zeolith-Therapie begonnen. Vergleicht man diese Wertschwankungen mit den neuen Anamneseaussagen, dann lassen sich diese Schwankungen aus dem Personenverhalten klar erklären.

Somit zeigt der Oligoscan eine ausreichende genaue Aussage.

Auf die Tageszeiten wurde aber in diesem Fall nicht geachtet, daher auch die Streuwert Toleranzen etwas weiter (siehe Gruppe B).

Gruppe B:

Bestehend aus

11 Personen

Strategie:

Innerhalb von 12 Wochen 3 Messzyklen, d. h.:

Jede Person hat 3 Messzyklen, am Messtag 6 Messungen (ohne Wiederhol- oder Bestätigungsmessung)

Morgen – Mittag - Abend mit Bluttest und Gewebetest

Alle Personen hielten ihren Lebensstil konstant (laut Anweisung und Berichte)

Ergebnisse:

Bei Blut:

Von der Morgenmessung zur Abendmessung sind fast alle

Mikronährstoffe gestiegen aber in wiedergegeben.

Dadurch sind bei allen 3 Zyklen die Abweichungen verständlicherweise zueinander etwas größer – zwischen 10 bis 20 % (aber mit gleichen Tendenzen).

Die Schwermetallbewertungen blieben am Tag bei 3 Messungen fast stabil (Abweichungen von ca. 5%). Auch für die 3 Zyklen zusammen betrachtet sind die Analysewerte ziemlich stabil, ebenfalls 5 bis 8 % Abweichung.

Aus medizinischer Sicht sind diese Werte zur Anamnese und Psychosomatik der verschiedenen Personen tendenzmäßig genau und ausreichend sensibel dargestellt.

Gruppe C

Bestehend aus:

9 Personen (klinische Patienten)

Strategie:

Vergleichstest mit Oligoscan-Methode und invasiven Blutlaboranalysen. Zwei Messungen im Abstand von ca. 8 bis 10 Wochen mit Therapie (Therapien mit Einnahme von Zeolith + sonstigen Nahrungsergänzungen und Medikamenten) (Vergleichstest als Blindstudie)

Mit dem Oligoscan wurden am Messtag 3 Messungen (morgens, mittags & abends) durchgeführt und zwar Gefäß- und Gewebemessung.

Die dazu gehörenden Blut-Laboranalysen wurden 1- 2 Tage davor oder danach durchgeführt.

Ergebnisse:

Bei der Erstmessung konnte man feststellen, dass die Gefäß-Blutmesswerte vom Oligoscan und die Blut-Laboranalyse bis auf 3 Mineralien fast gleich waren und für 3 Mineralien eine Abweichung von ca. 15 – 20% (diese Abweichungen sind ohnehin am Tag organisch gegeben) gemessen wurden.

Bei der Zweitmessung nach Therapie ergaben sich ähnliche Verhältnisse, wenn man die Blutgefäßmessung mit den Blut-Laboranalysen vergleicht.

Oligoscan-Vergleichs-Tests:

Grundsätzlich waren die Schwermetallanteile bei Gefäßmessungen immer etwas niedriger und ca. 10 bis 15% differenzierter als bei der Gewebemessung (sowohl bei allen Verlaufsmessungen).

Dies bestätigte sich auch bei den direkten Wiederholmessungen (Qualitätsabsicherung). Auch stellten wir fest, dass durch die Therapie sich die Testwerte zugunsten des Patienten verbessert haben, und zwar die Testergebnisse aus der Gefäßmessung sich schneller verbessert haben, als die im Gewebe.

Dies ist eine ausschlaggebende Aussage, bezüglich der Bewertung, welche Messmethode für die Verlaufskontrolle oder Therapieansätze eher Nutzen finden sollte.

Aber beim Gewebe waren die Werte in der Gesamtheit der Intensitäten etwas niedriger und

die Streuung der einzelnen Mineralien unterschiedlich etwas größer.

Medizinisch gesehen ist dies logisch und bekannt, dass im Gewebe (wichtigere Bewertung als Blut) bei dieser Fallbeschreibung die Mineralwerte allgemein niedriger sind, als im Blut.

Auch in dieser Gruppenanalyse hat sich der Einsatz oder die Benutzung des Oligoscan bewährt und findet hiermit die geforderte Anerkennung.

Gruppe D

Spezieller Schwermetall – Test als Vergleichstest mit der Blutlaboranalyse bei 4 Personen mit hohen Schwermetall-Belastungen

Strategie: Testzeit ca. 4 Monate

Mit dem Oligoscan wurden 4x 2 Messungen (Blutgefäße und Gewebe) durchgeführt.

Zur Sicherstellung der Mess-Sensibilität und der -stabilität wurde nach jeder Oligoscan-Messung direkt eine Wiederholmessung durchgeführt. Die Blut-Laboranalyse bei Beginn und Ende der Therapie (Ausleitung).

Ergebnisse:

Gewebmessungen scheinen wichtiger zu sein, als die Messungen im Blut, wenn es sich um die Schwermetalltests handelt.

Die sicherste Form ist bestimmt die Stanzmethode, aber wiederum kaum als Standardmessung denkbar. Eine Oligoscan-Methode mit einer Stanzmethode konnte aus ethischen und finanziellen Gründen nicht durchgeführt werden.

Auch ist und sollte der Einsatz des Oligoscan vorerst nicht in der hohen Wissenschaft seinen Platz finden. Der Oligoscan kann aber durch die bisherigen Testergebnisse, dennoch zum Zwecke von Statistiken mit vielen Personenuntersuchen für die Wissenschaft nützlich sein.

Bei allen Tests ist und wird beim Oligoscan immer parallel zur Mikronährstoffmessung die Schwermetallanalyse durchgeführt und dokumentiert (näheres in der Zusammenfassung).

Zusammenfassung und Schlussfolgerung:

Der Oligoscan - ein Raman Spektrometer - für die non-invasive Mikronährstoffanalyse und Schwermetallbelastung im menschlichen Gewebe (epithelialen Zellen) oder Blut (aus Blutgefäßen mit kleinem Gewebsanteil 85 – 15 %).

Alle bereits kurz erläuterten Testserien oder Testgruppen haben gezeigt, dass das System „OLIGOSCAN“ die eben genannte Aufgabe ermöglicht und dass man dieses Verfahren als Untersuchungsergänzung in der Medizin anwenden kann.

Für die IST-Zustandsmessung und für die Erstbeurteilung der zellulären Mikronährstoffgehalte oder zellulären Wechselstörungen ist der Einsatz des Oligoscan zufriedenstellend sensitiv und qualitativ verwendbar.

Die Sicherheit auf höchste Genauigkeit oder genau wiederholbare Messergebnisse lässt sich aus vielen anderen Erfahrungen nicht gänzlich behaupten, da man es grundsätzlich

mit IST- Zustandsmessungen und mit vielen Unbekannten (ohne begrenzbareren Wertkorrekturen) des individuellen Körpers zu tun hat, was keine 100%-ige Beurteilung zulässt.

Schwankungen von ca. 3 bis 8 % sind für Standardmessungen zulässig.

Manchmal entstand der Verdacht, dass das System oder die Messung mit dem Raman-Spektrometer viel sensibler ist, als die vorgegebenen Forderungen.

Nach den bisherigen Erfahrungen und der Zusammenstellung der Auswertungen kann man die Bewertung der Datentabelle auf über 80 bis 85 % der tatsächlichen Gegebenheiten schätzen.

Mit der jetzigen Ausführung (auch Software) will und kann man nicht die bisherige Laboranalysetests ersetzen, sondern sie dient vielmehr als eine ergänzende Methode.

Daher soll die Anwendung des Oligoscan in der Präventions-Medizin und Ernährungsmedizin sowie Lebensstilberatung eingesetzt werden.

Besondere Bemerkungen zu OLIGOSCAN – Gutachten

1. Applikation:

Bevor die Testserien für das Gutachten gestartet wurden, haben wir zunächst die vom Hersteller empfohlene Applikation untersucht.

Der Handscanner des OLIGOSCAN ist einfach und sicher zu bedienen.

Der Scan ist leicht und sicher reproduzierbar. Dies wird durch die 4 – Punktscannung zusätzlich gesichert.

Die Innenhand- Fläche von der Nichtaktivhand ist gut geeignet.

Die Hautfarbe bleibt in der Innenhand für das ganze Jahr (fast lebenslang) gleich und es sind

auch kaum Pigmentstörungen zu erwarten, auch bei dunkelfarbigen Menschen. Bitte keine Reinigungs- oder Desinfektionsmittel anwenden. Innenhand muss trocken sein.

Für die Bluttests wurde nach vielen Einzeltests die Handarterie von der Nichtaktivhand festgelegt.

Diese Arterie . mit Nachbargefäßen liegt ziemlich nah an der Oberfläche, und dazwischen ist kaum Gewebe (Haut und Gefäßwand).

Die angegebene Messtiefe von 3,5 bis 4,5 mm wird gewährleistet und dadurch ist diese Bluttestapplikation möglich.

Aktiv-Hand und Nichtaktiv-Hand zeigen bei den Gewebemessungen unterschiedliche

Werte und dies auch zu verschiedenen Tageszeiten. Die Nichtaktiv-Hand ist für zuverlässige Auswertungen weniger belastet und dadurch für Vergleichsmessungen eher geeignet.

Messvergleiche und Messzeiten

Wir haben beim Vergleichen von Vortests (Applikationstests) bei den gleichen Personen feststellen können, dass sich die Blutwerte sehr oft zu den Gewebewerten in den Auswertungsanalysen entgegen gesetzt verhalten.

Blutwerte nahmen häufiger zu (bedingt durch die Ernährung + Gesundheitszustand)

Gewebewerte änderten sich entgegengesetzt abnehmend, bedingt durch Bewegung und sonstigen Stress.

Einige Analysen zeigten die Mikronährstoffe im Gewebe unterschiedlich stark zu einander; zum Abend abnehmend (z. B. Zink, Magnesium, Kalzium und Schwefel). Es sind auch die Mikronährstoffe die ohnehin in kurzer Zeit abhängig von Ernährung – Bewegung - Stress sich leicht und Inhaltmäßig im Gewebe verändern.

In den Analysen von Blut aus den Blutgefäßen sind die Schwankungen zu den Abendmessungen etwas streuend zunehmend.

Resultat:

Blutanalysewerte sind morgens immer etwas niedriger als abends.

Gegensätzlich war dies im Gewebe – morgens höher als abends.

Daher haben wir viele Tests bei gleichen Personen zu 3 Tageszeiten (morgens - mittags - abends) durchgeführt. Ganz besonders verglichen in der Testgruppe C.

Hiermit stellten wir wiederum fest, dass sich die Oligoscan-Analyse hinsichtlich Qualität oder Sensitivität sehr gut bewährt hat.

Wir stellten dies beim Vergleich mit Gefäßblut und Blutlabor Analysen ebenfalls fest.

Beide mussten zur gleichen Tageszeit durchgeführt werden, sonst waren die Streuungen vorhanden.

Aus dieser einfachen Möglichkeit, die uns der Oligoscan zeigte, bieten sich weitere Diagnosen für die Mikronährstoffe an, ganz besonders um diese Wechselwirkungen in Gewebe und Organen zu erschließen (für die wirklichen notwendigen Therapien wichtig).

OLIGOSCAN – Spezialtest

Ergänzung zum I. OligoScan – Gutachten

Im I. Gutachten wurde die Messfähigkeit des OligoScan und die Vergleichbarkeit von Blut- & Gewebe-Analysen betrachtet und bewertet.

Die Ergebnisse zeigten, dass die neue noninvasive Messmethode mit dem OligoScan für die zelluläre Mikronährstoffanalyse und die zelluläre Schwermetallanalyse für den medizinischen Einsatz möglich ist.

Da jeder Testklient eine unterschiedliche Mikronährstoff hat, sind die Werte im Blut manchmal in der Realität anders als im Gewebe. Daher ist der Vergleich mit Blutanalysen im Labor etwas anders, aber die Analyse-Tendenzen ähnlich gleich.

Dadurch wurde diese Ergänzung zu Gutachten durchgeführt, um festzustellen wie gut ist wirklich die Messsensibilität des OligoScan und ganz besonders die Analyse-Stabilität bei unmittelbaren Vergleichstests von gleichen Testpersonen.

Inhalt des Ergänzungs-Gutachten:

- A. Analyse-Stabilität und Sensibilität bei unmittelbaren Wiederholtests
- B. Applikations-Sicherheitstest
- C. Verfügbarkeit der Analyse-Daten
- D. Kommunikations-Leistung und – Service über und von einem Sever
- E. Zusammenfassung

In diesem Ergänzungsvorhaben nahmen 33 Personen/Klienten teil.
Es wurden bei jedem im Durchschnitt 2-3 Tests innerhalb von 3 – 5 Minuten an den fest vorgegebenen Applikationspunkten durchgeführt.

Bei 11 von den 33 Personen/Klienten wurden zusätzlich 2 – 3 Tests für die Sensibilität und für die Qualität der Applikationspunkten gemacht und verglichen.

Thema A.: Analyse-Stabilität & Analyse-Sensibilität bei unmittelbaren Wiederholtests.

33 verschiedenen Personen/Klienten wurden an den vorgegebenen 4 Applikationspunkten getestet. Vorerst kennen wir keine andere bzw. bessere Alternative für diese Applikationsfläche als die Innenhand der nichtaktiven Hand.

Weiterhin gut ist die nichtaktive Innenhandhaut als Applikationsort geeignet, da sie in den verschiedenen Jahreszeiten mit verschiedenen Lichteinflüssen keinerlei Pigmentstörungen oder Veränderungen aufweist. Ebenfalls sind auch die Personen mit anderer Hautfarbe an dieser Applikationsfläche sehr ähnlich und somit gleichfalls für diese Analyse testbar.

In der Regel wurden bei jeder Testperson 2 Tests innerhalb von 3 -5 Minuten Messzeitabstand durchgeführt.

Bei 11 Personen 3. und 4. Test für die Feststellung der Sensibilität und ganz besonders für die Qualität der Applikationsfläche.

Bei den Mineral/Spurenelemente – Analysetabelle sind die Werte bei 23 Testpersonen fast identisch gleich. Bei den restlichen 10 Personen ergaben sich 2 -5 % geringe Abweichungen.

Bei einer entsprechenden Vorsorge an den Applikationsflächen erhielten wir dann bei der 3. und 4. Testversuche eine Analysestabilität von 85 -90 % (Vorsorgebericht bei Thema B)

Die 2. Tabelle zeigt die Analyse der Schwermetalle im Gewebe. Die Auswertestabilität lag bei ca. 85 – 90 %. Jedoch lagen die Vergleichswerte nach einer Vorsorge der Applikationsflächen fast gleich – so ideal, dass sich jede weitere Diskussion erübrigt.

Die 3. Tabelle zeigt sehr gute Aussagen über die Beziehungen zwischen den Mineralien bzw. Mineralpaarungen. Hiermit lassen sich gewisse Gesundheitszustände erörtern und diese haben mit den Anamneseberichten einiger Testpersonen (13) eine sehr gute Übereinstimmung gezeigt. Auch die Vergleichsdaten dieser Analysen sind bis zu 95 % identisch.

Als letzteres wird ein der Oxidativ- Stress –Zustand (im Gewebe) in Prozente mit der Ampeldarstellung interpretiert. Die Ampeldarstellung zeigt den Zustand zwischen 1 – 25 %.

Auch hier liegt die Auswertestabilität bei Wiederholtests bei ca. 95 – 100 %

Thema B: Applikationsqualität und –Sicherheitstests

Folgende Applikationskriterien sind gegeben oder einzuhalten:

Applikationslokalität sind 4 festgelegte Punkte in der nichtaktiven Innenhand (außer bei Verletzungen).

Die nichtaktive Hand liegt entspannt und locker (ohne Muskelanspannung) mit der Rückhand auf eine stabile Unterlage.

Die beste und sicherste Sensibilitäts- und Stabilitätsfaktoren sind dann gewährleistet, wenn die Applikationsfläche der Innenhand mit Destillierwasser (mit Tupfer) kurz gereinigt ist.

Auch nur mit schacher trockner Oberflächenreinigung ergaben sich erstaunlich gute Werte, da sicherlich der Hersteller in der Software die Messdaten der Haut und der Hautoberflächen nicht in die Analyse integriert.

Zu empfehlen ist auch nach jeder Messung die Reinigung (trocken oder mit Destillierwasser) am Scanner – vorsichtig den Scanner nach unten halten, damit die Lichtquelle nicht beschädigt wird.

Als Reinigungsmittel für Haut und Scanner bitte kein Reinigungsmittel, Alkohol oder Desinfektionsmittel verwenden.

Thema C: Verfügbarkeit und Nutzen der Analysedaten vom OligoScan

- 1). Die notwendigen Personaldaten der Test-Personen sind Ausreichend gegeben.
Lediglich würde die Uhrzeitangabe die Tageszustands-Beurteilung besser bewerten.
(Ursachen-Betrachtung erleichtern und ergänzen).
- 2). Die persönliche Blutgruppenbestimmung ist lediglich eine kleine Barriere macht
dadurch sehr genaue Messung. Eine Alternative wäre bei einer unbekanntem Blut-
gruppe, dass man (wie der Hersteller es empfiehlt) die Blutgruppe „0“ angibt.
Hierbei leidet die zuverlässige Genauigkeit – bei einigen Mineralien können
Schwankungen von 20 -25 % auftreten. Besonders sind die Abweichungen bei Zink,
Magnesium; Phosphor, Schwefel und Selen. Die Schwermetallanalysen weichen aber
nur ca. +/-10% ab. Diese Erfahrungen wurden bereits im I. Gutachten erworben.
- 3). Die Aufteilung der gesamten Analysedaten auf eine DIN A4 Datenblattseite unter zu
bringen, ist hervorragend gelöst und klassisch dokumentiert.
- 4). Die Dokumentation der Datenzahlen vom IST-Zustand und Tolleranzliste ist gut erfüllt.
Desweiteren sind die Balken-Grafiken mit den Ampelfarben für Normal/Low/kritisch
Low bei Plus- und Minusseiten übersichtlich zu erkennen.

Durch dieses Datenblatt-Design sind die Analysen für Jedermann leicht und gut zu verstehen. Auch können in einem Archiv für den Anwender die alten und neuen Testdaten einfach leicht benutzt werden.

Thema D: Die Kommunikationsleistungen über den Server-Service.

- 1). Die ist in keiner Weise zu verspüren, dass die Testdaten über einen dezentralen Serversystem analysiert wird.
- 2). Die Ergebnisse sind so schnell vorhanden, wie die Bedienung am Scanner-Computer (innerhalb von 1-3 sec).
- 3). Durch die Server-Lösung sind die Testkosten für den Klienten um ein vielfaches günstiger (in Deutschland/Österreich/Schweiz um das 10-fache).
- 4). Diese Auswertemethode mit dem Server-Service ermöglichen eine echte IST-Zustandsanalyse im zellulären Gewebe.
- 5). Dadurch können die Therapiemöglichkeiten im gleichen Messmoment empfohlen werden.
- 6). Die vier Messpunkte und deren Werte dienen zu Applikationssicherheit. Trifften die Messpunktwerte zu weit auseinander, dann werden diese Messungen vom Server-Service gesperrt und es kommt zu einer Anforderung für eine Testwiederholung.
Die neue Messmethode mit dem OligoScan erfüllt hiermit eine zusätzliche Sicherheit auf die Applikation und die daraus folgende Auswertung.

4.4.5 Warum sich eine Schwermetallausleitung mit einer Spektral-photometrische Messung gut verfolgen lässt.

Vorteile gegenüber den klassische Provokationstest mit DMPS und warum es häufig mit einer DMPS-Provokation keine Vergleichbarkeit gibt.

Jesse de Groodt

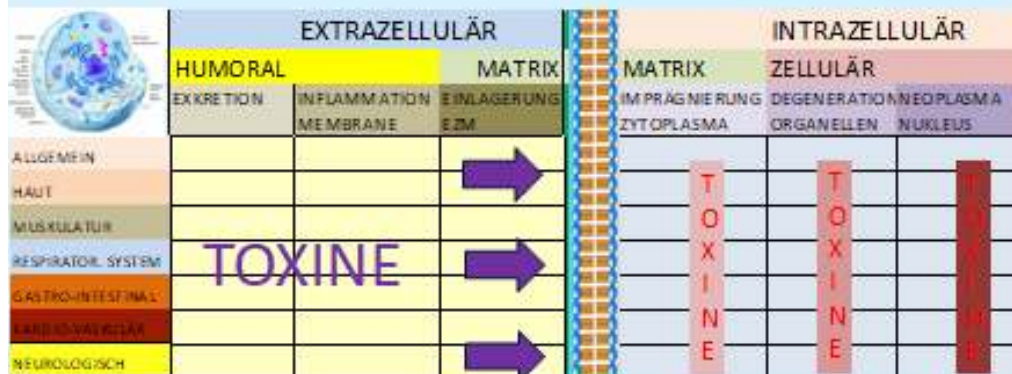
In Bezug zur klassischen Schwermetalldiagnostik werden chelierende Substanzen verwendet wie DMPS, DMSA oder EDTA. Diese Substanzen haben die Möglichkeit Schwermetall zu binden und über die Niere ausscheidungsfähig zu machen. Die Schwermetallkonzentration im Urin wird dann vor der Verabreichung dieser Substanzen kontrolliert und anschliessend nach der Verabreichung verglichen.

Die Diagnostik beruht somit auf einen Vergleich zwischen den Metallkonzentrationen, die vor- und nach dieser Provokation im Urin gemessen wurden.

Dass es auch hier in der Regel nicht immer möglich ist, vergleichbare Werte mit dem Spektralphotometer zu beobachten, ist eigentlich logisch, denn die Metallkonzentrationen, die im Urin auftauchen, werden stark beeinflusst durch die Mobilisations- und Ausscheidungsmöglichkeit des Individuums:

1. Beispielsweise ist es bei der DMPS/DMSA- Mobilisierung und dem Abtransport des Quecksilbers typischerweise anders als bei einer Leberentgiftung, denn die Ausscheidung erfolgt praktisch vollständig über die Nieren. Möglicherweise ist die chronisch belastete Niere auch gar nicht mehr in der Lage, Quecksilber auszuschleiden? So kann man auch bei chronischen Vergiftungen, mit hohen intrazellulären SM-Konzentrationen, nach einige Chelatierungen noch kaum Quecksilber und andere Metalle im Urin finden obwohl die Gewebemessung noch erhebliche Belastungen zeigen.
2. Die mit dem OS im Gewebe festgestellte typische Stagnation der Quecksilberwerte ist ein Zeichen dafür, dass mit weiteren DMPS-Ausleitungen vermutlich keine weiteren Erfolge zu erwarten sind, denn die Schwermetalle sind „gefangen in der Zelle“ und können mit extrazellulär wirkenden Chelatoren nicht mehr cheliiert werden. Die intrazelluläre Entgiftung wird ebenfalls oft stark blockiert, wenn beispielsweise die «Fluidität» der Membranen stark beeinträchtigt ist durch Membranschädigungen und fehlenden Einbau der Omega-Fettsäuren und/oder zu vieler gesättigten Fette in den Zellmembranen. Wenn die Doppelbindungen der Fettsäuren nämlich kaum noch vorhanden sind, fehlen auch die „Fettsäuren-Scharniere“, die diese Fluidität gewährleisten.

Toxine bewegen sich von extrazellulär nach intrazellulär über die Membran



3. Andererseits ist die Bindungsaffinität der Metalle, je nach verwendeten chelierenden Substanzen, stark unterschiedlich und vor allem auch das Medium, wo diese Substanzen chelierend wirken können (extra- oder intrazellulär). Fettlösliche Chelatbildner können in der Zelle wirken, während wasserlösliche Chelatbildner auf den extra-zellulären Raum beschränkt sind.

Die Zellmembran besteht aus Fett und deshalb können nur fettlösliche Chelatbildner wie liposomales Glutathion, ALA (Alpha-Liponsäure), Phycocyanide oder Koriander gut in die Zelle gelangen.

DMPS, DMSA sind nur schlecht fettlöslich und deshalb ist ihre Verteilung im Körper nur extra-zellulär.

Bei einer hohen intrazellulären Belastung, keine Übereinstimmung mit DMPS-Provokation

	EXTRAZELLULÄR			MEMBRAN	INTRAZELLULÄR		
	HUMORAL		MATRIX		MATRIX	ZELLULÄR	
	EXKRETION	INFLAMMATION MEMBRANE	EINLAGERUNG EZM		IMPRÄGNIERUNG ZYTOPLASMA	DEGENERATION ORGANELLEN	NEOPLASMA NUKLEUS
ALLGEMEIN	Hg	Hg					
HAUT	Hg	Hg					
MUSKULATUR							
RESPIRATOR. SYSTEM	Hg	Hg					
GASTRO-INTESTINAL		Hg	Hg				
KARDIO-VASULÄR							
NEUROLOGISCH							

Je nachdem, ob die SM-Belastung extra bzw. intrazellulär vorliegt, macht es also Sinn, unterschiedliche Chelatbildner zu nehmen.

Für diejenigen, die keine Möglichkeit haben, mit solchen DMPS, DMSA, EDTA zu arbeiten, zeigen auch natürlichen Substanzen (wie Braunalgen, Phycocyaniden, Glutathion, Alphaliponsäure, Resveratrol, etc ...) sehr gute Erfolge.

Die Schwermetallkonzentrationen, welche spektralphotometrisch gemessen werden, sind den verschiedenen Eigenschaften der Chelatoren nicht unterworfen und darüber hinaus finden sich die gemessenen Konzentrationen sowohl intra- als extrazellulär.

Spektralphotometrisch misst man 70 % intrazellulär und 30 % extrazellulär. Ob die Schwermetalle organisch oder anorganisch molekular gebunden sind in Enzymen, Proteinen, in der Zellmembran oder dem Zellkern spielt für diese Messmethode keine Rolle!

Die Behauptung vieler Labore, die Spektralphotometrie messe falsch, weil man es nicht mit den gängigen Testmethoden validieren kann, ist schlichtweg unhaltbar, denn das eigentliche wichtige Geschehen spielt sich auf der lebendigen Zellebene ab und alle Messverfahren, welche Metalle über die Ausscheidung testen, sind als indirekte Diagnosemethoden zu betrachten und sind anderen physiologischen Prinzipien unterworfen.

Da eine Mobilisation von Schwermetallen standardmässig einen ausreichend gefüllten «Thiol pool» (schwefelhaltige Aminosäuren) erfordert, kann man auch bei den spektralphotometrischen Nachkontrollen feststellen, dass die Schwermetall-Konzentrationen des Gewebes ebenfalls ansteigen können, wenn durch Einnahme von liposomales Glutathion oder ALA (Alfaliponsäure) die SM-Ausscheidung und Mobilisation in Gang gesetzt wird.

Ob man mit einem solchen Phänomen rechnen muss, wird beim Test mit einem Hinweis des Parameters „Sulfokonjugation“ oder früher beim OligoScan „Verdacht der Blockierung der Ausleitung toxischer Metalle durch Fehlen von Schwefelverbindungen“ angezeigt, wo eine allfällige Blockierung in Prozenten angegeben wird.

Durch eine Optimierung der Entgiftungskapazität und Mobilisation der Schwermetalle aus anderen Körperdepots (Leber, Fettgewebe, Gehirn, Knochen, Darm, Drüsen, etc.) wird man zunächst auch vermehrt Schwermetalle über die extrazelluläre Matrix der Hände messen können (die Hände können als Spiegel des Entgiftens betrachtet werden). Aus diesem Grund ist es durchaus gut möglich, dass man mit einem Provokationstest anfänglich eine höhere SM-Ausscheidung feststellt als die gezeigte Metallbelastung mit der spektralphotometrischen Messung. Dies kann vor allem dann auftreten, wenn die Entgiftungs-/Mobilisationskapazität durch fehlende schwefelhaltige Aminosäuren beeinträchtigt wird (dieser Hinweis ist ebenfalls im Messresultat ersichtlich als Sulfokonjugation).

Während bei der DMPS-Provokation, auf Grund der unterschiedliche Bindungsaffinität der Metalle und Unfähigkeit intrazellulär Metalle zu binden, sieht man bei einer kombinierte DMSA/EDTA Provokation, was ein viel breiteres Spektrum bindet, eine hervorragende Vergleichbarkeit. Dies gilt jedoch nur dann, wenn mehrheitlich die Schwermetalle sich extrazellulär aufhalten:

Befundbericht

Patient: Re [REDACTED] Th [REDACTED] Geboren: 31.05.1952
Geschlecht: männlich Urinprobe vom: 27.10.2014
Berichtsdatum: 10.11.2014

Die Ergebnisse sind nach einer Mobilisation mit:
1000 mg DMSA oral und 750 mg NaCa-EDTA subb. Im 4 Stunden Sammelurin gemessen.

	Ergebnis	Referenzwerte	Beurteilung
Aluminium	3,9	<< 25,0 µg / g Krea.	
Arsen*	19,3	<< 10,0 µg / g Krea.	+
Blei	38,8	<< 10,0 µg / g Krea.	++
Cadmium	nicht nachweisbar	<< 1,0 µg / g Krea.	
Gold	nicht nachweisbar	<< 2,0 µg / g Krea.	
Kupfer	215,8	30 - 150 µg / g Krea.	+
Palladium	nicht nachweisbar	<< 1,0 µg / g Krea.	
Platin	nicht nachweisbar	<< 1,0 µg / g Krea.	
Quecksilber	1,9	<< 1,0 µg / g Krea.	+
Silber	3,8	<< 3,0 µg / g Krea.	+
Zinn	nicht nachweisbar	<< 10,0 µg / g Krea.	

* Fische und Meeresfrüchte können relativ unschädliches Arsen enthalten. Sollte innerhalb der letzten drei Tage vor dem Test dies verzehrt worden sein, so können falsch erhöhte Arsenwerte auftreten.

Kreatinin 0,39 g / Liter

Belastungsindex: 10,4

< 1	Keine Schwermetallbelastung nachzuweisen
1 - 5	Leichte Schwermetallbelastung
5 - 15	Mittlere Schwermetallbelastung
15 - 50	Starke Schwermetallbelastung
> 50	Extreme Schwermetallbelastung

Der Belastungsindex zeigt die Summation der Belastung und errechnet sich aus den überschrittenen Werten.

Die Referenzwerte gelten für die Mobilisation mit 1000 mg DMSA oral und 750 mg NaCa-EDTA supp., ab einem Körpergewicht von 40 kg.

Agendi GmbH - Sitz der Gesellschaft: Stuttgart - Amtsgericht Stuttgart HRB 24781
Kundencenter/Versand: Karlsteinstraße 6, D-73773 Alchwald - Tel.: 0711/9327866-0 - Fax: 0711/9327866-9
Geschäftsführer: Dominik Golenhofen, Johannes Becker - USt-IdNr.: DE237140517 - Steuernummer: 99008/03553
Bankverbindung: Commerzbank AG, IBAN DE5052080000390044700, BIC DRESDEFF330

Resultat nach einer Provokation mit DMSA und EDTA



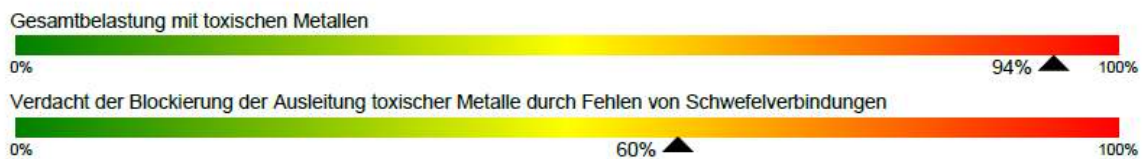
Patient: Tho [redacted] Re [redacted]

Date: 01/12/2015
 M 63 Jahre
 Geb.: 31/05/1952
 Blutgruppe: O
 Gewicht: 81 Kg
 Größe: 1m 82

Bilanz toxische Metalle

	Ergebnis	Norm	Erhöht -	Erhöht +	Überschuss
Aluminium (Al)	0.01316				
Antimon (Sb)	0.00225				
Silber (Ag)	0.01532				
Arsen (As)	0.00450				
Barium (Ba)	0.00398				
Beryllium (Be)	0.00415				
Wismuth (Bi)	0.00586				
Cadmium (Cd)	0.01110				
Quecksilber (Hg)	0.01624				
Nickel (Ni)	0.00569				
Platin (Pt)	0.00267				
Blei (Pb)	0.01938				
Thallium (Tl)	0.00096				
Thorium (Th)	0.00060				

Belastung mit toxischen Metallen



Resultat der Spektralphotometrie beim gleichen Patienten

Es ist mittlerweile bekannt, dass mittels Metalldiagnostik im Vollblut oder im Urin ohne Provokation, sich der Nachweis einer Langzeitexposition sehr schwierig ist. Typisch für Umweltbelastungen im europäischen Raum ist, dass Betroffene zwar täglich gewissen Schwermetallen ausgesetzt sind, die tägliche Aussetzung jedoch relativ gering ist, so dass die Metallkonzentration in Vollblut, Serum oder Plasma sowie Urin (Random oder auch 24 h Urin) die zulässigen Grenzwerte nicht oder nur unwesentlich überschreitet.

Die ist auch bei diesem Vergleich ersichtlich. Die Metallbestimmung im Vollblut zeigt lediglich erhöhte Konzentration von Quecksilber. Dies könnte beispielsweise ausgelöst werden, wenn man gerade vor der Untersuchung beispielsweise mit Quecksilber belastete Fisch wie Lachs oder Tunfisch gegessen hat. Bei der Spektralphotometrie sind nebst Quecksilber, auch Silber, Aluminium und Blei festgestellt worden. Diese Parkinsonpatientin hat noch viele Amalgamfüllungen im Mund was typischerweise sich auch an dem Quecksilber und Silberwerte erkennen lässt.

Biolab Medical Unit

9 Weymouth Street, London W1W 6DB, UK Tel: (+44) 020-7636-5959/5905 Fax: (+44) 020-7580-3910

E-mail: info@biolab.co.uk

Internet: www.biolab.co.uk

Biolab Reference: RD [REDACTED] K14

Patient: Ms. Va [REDACTED] H [REDACTED]

DOB: 28-12-1934

Date: 05-11-2014

Doctor: Damien Downing

TOXIC ELEMENTS IN BLOOD

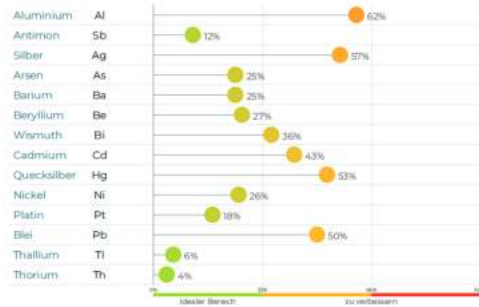
Reference intervals based on ICP-MS analyses of blood samples in trace-element-free EDTA tubes.

ELEMENT	RESULTS	REFERENCE RANGE	COMMENTS
ALUMINIUM (Al)	207	180 – 560 nmol/L	Urine preferred for monitoring Al exposure
ANTIMONY (Sb)	53	6 – 70 nmol/L	Respiratory and circulatory effects
ARSENIC (As)	69	< 60 nmol/L	In water, soil and fish (contains non-toxic organic As). Inorganic As is a neurotoxic carcinogen, with adverse effects on fertility and foetal development. Urine As preferred to diagnose toxicity
BARIUM (Ba)	13	< 20 nmol/L	High concentration in soil; toxic effects involve stimulation, followed by paralysis
BERYLLIUM (Be)	ND	<30 nmol/L	CBD – chronic beryllium disease (skin rash)
CADMIUM (Cd)	7	< 27 nmol/L	Carcinogen, can cause osteoporosis. Non smokers <27 nmol/L, smokers <54 nmol/L, significant industrial exposure >90 nmol/L
CHROMIUM (Cr)	19.8	3.6 – 23.1 nmol/L	Chromium (III) is essential for insulin action. Chromium (VI) is carcinogenic.
COBALT (Co)	4.1	0.3 – 10.0 nmol/L	Required as a component of vitamin B12; a possible carcinogen and a myocardial poison in excess; stimulates erythropoiesis
LEAD (Pb)	0.18	< 0.50 µmol/L	Neurotoxic. Adverse effects on fertility or foetal development. Ranges requiring close monitoring: Females (premenopausal) 1.0 – 2.9 µmol/L. Males 1.4 – 2.9 µmol/L
MANGANESE (Mn)	224	80 – 200 nmol/L	Significant industrial exposure >360 nmol/L. Raised levels associated with cholestasis and Parkinsonian symptoms. Adverse effects on fertility or foetal development
MERCURY (Hg)	33.1	< 15.0 nmol/L	Neurotoxic. Adverse effects on fertility or foetal development. Unexposed range for adults < 15.0 nmol/L. Unexposed range for children < 6.0 nmol/L
MOLYBDENUM (Mo)	11.4	2.2 – 85.0 nmol/L	Essential; acts as an enzyme co-factor. Toxic at higher levels
NICKEL (Ni)	12.2	5.0 – 13.0 nmol/L	Sensitising; highly genotoxic carcinogen
SELENIUM (Se)	2.06	1.75 – 3.50 µmol/L	Enhances immune function: toxic effects, e.g. on heart, at higher levels
THALLIUM (Tl)	0.18	< 0.30 nmol/L	May be present in flue dust; from coal burning, and hence on home grown fruit and vegetables. Rodenticide. Can enter cells via K uptake pathways and high affinity for S may disrupt cellular organelles.
TIN (Sn)	3.2	<36.0 nmol/L	Organic tin is more toxic than inorganic and is better absorbed. Lipophilic, affecting cell and organelle membranes. Carcinogen.

Dr Stephen Davies MA BM BCh FACN

Dr Nicholas Miller PhD FRCPATH

BILANZ DER TOXISCHEN METALLE



Bei diesen Patienten (K,J) wurde das gleiche Probematerial nach 2 unterschiedliche Labore geschickt nach einer Provokation mit DMSA und NaCa-EDTA, das Ergebnis der beiden Labore ist aber sehr unterschiedlich:

Labor 1:

..D 02193533271

..D 02193533271

Gemeinschaftslabor

Pat: Ko [redacted] Jo [redacted] Geschl.: M Geb: 06.07.1968
 Eing: 25.11.2015 LNr: 106 ArztK: 1623 P-ID:96153844 Abr: HP
 * = z.Zt. noch nicht akkreditierter Parameter
 FAX-ENDBEFUND am 27.11.2015

Untersuchung	Messwert	Referenzbereich	Dimension	Grafik
Toxische Metalle nach DMSA/EDTA	14,11,13 125,1115	Gesetz CST		
Kreatinin im Urin 2 *	0.25	> 0.10	g/l	*----- 1)
Aluminium im Urin n. Stimulation	142.0 ↓ 57.9 +	< 15.0 <10	µg/g Krea	[-----*] 2)
Arsen im Urin n. Stimul	18.50 ↓ 16.4 +	< 15.0 <5	µg/g Krea	[-----*] 3)
Blei im Urin n. Stimula	29.6 ↑ 45.6 +	< 10.0 <10	µg/g Krea	[-----*] 4)
Cadmium im Urin n. Stimu	2.34 ↓ 2.00	< 3.00 <1	µg/g Krea	5)
Gold im Urin n. Stimula	<1,7	< 2.0 <1	µg/g Krea	5)
Kupfer im Urin n. Stimu	182 ↓ 141.6	> 30.0	µg/g Krea	*-----
Palladium im Urin n. Stimulation *	<1,2	< 2.0 <1	µg/g Krea	5)
Platin im Urin n. Stimul	<0.8	< 2.0 <1	µg/g Krea	
Quecksilber im Urin n. Stimulation	36.2 ↓ 8.9 +	< 5.0 <1	µg/g Krea	[-----*] 6)
Silber im Urin n. Stimu	<2.0	< 3.0 <1	µg/g Krea	
Zink im Urin n. Stimula	34989	> 2000	µg/g Krea	*-----
Zinn im Urin n. Stimula	3.1	< 5.0 <5	µg/g Krea	[-----*] 7)

- 1) KREATININ: Bei einem Kreatinin < 0,1 g/l kann bei Normierung auf eine Kreatinin-Ausscheidung von 1 g nur eine untere Grenze für die Schwermetallausschwemmung angegeben werden. Da geringe Kreatinin-Konzentrationen im Urin oft durch eine diuretische Wirkung der Komplexbildner zustande kommen und durch hohe Flüssigkeitszufuhr während des Tests weiter verringert werden, sollte die gesamte Flüssigkeitszufuhr einschließlich der Infusion nicht über 500 ml liegen.
- 2) ALUMINIUM: Zielwert <10 µg pro Gramm Kreatinin im Urin.

Labor 2:

MINERALSTOFF ANALYSE			Probenvergleich	
Praxis/Kunde	HP Jochen Kolb		Vergleichs Nr.	2166
Patientenname	Jochen Kolb		Geschlecht	m
Klinische Information	NaCaEDTA iv + DMSA iv 1 Std.		Geburtsdatum	06.07.1968
			Seite	1/1
	BASAL URIN	Chelatspezifischer	2UA163436	2UE166968
	Norm	Orientierungswert	17.09.2015	26.11.2015
Kreatinin (g/l)			0,44	0,30
Essentielle Spurenelemente (mcg/g Kreatinin)				
Chrom	0,55 --- 4,83		1,78	3,34
Eisen	12,10 --- 131,00		5,67	464,08
Kobalt	< 5,00		0,62	57,59
Kupfer	1,45 --- 60,00		112,95	81,99
Mangan	< 4,50		6,13	61,20
Molybdaen	9,70 --- 100,00		18,49	145,26
Selen	12,00 --- 90,00		20,28	111,16
Vanadium	< 1,00		0,28	6,99
Essentielle Elemente (mg/g Kreatinin)				
Magnesium	12,00 --- 150,00		19,81	97,16
Zink	0,07 --- 7,00		0,63	24,61
Weitere Spurenelemente in mcg/g Kreatinin				
Germanium	< 1,50		1,09	1,70
Lithium	< 175,00		20,36	53,00
Strontium	< 200,00		145,83	306,91
Potentiell toxische Elemente in mcg/g Kreatinin				
Aluminium	< 40,00		21,88	38,98
Antimon	< 1,00		0,11	0,01
Arsen-Gesamt	< 15,00		92,33	6,81
Barium	< 5,70		4,22	12,58
Beryllium	< 1,20		0,04	0,05
Blei	< 5,00	10,00	14,94	27,17
Cadmium	< 0,80		0,40	0,83
Nickel	< 3,00	5,00	9,20	17,77
Platin	< 0,60		0,13	n.n.
Quecksilber	< 1,00	2,80	4,44	4,84
Silber	< 1,40		0,10	0,11
Thallium	< 0,60		0,22	0,65
Wismut	< 0,15		0,01	0,03
Zinn	< 2,00		0,34	1,49
Legende:				
UA = DMSA Urin		UE = EDTA Urin		

n.n. = nicht nachweisbar

* BG = unterhalb Bestimmungsgrenze

Akkreditierung: DIN EN ISO 17025; Analytik & Qualitätskontrolle: Dipl. Ing. Friedle, Ing. J. Merz, Dr. Rauland, Befundvalidierung Dr. E. Blaurock-Busch PhD, Laborarzt: Dr. med. A. Schönberger

Die spektralphotometrische Analyse zeigt ein Jahr später immer noch eine hohe Belastung an Aluminium:



Name: [Redacted] y
 Ni: [Redacted]
 84
 Te: [Redacted]

Name: Jod [Redacted] K[Redacted]
 [Redacted]

Date: 24/11/2016
 männlich 48 Jahre
 Geb. am.: 06/07/1968
 Blutgruppe: O
 Gewicht: 66 Kg
 Größe: 1m 70

Bilanz der toxischen Metalle

	Ergebnis	Norm	Erhöht	Erhöht +	Überschuss
Aluminium	Al 0.01560				
Antimon	Sb 0.00174				
Silber	Ag 0.01258				
Arsen	As 0.00347				
Barium	Ba 0.00289				
Beryllium	Be 0.00401				
Wismuth	Bi 0.00496				
Cadmium	Cd 0.00857				
Quecksilber	Hg 0.00911				
Nickel	Ni 0.00465				
Platin	Pt 0.00286				
Blei	Pb 0.00799				
Thallium	Tl 0.00070				
Thorium	Th 0.00043				

Belastung mit toxischen Metallen



Empirisch wurde festgestellt, dass vor allem Silizium (Kieselsäure) eine starke ausleitende Wirkung hat auf Aluminium. Eine Unterstützung mit organisches Kieselsäure führt zu diese Verbesserung:



Ru...nn
W...e 30
76...sturm
Te...985250

Name: Jo...n K...

Date: 14/01/2017
männlich 48 Jahre
Geb. am.: 06/07/1968
Blutgruppe: O
Gewicht: 66 Kg
Größe: 1m 70

Bilanz der toxischen Metalle

	Ergebnis	Norm	Erhöht	Erhöht +	Überschuss
Aluminium	0.01296				
Antimon	0.00189				
Silber	0.01221				
Arsen	0.00378				
Barium	0.00312				
Beryllium	0.00438				
Wismuth	0.00515				
Cadmium	0.00828				
Quecksilber	0.00906				
Nickel	0.00450				
Platin	0.00277				
Blei	0.00529				
Thallium	0.00076				
Thorium	0.00047				

Belastung mit toxischen Metallen



Diese Messresultate wurden mit 2 unterschiedliche Geräte gemessen. Die Vergleichbarkeit der beiden Messresultate ist beeindruckend.

Unterstehende Vergleiche zeigen zuerst die Konzentration der Metalle im Urin (vor Provokation = Basalurin) und anschliessend eine Messung der Konzentration nach Provokation mit DMPS:

MINERALSTOFF ANALYSE

Basalurin

Praxis/Kunde		Labornummer	2UB186634
Patientenname		Testdatum	02.02.2017
Klinische Information	Basalurin	Geschlecht	m
Kreatinin (g/l)	1.220	Geburtsdatum	20.02.1949
		Seite	1/2

















	BASAL URIN Norm	Messwert		
Essentielle Spurenelemente (mcg/g Kreatinin)				
Chrom	0.550 --- 4.830	< BG ↓		✓
Jod	< 719.000	43.876		≠
Kobalt	< 5.000	0.261		✓
Kupfer	1.450 --- 60.000	6.137		✓
Mangan	< 4.500	1.451		≠
Molybdaen	9.700 --- 100.000	29.361		✓
Selen	12.000 --- 90.000	19.396		≠
Vanadium	< 1.000	0.054		✓
Essentielle Elemente (mg/g Kreatinin)				
Zink	0.060 --- 0.780	0.333		✓
Weitere Spurenelemente (mcg/g Kreatinin)				
Bor	< 3'766.000	775.326		✓
Strontium	< 200.000	66.558		
Potentiell toxische Elemente (mcg/g Kreatinin)				
Aluminium	< 40.000	< BG		≠
Arsen-Gesamt	< 15.000	5.523		✓
Barium	< 5.700	1.462		✓
Beryllium	< 1.200	< BG		≠
Blei	< 5.000	5.469 ↑		
Cadmium	< 0.800	0.250		≠
Caesium	< 11.000	3.211		
Cer	< 2.700	< BG		

n.n. = nicht nachweisbar, < BG = unterhalb Bestimmungsgrenze
 Akkreditierung: DIN EN ISO 17025; Analytik & Qualitätskontrolle: Dipl. Ing. Friedle, Ing. J. Merz, Dr. Rauland. Befundvalidierung
 Dr. E. Blaurock-Busch PhD

MINERALSTOFF ANALYSE

Basalurin

Patientenname: _____ Labornummer: 2UB186634 Seite: 2/2

	BASAL URIN Norm	Messwert	
Potentiell toxische Elemente (mcg/g Kreatinin)			
Gadolinium	< 0.230	7.612 	
Gallium	< 7.760	0.064	
Iridium	< 0.150	< BG	
Nickel	< 3.000	2.542	
Palladium	< 1.400	0.709	
Platin	< 0.600	n.n.	
Quecksilber	< 1.000	< BG	
Rhodium	< 0.060	< BG	
Silber	< 1.400	< BG	
Tantal	< 0.600	n.n.	
Thallium	< 0.600	0.113	
Titan	< 13.000	< BG	
Uran	< 0.060	< BG	
Zinn	< 2.000	1.457	
Zirkonium	< 2.500	< BG	

MINERALSTOFF ANALYSE

DMPS oral Urin

Praxis/Kunde		Labornummer	2UPO186635
Patientenname		Testdatum	02.02.2017
Klinische Information	DMPS oral Dimaval 800mg	Geschlecht	m
Kreatinin (g/l)	0.900	Geburtsdatum	20.02.1949
			Seite 1/6

	BASAL URIN Norm	Chelatspezifischer Orientierungswert	Messwert	
Essentielle Spurenelemente (mcg/g Kreatinin)				
Chrom	0.550 --- 4.830		< BG ↓	
Jod	< 719.000		61.368	
Kobalt	< 5.000		0.499	
Kupfer	< 60.000	700.000	249.754	
Mangan	< 4.500	10.000	3.321 ↓	
Molybdaen	9.700 --- 100.000		20.861	
Selen	12.000 --- 90.000		20.737	
Vanadium	< 1.000		0.055	
Essentielle Elemente (mg/g Kreatinin)				
Zink	0.060 --- 0.780	2.000	0.793	
Weitere Spurenelemente (mcg/g Kreatinin)				
Bor	< 3'770.000		1'145.359	
Strontium	< 200.000		94.757	
Potentiell toxische Elemente (mcg/g Kreatinin)				
Aluminium	< 40.000		< BG	
Arsen-Gesamt	< 15.000	86.000	13.936	
Barium	< 5.700		1.959	
Beryllium	< 1.200		< BG	
Blei	< 5.000	11.000	29.837 ↑	
Cadmium	< 0.800	1.500	0.239	
Caesium	< 11.000		4.938	

MINERALSTOFF ANALYSE

DMPS oral Urin

Patientenname

Labornummer 2UPO186635

Seite

2/6

	BASAL URIN Norm	Chelatspezifischer Orientierungswert	Messwert	
Potentiell toxische Elemente (mcg/g Kreatinin)				
Cer	< 2.700		< BG	
Gadolinium	< 0.230		7.362	
Gallium	< 7.760		0.061	
Iridium	< 0.150		n.n.	
Nickel	< 3.000	7.000	3.978	
Palladium	< 1.400		< BG	
Platin	< 0.600		< BG	
Quecksilber	< 1.000	35.000	1.278	
Rhodium	< 0.060		< BG	
Silber	< 1.400		< BG	
Tantal	< 0.600		n.n.	
Thallium	< 0.600		0.136	
Titan	< 13.000		< BG	
Uran	< 0.060		< BG	
Zinn	< 2.000	15.000	1.136	
Zirkonium	< 2.500		n.n.	

Die spektralphotometrische Messung zeigt folgendes:



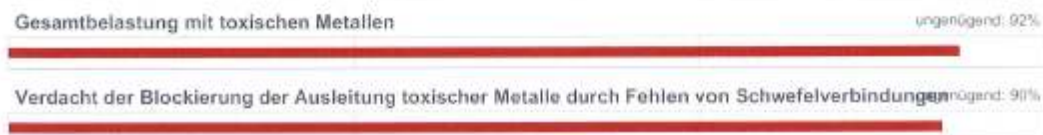
c/o
Hal
634
Tel

Date: 05/09/2016
männlich 67 Jahre
Geb. am:: 20/02/1949
Blutgruppe: O
Gewicht: 87 Kg
Größe: 1m 80

Bilanz der toxischen Metalle

	Ergebnis	Norm	Erhöht	Erhöht +	Überschuss
Aluminium	0.01133				
Antimon	0.00270				
Silber	0.01396				
Arsen	0.00541				
Barium	0.00840				
Beryllium	0.00664				
Wismuth	0.00952				
Cadmium	0.01281				
Quecksilber	0.02060				X
Nickel	0.00354				
Platin	0.00221				
Blei	0.00803				
Thallium	0.00204				
Thorium	0.00126				

Belastung mit toxischen Metallen



Konklusion: Auf Grund der unterschiedlichen Affinität von DMPS bei der Metallbindung und biochemische Tatsache, dass DMPS nur extrazellulär binden kann, sieht man gezwungenermassen Unterschiede im Messresultat.

Während man spektralphotometrisch vor allem die intrazelluläre Fraktion einer chronischen Belastung misst, wird mit dieser Art von Provokationstest vor allem Metall gebunden was sich in der extrazellulären Matrix befindet.

Weitere Gründe weshalb diese Testmethoden nicht verglichen werden können, sind ersichtlich im Handbuch «Durchführung, Referenzbereiche und Interpretation des DMPS-Testes - Eine kritische Datenanalyse» von Dr. Wolfgang Bayer, Laboratorium für spektralanalytische und biologische Untersuchungen Dr. Bayer GmbH

file:///C:/Users/jdg_e/Dropbox/Oligoscan%20Wissensdatenbank/Oligoscan%20und%20SoC%20beck%20bezogene%20Informationen/Anderer%20Diagnoseverfahren/11_DrBayer-DMPS-2008.pdf

In einer Studie von Dr. Raymond Pahlplatz wurde zusätzlich gezeigt, dass es eine unterschiedliche Korrelation gibt zwischen den Provokationstest und spektralphotometrisch gemessenen oxidativer Stress.

Die Studie zeigt, dass je höher den gemessenen oxidativen Stress ist, desto grösser die Abweichung zwischen beide Messmethoden. Anders gesagt, kann man davon ausgehen, dass wenn der oxidative Stress sehr hoch ist, die Belastung vor allem intrazellulär vorliegt und somit die Detektierbarkeit der Methoden, die beruhen auf Chelatoren welche nur extrazellulär Schwermetall binden können, eher schwach ist. Für diese Methoden bleiben die sich intrazellulär befindende Elemente somit versteckt, was somit dazu führt, dass die Abweichung des Messvergleichs, je nach Zunahme der Oxidative Stressbelastung der Zelle, stets grösser wird.

Jesse de Groodt

Luzernerstr. 9 + 12
CH - 6403 Küsnacht am Rigi www.degrootd.ch

5. Anhang

Biocellscreen S. A.

IPHT Jena

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

Rieder Alexander

Jena, 10.07.2015

Inhalt

1	Antioxidant Network	4
2	Carotenoids	4
2.1	Physicochemical Details	4
2.2	Carotenoids in the Human Body	7
3	Invasive Quantification of Carotenoids in the Human Body	9
4	Non-invasive Detection Methods for Carotenoids in Human Skin	9
4.1	Resonance Raman Spectroscopy (RRS)	9
4.2	Reflection Spectroscopy (RS)	9
4.3	Other Non-invasive Detection Methods for Carotenoids in Human Skin	10
5	Carotenoids as Biomarkers for the Whole Antioxidant Network	10
5.1	Biomarker Validity	11
5.2	Biomarker Variability	11
5.3	Biomarker Reproducibility	11
5.4	Feasibility	11
6	Factors influencing Carotenoids as a Biomarker in the human Skin	12
6.1	Oxidative Stress	12
6.1.1	Sunlight and UV/VIS Radiation	12
6.1.2	IR Radiation	14
6.1.3	Diet & Dietary Intervention	14
6.1.4	Smoking	16
6.2	Skin Pigmentation	17
6.3	Genetic Factors	17
6.4	Age	17
6.5	Gender	17
6.6	Body Mass Index	17
7	Pro- and Antioxidant Effects of Carotenoids	17
8	Topical Versus Systemic Application of Antioxidants	18
9	Carotenoid measurements in children	18
10	Skin Aging	18
11	Skin Lipid Profile	19
12	Selected Studies	19
12.1	One Year Study on the Variation of Carotenoid in vivo: Influence of Dietary Supplementation and Stress Factors	19

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

12.2	Spectoscopic biofeedback on cutaneous carotenoids as part of a prevention program could be effective to raise health awareness in adolescents	21
13	Pharmanex, Nuskin and the Biophotonic Scanner	22
13.1	Biophotonic Scanner	22
14	Conclusion	23
15	Literaturverzeichnis	24

1 Antioxidant Network

According to Darvin et al. [1] and Haag et al. [2] free radicals and reactive oxygen species (ROS), forming in the human body, are linked to external and internal factors as for example metabolic processes in mitochondria, where approximately 3% of oxygen is converted to oxygen free radicals, inflammatory processes [3] (often accompanied by serious diseases) or harmful external factors such as irradiation (UV [4], visible [5] and IR [6]) and environmental conditions [7] [8].

In case of signaling processes inside the living cell and between cellular systems [9] [10] as well as for the destruction of viruses and bacteria [11], free radicals are of great importance. However high levels of free radicals pose a constant threat to the human body and can cause oxidative cell damage, skin ageing and cancer [12] [13] [14].

Therefore the human organism has developed an effective defense system that is able to neutralize these threats efficiently [15]. The protection is mediated by antioxidant substances like carotenoids, vitamins (A, C and E), enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase), and other substances like flavonoids, lipoic acid, uric acid, selenium, coenzyme Q10, polyphenols etc [15] [1]. It is notable that carotenoids and vitamins A, C and E cannot be synthesized by the human organism as opposed to enzymes. Only nutritional supplementation or topical application can provide the body with those antioxidants [1]. This natural antioxidant protection system is suspected to act synergistically as a “protective chain” with substances protecting each other from the destructive action of free radicals and ROS during neutralization processes [16] [17] [15].

If the production of antioxidants cannot keep up with the formation of free radicals and reactive oxygen species, the human body cannot neutralize enough reactive molecules [10] and a chain reaction occurs leading to oxidative stress. Oxidative stress reflects an imbalance between the systemic manifestation of ROS and a biological system's ability to readily detoxify the reactive intermediates or to repair the resulting damage. Hence, antioxidants are destroyed due to interaction with high amounts of ROS and free radicals [18] [19] and the antioxidant potential of the organism decreases leaving cells unprotected and giving rise to cell damage, ultimately leading to afflictions like cancer, infarcts, arteriosclerosis, arthritis, Alzheimer, Parkinsons and others [20, 21].

Skin, as the outermost barrier of the body, directly interacts with harmful oxidative environments and their negative influences. The epidermal antioxidant network consists of a complex defense system against oxidative stress in which the function of one antioxidant often supplements or regenerates another antioxidant [22]. The antioxidants are constantly being destroyed and restored and the resulting changes in the antioxidant levels of the human skin reflect these processes. Lademann et al. [23] state that a sufficient cutaneous level of antioxidants is of notable relevance as ROS formed by immunological or metabolic processes as well as irradiation may compromise the skin.

By comparing skin and blood samples it has been shown experimentally that the level of antioxidants in the skin mirrors their systemic concentration [24] [15].

2 Carotenoids

2.1 Physicochemical Details

It has been postulated that among the different dietary components of fruits and vegetables the so-called secondary plant constituents play a major role in disease prevention. Some of these

phytochemicals are responsible for the bright colors of plants. Among the various natural pigments, carotenoids comprise an important group of more than 600 structurally different compounds [25].

Most carotenoids are composed of a central carbon chain of alternating single and double bonds and carry different cyclic or acyclic end groups. According to their chemical composition they are categorized as either carotenes (e.g. carotene, lycopene) or xanthophylls (e.g. zeaxanthin, lutein, cryptoxanthin, astaxanthin,...). Furthermore they can also be divided into provitamin A and non-provitamin A compounds [25]. The conjugated double bonds mainly exist in trans-configuration [26]. Carotenoids are lipophilic or amphiphilic molecules [27].

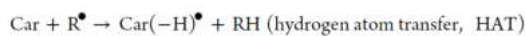
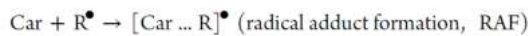
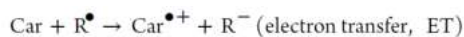
The balance between electron acceptance and donation forming radical anions and cations varies among the carotenoids and is important for their role in antioxidant networks. Electron acceptor and donor properties should be considered simultaneously, leading to a donor-acceptor map or two-dimensional antioxidant hierarchy as shown in Table 1. The role of carotenoids as both electron donor and acceptor seems unique and may explain their importance in antioxidant networks. [26]

Table 1: Donator-acceptor map or two-dimensional antioxidant hierarchy [26]

R _d /R _a	Low electron acceptor index (bad acceptors)	High electron acceptor index (good acceptors)
Low electron donation index (good donors)	Good radical scavengers Good antioxidants Example: Vit E	Best radical scavengers Example: β-carotene
High electron donation index (bad donors)	Poor radical scavengers Example: Vit C	Good radical scavengers Good "antireductants" Example: astaxanthin

In red palm oil, containing α- and β-carotene together with tocotrienols and tocopherols, the carotenes become depleted upon heating, apparently protecting the tocotrienols and tocopherols and thus suggesting the role of carotenes as first-line-of-defense antioxidants. [26]

Concerning the scavenging activity of oxidizing radicals, carotenoids show mainly three reaction pathways [26]:



Considering an antioxidant network including carotenoids and homologous tocopherols, ordering according to the tendency to reduce oxidizing radicals including one-electron-oxidized antioxidants can be shown. Figure 1 shows that the efficiency of lycopene, in its function as radical scavenger, is comparable to that of the tocopherols. [26]



Figure 1: Antioxidant network including carotenoids and the homologous tocopherols according to their tendency to reduction [26]

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

Interactions between carotenoids and tocopherols are of special interest because of the role of carotenoids and compounds of the vitamin E family in the protection of membranes against oxidation. Ascorbate, being even more reducing than α -tocopherol, should regenerate β -carotene in case of contact at lipid/water interfaces. [26]

Due to their rigid backbone and proper length corresponding to the hydrophobic zone of membranes, lipophilic carotenoids reinforce cell membranes. Amphiphilic carotenoids with polar end groups such as xanthophylls are anchored in water-lipid-interfaces. [26] The lipophilicity/amphiphilicity of carotenoids determines their subcellular distribution. They are mostly enriched in membranes and other lipophilic compartments [25].

Absorption bands of important skin carotenoids are shown in Figure 2. The inset shows a term scheme of carotenoid molecules, which feature an unusual even parity excited state. As a consequence, absorption transitions are electric-dipole allowed in these molecules but spontaneous emission is forbidden. The resulting absence of any strong fluorescence in carotenoids is the main reason for the possibility to use Resonance Raman Spectroscopy, shown as a solid, downward-pointing arrow (optical transition) in the inset, as a noninvasive means of carotenoid detection in human tissue. [28]

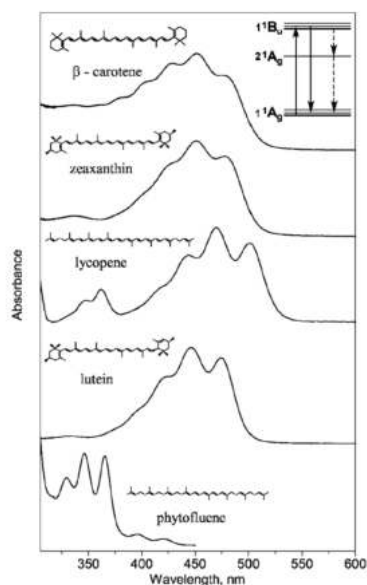


Figure 2: Absorption bands of important skin carotenoids; Inlet shows Carotenoid molecules, which feature an unusual even parity excited state [28]

The absorption characteristics of β -carotene radicals differs significantly from those of neutral carotenes. Figure 3 shows absorption spectra of β -carotene and its simple radicals.

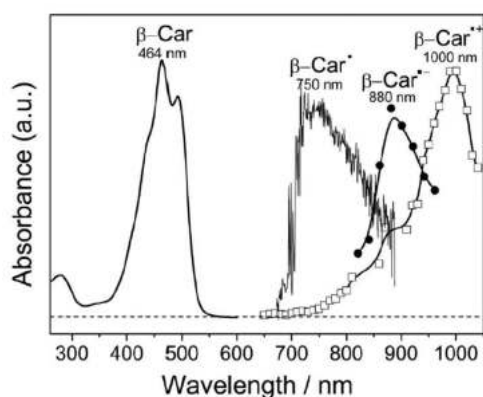


Figure 3: Absorption spectra of β -carotene and simple radicals of β -carotene [26]

2.2 Carotenoids in the Human Body

Carotenoids are powerful antioxidants and play an important role throughout the human body [29]. They are the most efficient natural scavengers of singlet molecular oxygen. The rate constants for the reaction of carotenoids with singlet oxygen are in the range of $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, i.e. near diffusion control [25]. At low oxygen tension, carotenoids are also able to scavenge peroxy radicals [30]. Moreover they are effective deactivators of electronically excited sensitizer molecules which are involved in the generation of radicals and singlet oxygen [25].

Studies show an inverse correlation between high dietary intake of carotenoids and the risk of various cancers, cardiovascular disease and degenerative diseases [29]. Lycopene and β -carotene are thought to play an important protective role in the protection of skin from UV and short-wavelength visible radiation. Lutein and lycopene may have protective functions for cardiovascular health and lycopene may play a role in the prevention of prostate cancer [28].

In the human skin the group of carotenoids includes α -, β -, γ - and σ -carotene, lutein, zeaxanthin, lycopene and their isomers [31]. Figure 4 shows the molecular structure of some selected carotenoids.

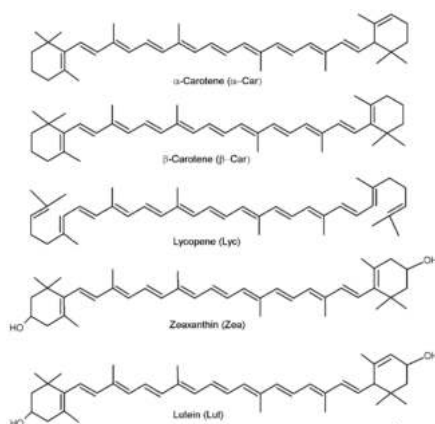


Figure 4: Molecular structures of selected carotenoids [26]

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

Of these, lycopene and the carotenes account for 60 – 70 % of the total carotenoid content [29].

The distribution of β -carotene in the human skin is shown in Figure 5.

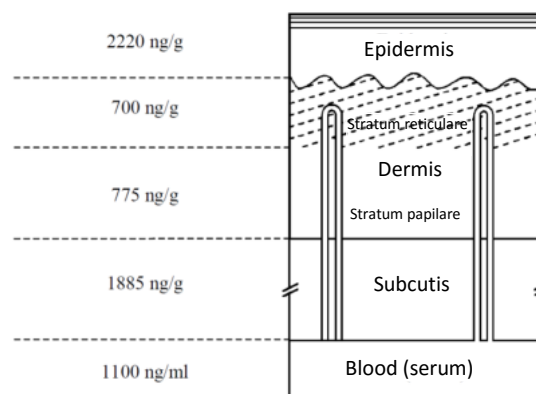


Figure 5: Schematic visualization of average β -carotene concentrations of different skin layers [32]

Since carotenoids are lipophilic molecules, they are well placed in the skin to act as chain-breaking antioxidants protecting epidermal polyunsaturated fatty acids from oxygen peroxidation. Other dermal antioxidants such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase, α -tocopherol, ascorbic acid, and melanins work in collaboration with carotenoids to provide skin with a defensive mechanism against free radical attack and oxidative stress. Because these molecules work as a network, definitive measurement of a subset of these antioxidants provides an indication of the relative strength of the whole system. The effectiveness of this protective network can be diminished either by excessive generation of free radicals or by insufficient antioxidant molecules being supplied to the skin. [28] [33]

The accumulation of carotenoids in the human skin under oral supplementation is, compared to serum values, delayed by up to two weeks. Some individuals, however, also show accumulation without temporal delay. [34] Ribaya-Mercado et al. [19] remark that, after single oral administration of 120 mg β -carotene, the increase of dermal concentrations in the skin of healthy women amounted to 23% after 6 days. Stahl et al. [35] [36] showed that a steady-state of β -carotene concentrations in the human skin is not reached even after 12 weeks of oral supplementation. Accumulation occurs in all regions of the body. However, large inter-individual differences are noticeable. Darvin et al. [15] state that carotenoid levels can decrease quickly over the course of two hours whereas the recovery of the values took up to three days.

The distribution of β -carotene in the human skin is far less homogenous after 4 weeks of chronic oral supplementation than after 6 weeks. This is due to the fact, that β -carotene starts to accumulate near the capillaries and only slowly starts to diffuse into the surrounding tissue. [37]

Peng et al. found a significant correlation of β -carotene concentrations between plasma and skin [38]. A linear supplementation only occurs, according to Biesalski et al. [18], due to oral supplementation. Correlation is especially high on the palms and the forehead. [36]

3 Invasive Quantification of Carotenoids in the Human Body

High pressure liquid chromatography (HPLC) is the standard method for the detection of antioxidants in tissue and blood samples. Major disadvantages of this method are long processing times, high costs and the fact that one needs to take biopsies or blood samples invasively from the human body [15]. Meinke et al. [39] show that the antioxidant status differs between in vivo and ex vivo skin samples and that results of both measurement forms must be critically compared.

4 Non-invasive Detection Methods for Carotenoids in Human Skin

4.1 Resonance Raman Spectroscopy (RRS)

RRS is a form of laser spectroscopy that detects the characteristic vibrational/rotational energy levels of a molecule by measuring inelastically scattered light. Carotenoids are particularly well suited to RRS as all have a conjugated carbon backbone molecular structure, strongly absorbing in the blue wavelength region and thus providing the basis for efficient resonant laser excitation of the molecules with visible laser lines [40].

In case of one-wavelength excitation, laser-light with a wavelength of 488 nm excites all cutaneous carotenoids simultaneously. Analyzing only the intensity of a subsequent Raman peak (provided by the inelastic scattering of light in the human skin) at 527.2 nm, the information about the concentration of all carotenoids existing in the skin is provided [31].

It is possible to detect lycopene and β -carotene individually using suited green and blue laser lines and taking advantage of differing Raman cross sectional profiles for the two molecules [41] [42] [43]. According to Darwin et al. [31] the main limitation of the two-wavelength excitation scheme is that other carotenoids such as lutein, zeaxanthin as well as carotenes can exert an influence on the Raman measurements because of the similar absorption spectra to β -carotene.

Strong correlations were obtained between plasma carotenoid values gathered by HPLC and resonance Raman spectroscopic measurements, reported by various working groups. [43] [44] [41] This renders RRS a valid non-invasive technological alternative to invasive blood measurements.

The advantage of the Raman spectroscopic method is its non-invasiveness, the measurement quickness and its high sensitivity which permits the detection of low concentrations of carotenoids in mammalian skin [31].

4.2 Reflection Spectroscopy (RS)

Reflection spectroscopy of carotenoids in human skin is based on the registration of the radiation reflected by the skin, irradiation occurring in the spectral range of maximal absorption of carotenoids (i.e. in the blue-green range of the spectrum) [31]. Niedorf et al. [32] presented reflection spectroscopy based determination of carotenoids with a strong correlation in comparison with HPLC plasma measurements. Their data showed a wide spread of the measured values. The reason for this could be the high penetration depth of the excitation light into the skin and the presence of cutaneous chromophores such as melanin, FAD, FADH₂, deoxy-haemoglobin or oxy-haemoglobin and bilirubin which are inhomogeneously distributed in the skin. They absorb light in the blue-green range of the spectrum and thus potentially influence the final reflectance spectra [31].

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

It has been shown that it is possible to overcome or reduce the influence of chromophores which are mostly distributed in the basal level and in the dermis of the skin by detecting back-reflected light from depths not exceeding 200 μm , which corresponds with a depth of the epidermis on the thenal areas in humans [31] [45]. RRS can be used for the calibration of reflection spectroscopy devices because this method is well correlated with HPLC measurements. Strong correlations were obtained for human thenal skin areas in vivo and for bovine udder skin areas in vitro [31] [45].

The main advantages of reflection spectroscopy-based devices in comparison to Raman devices are the relatively low price, compact size and light weight. [31]

4.3 Other Non-invasive Detection Methods for Carotenoids in Human Skin

Pressure mediated reflection spectroscopy is a technique which enables the user to measure on different skin areas independent of the thickness of the epidermis [46] [31]. Applied external pressure temporarily squeezes blood out of the illuminated skin volume making epidermal carotenoids detectable in the range between 460 and 500 nm. The limitation of this method lies in the influence of melanin near the basal layer, which also absorbs in this optical range. [31] [47]

Raman Microscopy is a combination of in vivo confocal Raman spectroscopy and confocal microscopy of human skin. This method can be used for recording molecular concentration profiles in the skin. [31]

Skin color measurements are yet another possibility to detect carotenoids in the skin. Skin color is predominantly determined by the cutaneous pigments hemoglobin, bilirubin and melanin. Due to their absorption properties, epidermal carotenoids are also strongly contributing to the coloration of epidermis and as a result the total skin color. The measurements are based on spectro-photometric reflection measurements. The limitations of this method are similar to the limitations of reflection spectroscopy of carotenoids as melanin and blood significantly contribute to the total skin color. [31]

5 Carotenoids as Biomarkers for the Whole Antioxidant Network

In order to identify populations at particular risk for inadequate intake of fruits and vegetable intake, objective indicators of fruit and vegetable intake are critically needed.

The *2010 Dietary Guidelines for Americans* recommend increased consumption of fruit and vegetables, with specific guidelines for dark-green and red and orange vegetables [48]. Adherence to recommendations is low; 11% of the population meets the recommendation for vegetables, 20% for fruit and <7% for dark-green and orange vegetables [49].

The *National Academy of Sciences* states that “blood concentrations of carotenoids are the best biological markers for consumption of fruits and vegetables” [50]. Blood concentrations of carotenoids can and have served as concentration biomarkers of fruit and vegetable intake and are used in nutritional surveillance, in observational research studies and as a marker of adherence relevant behavioral interventions. However there are major drawbacks to this method such as high costs, invasiveness, sample lability during processing and analysis and the relatively short half-life of carotenoids in blood [40]. Therefore carotenoid status measured non-invasively in the living skin has emerged as a promising new assessment method.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

Blume-Peytavi et al. [51] remark that in contrast to blood, skin represents a storage reservoir for antioxidants for several weeks. Therefore fluctuation of carotenoid levels in skin is less sensitive or shows a slower response to oral supplementation as compared to plasma [52].

Lademann et al. [23] [53] and Darvin et al. [15] suggest that carotenoids can serve as a biomarker substance of the antioxidant network of the human skin. The total intake of antioxidants is significantly correlated with plasma carotenoids [54]. Haag et al [2] could provide indications for carotenoids as marker for the whole antioxidant capacity of the skin.

Jahns et al. [55] state that carotenoid compounds are attractive biomarkers of vegetable and fruit consumption because humans cannot synthesize them and they are readily deposited into body tissues. Mayne et al. [40] have done research relevant to develop this biomarker, including its variability, reproducibility, validity, feasibility for use in field settings and factors that affect the biomarker such as diet, smoking and adiposity.

5.1 Biomarker Validity

Validity of the correct assessment of skin carotenoid status is reported by Ermakov et al. [56] [28] as well as Mayne et al. [40] [44] by comparing the non-invasive Raman spectroscopic measurement with blood samples measured by HPLC. The resulting coefficients showed high correlation of data. In a non-invasive assessment of skin carotenoids as a biomarker of fruit and vegetables Aguilar [57] also notes that levels of skin and serum carotenoids are highly correlated. This is true both for adults as well as children.

Validity by comparison of RRS with skin biopsy was shown by [44] [56].

Comparing RRS data with reported vegetable and fruit intake validity was confirmed by [58] [44].

Jahns et al. [55] compared changes in skin carotenoid status with changes in plasma carotenoid concentrations during a controlled feeding intervention. Validity of skin carotenoid changes in response to increased vegetable and fruit consumption was shown.

5.2 Biomarker Variability

Intra-subject variability as well as inter-subject variability characteristics were investigated by Mayne et al. [40]. Ideal biomarkers would vary widely across different individuals within a population but be relatively constant over time within an individual. According to Mayne et al. [40] there is adequate inter-subject variation in skin carotenoid status as assessed by RRS. This has also been confirmed by [58], [44] and [29]. Intra-subject carotenoid levels were highly consistent over time within each body site, with the highest reproducibility shown for the palm [40].

5.3 Biomarker Reproducibility

High reproducibility of skin carotenoid concentrations over 6 months in the absence of intervention has been shown by Mayne et al. [44] as well as Scarmo et al. [59].

5.4 Feasibility

Mayne et al. [40] found it feasible to use a portable RRS device in out-of-lab-conditions by scanning a large number of children (nearly 400 total) in a relatively short time-frame with no difficulties in a preschool setting (e.g. up to 60 children were assessed in a two-hour window of data collection).

6 Factors influencing Carotenoids as a Biomarker in the human Skin

Prior to using skin carotenoid status as a biomarker for human studies, a clear understanding of factors that affect the biomarker is needed. Some of these factors are known to be correlated with each other (for example, smokers are known to consume fewer fruits and vegetables than non-smokers). [40]

6.1 Oxidative Stress

Oxidative stress reflects an imbalance between the systemic manifestation of ROS and a biological system's ability to readily detoxify the reactive intermediates or to repair the resulting damage. Radiation, smoking and bad diet can influence oxidative stress. Multiple studies show the relationship between these factors and carotenoid concentrations, values of antioxidant or oxidative status [60] [44]. But there may of course be other factors creating and mediating oxidative stress such as illness, psychological stress or fatigue.

When analyzed by a chemical assay based on urinary malondialdehyde excretion, an indicator of oxidative lipid damage, people with high oxidative stress had significantly lower skin carotenoid levels than people with low oxidative stress. [40] [61] These observations provide evidence that skin carotenoid readings might be useful as a surrogate marker for general antioxidant status. [28]

A study done by Haag et al. [2] used electron paramagnetic resonance spectroscopy to assess reduction of nitroxides as an indicator of antioxidant capacity of human skin and found that skin carotenoid status as assessed by RRS was correlated with the rate constant of nitroxide decrease. These observations suggest that skin carotenoid RRS scores might be useful as a surrogate marker for general antioxidant status.

General stress factors (such as fatigue, illness) have been suggested to influence skin carotenoid status but have not been quantitatively or systematically assessed in multivariate models controlling for other factors [40].

6.1.1 Sunlight and UV/VIS Radiation

Human skin is susceptible to free radical and ROS formation due to irradiation in the UV, visible and IR wavelength range [62]. With regard to the total sun wavelength spectrum, up to 50% of the radicals are not produced by wavelengths in the UV range [5]. According to Lademann et al. [23] sunscreens provide a double-track protection system against skin damage as they contain antioxidants in addition to UV filter substances. The antioxidants are also able to protect the skin in the visible and infrared spectral ranges [63].

Photoprotection of biological systems can be achieved by topical protection like protective clothing or endogenous pigments like melanine that scatter and absorb UV light or sunscreens. Endogenous photoprotection mechanisms work by increasing the barrier for UV light (e.g. UV-absorbing compounds), protecting target molecules while acting as scavengers (e.g. antioxidants), repairing UV-induced damage by induction of repair systems or suppressing cellular responses (e.g. anti-inflammatory agents).

Antioxidants, like carotenoids, tocopherols, flavonoids and other polyphenols as well as vitamin C, provide an additional beneficial effect on the skin when utilized as a filter against the UV region of solar radiation. The SPF (sun protection factor) of antioxidants is small (i.e. approximately equal to 2 [40]) and insufficient to provide protection against direct sunlight. It is enough though to reduce the unfavorable effects of indirect sunlight radiation. [1] Sies et al [30] state that while protection through

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

individual dietary components in terms of SPF may be considerably lower than that achieved using topical sunscreens, an increased lifelong overall protection via dietary supply may contribute significantly to skin health.

According to Offord et al. [16] vitamin C, E and carnolic acid have the potential to be effective photoprotectors. The carotenoids β -carotene or lycopene must be delivered together with vitamin E to prevent formation of oxidative derivatives which may influence the cellular and molecular responses. Wrona et al. [17] showed that a combination of zeaxanthin and α -tocopherol offers synergistic protection against photosensitized lipid peroxidation in liposomal systems.

Sies et al. [30] state that most of the erythema annual UV dose is encountered under non-vacation conditions when no sunscreen is applied. Dietary protection is provided by carotenoids, tocopherols, ascorbate, flavonoids or n-3 fatty acids, contributing to maintenance resistance as part of lifelong protection. While endogenous protection in terms of SPF may be low the cumulative effect receives increasing attention. Lifelong inadvertent sunlight exposure is important. It is noted that substances may act synergistically. Vitamin C for instance regenerates tocopherol, together they increase the sunburn threshold significantly. The single compounds provided moderate but statistically not significant protection. Mixtures of carotenoids (β -carotene, lutein and lycopene) ameliorate UV-induced erythema in humans whereas one-component supplementation of β -carotene proved less effective. Concerning retinoids, Vitamin A absorbs in the UVB range and participates in an adaptive response to UV exposure. Polyphenols show antioxidant activity and at the same time act as enzyme inhibitors of inducers influencing anti-inflammatory pathways and affecting cell division. Fish oil, rich in omega-3-fatty acids, also show protective effects toward the susceptibility to UVB-induced erythema and epidermal lipid peroxidation. After six months of supplementation with about 10 g fish oil per day, the MED (minimal erythema dose) was increased about 2.1-fold.

As noted in all studies so far carried out, there is a time of approximately 8 to 10 weeks until protection against erythema formation becomes significant [30].

By using EPR and RRS, Meinke et al. [39] showed that a decrease in the carotenoid concentration in vivo induced by UV irradiation is explainable by the formation of radicals in the skin.

Ermakov et al. [28] show a decrease of skin carotenoid levels with increased sun exposure (see Figure 6).

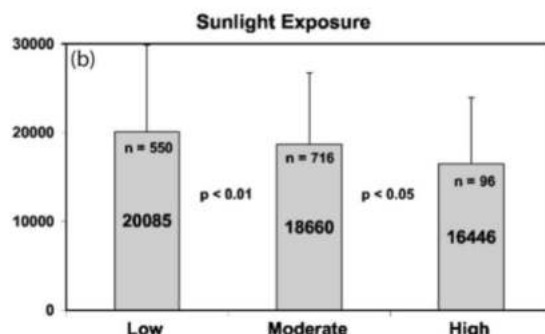


Figure 6: Resonance Raman intensity (counts) versus self-reported exposure of skin to sunlight, showing decrease of skin carotenoid levels with increased sun exposure

6.1.2 IR Radiation

Darvin et al. [64] and Akhalaya [65] show that utilization of the IR irradiation in medicine can have side effects. The carotenoids β -carotene and lycopene were decreased subsequent to IR irradiation of the skin.

Schröder et al. [66] [63] state that solar radiation damages human skin by causing premature skin ageing. Not only does this result from UV radiation but also from longer wavelengths, in particular near IR irradiation (IRA). IRA radiation has been demonstrated to alter the collagen equilibrium of the dermal extracellular matrix. Currently there are no specific chemical or physical filters available against IRA and existing compounds have not been shown to possess IRA-filtering capacity. Filters reflecting IRA (e.g. Titanium dioxide) might raise cosmetic issues. An alternative approach is the use of antioxidants, especially mitochondrially targeted antioxidants.

It has also been shown that topical application of β -carotene on skin can effectively neutralize free radicals which are produced on the skin surface due to IR irradiation [67]. Furthermore it was discovered that the topically applied antioxidant protects the natural antioxidant network of the skin.

6.1.3 Diet & Dietary Intervention

Concerning carotenoid supplementation trials, it is well known and accepted that carotenoid supplementation leads to measurable increases in carotenoids in human skin [53] [36] [68]. This obviously underlies much of the work done in the setting of using dietary sources of carotenoids for sun protection [69] [35] [24]. This also underlies the licensing of the RRS method to the nutritional supplement industry ("Biophotonic Scanner", NuSkin/Pharmanex Inc., Provo, Utah), based on the finding that carotenoid-containing vitamin supplements produced an increase in skin carotenoid values within a relatively short time frame. Meinke et al. [70] showed an increase in both skin and blood carotenoids by comparing the effects of an oil extract rich in various carotenoids to those of a placebo oil. All these studies clearly indicate that providing relatively bioavailable carotenoids through supplementation impacts skin carotenoid status. In another double blind placebo controlled study performed with 24 healthy volunteers Meinke et al. [62] supplemented the volunteer's diet with a natural carotenoid-rich product (BioActive Food GmbH, Bad Segeberg, Germany) containing curly kale extract, sea-buckthorn oil and olive oil.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

Regarding food-based interventions Mayne et al. [40] report that an analysis of their early survey of 1375 healthy subjects indicated a pronounced cross-sectional relationship between self-reported fruit and vegetable intake (a source of carotenoids) and skin carotenoids RRS status [28] [61]. Subsequent cross-sectional studies are also quite consistent in showing significant associations between self-reported consumption of fruits/vegetables and/or dietary carotenoid intake and skin carotenoid status. This has been observed both in adults [44] [40] [15] [71] and in children [58]. It has been shown that skin carotenoid levels decreased during depletion and increased during high-carotenoid feeding, with skin carotenoid status tracking similarly to plasma carotenoids although the rates of decrease (during depletion) were faster in plasma versus skin. Skin carotenoids had not yet plateaued by 8 weeks post-intervention, suggesting that they reflect intake over at least the prior 2+ months. [40] Similar results were obtained by Jahns et al. [55], comparing RRS results with plasma HPLC analysis (see Figure 7). Twenty-nine participants consumed low-carotenoid diets (6 weeks, phases 1 and 3), a provided diet containing 6-cup equivalents (1046g/d) of vegetables and fruit (8 weeks, phase 2) and their usual diet (final 8 weeks, phase 4). Skin carotenoid status was measured by RRS ≥ 2 times per week during phases 1, 3 and 4 and 5 times per week during phase 2. At baseline, skin and plasma total carotenoid values were correlated ($r=0.61$, $P<0.001$). Skin and plasma carotenoid values decreased 36% and 30%, respectively, from baseline to the end of phase 1 and then increased by $>200\%$ at the end of phase 2. Plasma carotenoids returned to baseline concentrations by the middle of phase 3 and skin carotenoid concentrations by the middle of phase 4.

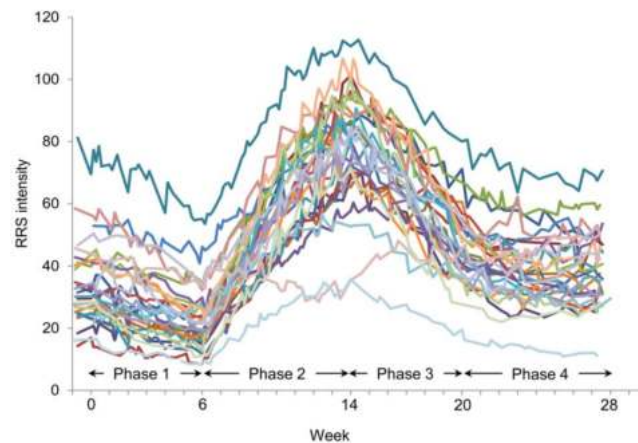


Figure 7: Individual responses of skin carotenoid status throughout the study of Jahns et al. [55]

Changes in skin carotenoid status closely followed changes in plasma across a broad range of intakes.

Ermakov et al. [28] show an increase of skin carotenoid concentrations with increased fruit and vegetable uptake (see Figure 8).

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

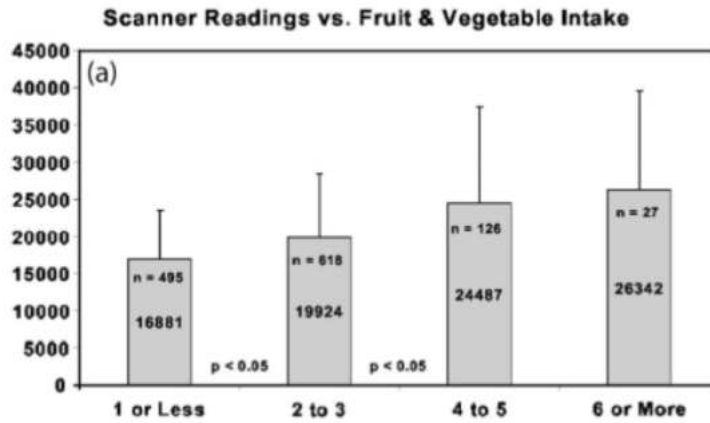


Figure 8: Resonance Raman intensity (counts) versus reported number of daily consumed servings of fruits and vegetables, demonstrating increase of skin carotenoid concentrations with increased fruit and vegetable uptake [28]

Thus multiple lines of evidence now show that skin carotenoid status is responsive to carotenoid intervention involving supplements, vegetable oil extracts given as dietary supplements and carotenoid-rich fruits and vegetables as food-based interventions. [40]

6.1.4 Smoking

Meinke et al. [60] report that the carotenoid levels in skin of smokers are significantly lower, on average by 21% for total carotenoids, than in non-smokers. Mayne et al. [40] report that an analysis of their early survey of 1375 healthy subjects revealed that smokers had much lower levels of skin carotenoids than non-smokers [28] [61]. This has subsequently been observed in other studies [44]. More specifically, smokers had a 20-30% reduction in skin carotenoid levels when compared to non-smokers. This is due to the direct effects of smoking and the fact that smokers are additionally prone to lower intake of carotenoids. Scarmo et al. [58] showed that carotenoid levels in children, having a smoker in the home, were also associated with a modest reduction (7%). Ermakov et al. [28] show data of a 30% decrease of skin carotenoid levels in smokers compared to non-smokers (see Figure 9).

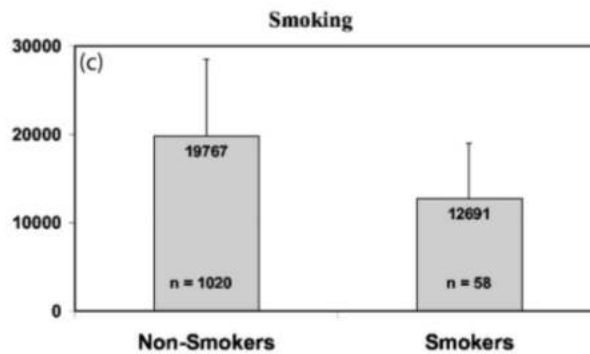


Figure 9: Resonance Raman intensity (counts) in nonsmokers and cigarette smokers, showing ~30% decrease of skin carotenoid levels in smokers [28]

6.2 Skin Pigmentation

Multivariate analysis performed by Mayne et al. [40] showed that skin tone was not significantly associated with skin carotenoid status. It is remarked though that more research is needed in diverse population, with quantitative measures of melanin content, to determine if skin pigmentation is a determinant of skin carotenoid status.

6.3 Genetic Factors

According to Mayne et al. [40] it appears that genetic variation is a significant determinant of individual carotenoid concentrations in blood. However, the impact on total carotenoids in blood would be expected to be less. Relevant to the skin carotenoid biomarker, they are unaware of any published studies examining genetic variation in relation to skin carotenoid status, although such studies are underway.

6.4 Age

Age does not appear to be an important determinant of skin carotenoid status in adults [60]. In babies and young children, however, those who are older on average have higher skin carotenoid status [40].

6.5 Gender

On average, women have higher skin carotenoid status than men, likely reflecting greater intake of fruits and vegetables in women along with smaller body size [40] [60] [44].

6.6 Body Mass Index

Meinke et al. [60] observed that obese subjects (BMI ≥ 30) had 13% lower skin carotenoids, as measured by RRS, compared to normal/overweight subjects (BMI < 30). Rerksuppaphol et al. [71] also observed lower skin carotenoid status in obese subjects relative to normal weight subjects. Body mass index is, according to Mayne et al. [40], weakly and inconsistently associated with lower skin carotenoid status [60] [71]. Mayne remarks that it remains unclear whether lower carotenoid status in obese subjects reflects poorer diet, inflammation, a greater adipose tissue reservoir or multiple effects [40].

7 Pro- and Antioxidant Effects of Carotenoids

Analysis of a multitude of studies has shown beneficial effects of antioxidants on the organism and the positive results achieved with a balanced nutritional intake of food rich in fruit and vegetables concerning medical treatment of various diseases [1] [23]. All antioxidant substances act as a 'protection chain', which means that different antioxidant substances possess a synergic effect and protect each other from direct destruction in the processes of neutralization of the free radicals and other reactive species. Thus, they act effectively only in combination with the other types of antioxidant substances. This relation becomes disturbed when only one component is increased artificially by supplementation [1].

Supplementations with synthetic and extracted antioxidant substances show controversial results with no positive effects and sometimes even negative effects during and after medical therapies for some diseases [1] [23]. This was found for the systemic application of β -carotene and vitamins A and E. The negative results obtained by systemic application of antioxidant substances seem to have been caused by the application of a one-component antioxidant substance system during medical treatment. It can even happen that the antioxidants act, not as radical quenchers, but also as radical producers if their

concentration is higher than the critical level [1]. This critical value depends on the concentration of the antioxidant substances and the combination of antioxidants in which they are applied [23].

8 Topical Versus Systemic Application of Antioxidants

Topically applied, antioxidants penetrated the skin without any loss due to metabolism. However, protection is only provided locally and the penetration into deeper skin layers almost negligible. Systemic application leads to an accumulation of the antioxidant in the whole organism. Both the skin surface and the deeper skin layers are enriched with the applied substance [23].

Additionally, topically applied carotenoids as a single antioxidant component are less stable than the carotenoids in the skin incorporated by nutrition and accumulated in a mixture with different antioxidant substances [67].

9 Carotenoid measurements in children

Aguilar [57] finds that the resonance Raman spectroscopy skin carotenoid concentrations may be valid and reliable indicators of serum concentrations of carotenoids and total fruit and vegetable intake among children. Skin carotenoid levels were positively correlated to serum carotenoid concentrations measured by HPLC among children. Similarly, skin carotenoid levels were positively correlated to total and carotenoid containing fruit and vegetable intake as assessed from both a FFQ and multiple 24HDR.

Skin carotenoids may provide a useful indicator of usual fruit and vegetable intake among children, a group for which it is difficult to obtain accurate information about usual dietary intake [57] [40] [72]. Parents and caregivers typically do not observe all meals consumed and young children lack the cognitive ability to self-report diet [40].

The magnitude of correlation observed for skin carotenoids measured from RRS and serum carotenoids measured with HPLC in children is similar to that observed among adults [57].

10 Skin Aging

Skin aging is a continuous process and results from intrinsic and extrinsic factors. A number of extrinsic factors often act together to prematurely age our skin. Most premature aging is caused by sun exposure and affects parameters of skin structure and surface [73].

Radicals can damage lipids, proteins, DNA as well as collagen and elastin fibres leading not only to skin aging but also to immune suppression and even skin cancer [23] [74]. According to Darvin et al. [74] there is a strong correlation between antioxidants found in the skin and skin aging. A high concentration of antioxidant substances in the skin is protective and associated with a reduction in skin wrinkling. Darvin et al. [75] measured the skin roughness by determining the depth and density of furrows and wrinkle reliefs [23] via profilometry and carotenoid values via RRS. They found a high correlation between skin surface structure and the concentration of carotenoids. Subjects of same age with high concentrations of carotenoids showed significantly less wrinkles than those with low carotenoid values.

Another study [73] investigated the improvement in the skin surface structure after systemic intake of antioxidants (carotenoids, tocopherol, selenium). Skin density and thickness, roughness, scaling,

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

smoothness and wrinkling were determined. After 12 weeks the verum group showed an increase in skin density and thickness as well as improved values for roughness and scaling.

Schröder et al. [66] [63] state that solar radiation damages human skin by causing premature skin ageing. Not only does this result from UV radiation but also from longer wavelengths, in particular near IR irradiation (IRA).

It is not known yet if the process of premature aging of the skin can be modulated by dietary antioxidants. However, several studies show that dietary antioxidants provide photoprotective effects and improve skin structure when administered as food supplements [73].

11 Skin Lipid Profile

Meinke et al. [62] showed that there is an influence of carotenoids on the skin lipid profile.

12 Selected Studies

12.1 One Year Study on the Variation of Carotenoid in vivo: Influence of Dietary Supplementation and Stress Factors

Darvin et al [15] showed that carotenoid levels in the skin rise with higher intake of fruit and vegetables and absence of stress factors whereas negative factors like illness, fatigue, stress, alcohol consumption and smoking lead to a decline of carotenoid levels. Decreases occurred relatively quickly over the course of 2 hours while the recovery usually took up to 3 days. Figure 10 shows data of 10 volunteers participating in the one year study.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

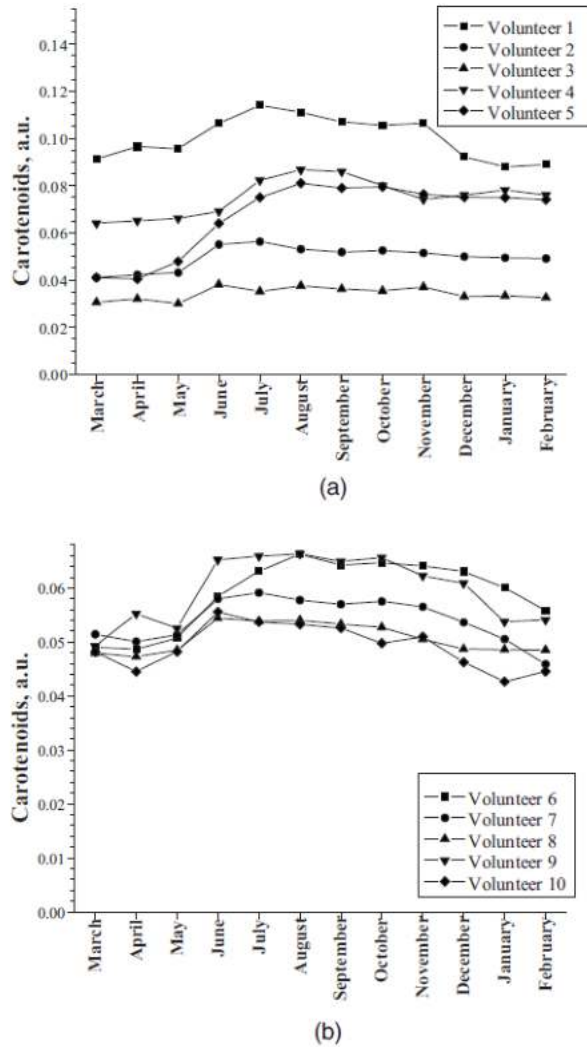


Figure 10: One-year study on the variation of carotenoid antioxidant substances in living human skin by Darvin et al [15]. Subfigure (a) shows carotenoid values of volunteers 1 to 5, subfigure (b) values of volunteers 6 to 10. The volunteer can be classified as follows:

Volunteer 1: very large amount of fruit and vegetables each day

Volunteer 2: small amounts of fruit and vegetables

Volunteer 3: small amounts of fruit and vegetables, strong smoker

Volunteer 4, 6-10: moderate levels of carotenoids in the skin, diets remained relatively constant as did amounts of stress factors

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

Volunteer 5: started to increase his daily consumption of fruit and vegetables consistently for 3 months after the beginning of the measurements; minimized smoking; tried to exclude influence of possible stress factors

The seasonal variation of carotenoid antioxidant levels in the skin can be explained by a higher consumption of fruit and vegetables during summer and autumn months. [15]

12.2 Spectoscopic biofeedback on cutaneous carotenoids as part of a prevention program could be effective to raise health awareness in adolescents

In a recent intervention study [76] conducted by the department of dermatology at the Charité, Berlin, and Opsolution GmbH in 2012, carotenoid status of 50 school kids, aged between 17 and 20 was assessed. Figure 3 shows the study design.

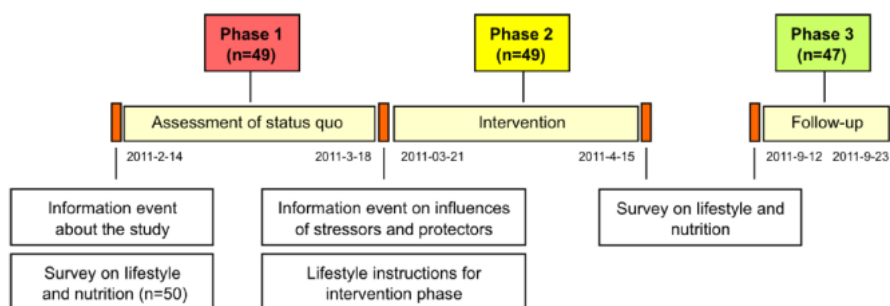


Figure 11: Study design

The carotenoid values measured by the spectroscopic device were shown on a scale from 1 to 12, with 12 corresponding to 1.2 nmol carotenoids per gram skin. The device was calibrated with a RRS system of the Center of Experimental & Applied Cutanoids Physiology of the Charité with which data from more than 10000 volunteers and patients had been investigated over a period of 10 years.

Health related lifestyle factors of the adolescents were assessed via questionnaires. However individual factors on their own are not correlated significantly with the measured carotenoid levels, even though a clear tendency was found. It was rather assumed that different factors have a synergetic effect on the antioxidant status as they have on health in general. Therefore the concentration of cutaneous carotenoids can be seen as a useful marker for general health.

A combination of several health promoting lifestyle habits such as healthy nutritional habits, non-smoking, low alcohol consumption, sufficient sleep and the absence of illness showed a positive effect on cutaneous antioxidant concentrations. Furthermore an association of high carotenoid concentration and good psychological status which was ascertained through questionnaires, could be found. The subjective view on the current overall quality of life correlates significantly with the measured antioxidant concentration. The decrease of the concentration of carotenoids in the skin can be as fast as within 2 hours after a stressful event, but the increase after the supplementation of carotenoid-rich products takes 1 to 3 days.

It was shown that the biofeedback given to the adolescents was a useful instrument to bring invisible physiological parameters to view and, consequently, to influence a subject's behavior. Biofeedback as

part of an integrated health prevention program is able to help increasing the motivation to adopt a healthy lifestyle in high school students. In this particular study students stated that the measurement of their carotenoid status became some sort of competition among themselves. Carotenoid values were compared amongst the students. Even after the intervention study the student retained so of their newly acquired healthy lifestyle habits.

13 Pharmanex, Nuskin and the Biophotonic Scanner

NuSkin Enterprises (kurz NSE; NYSE: NUS) is an American network-marketing-cooperation currently active in more than 40 countries, selling cosmetics, anti-aging-products and nutrition supplements. In 1998 NuSkin acquired Pharmanex.

13.1 Biophotonic Scanner

The Biophotonic Scanner is based on Resonance Raman Spectroscopy. It has not been FDA approved. Pharmanex states that "the BioPhotonic Scanner has not been evaluated or approved by the FDA and is not intended to diagnose, predict, treat, cure or mitigate any disease." Furthermore they say that "Pharmanex is the exclusive owner of the patented, BioPhotonic Scanner technology. The world's first and only tool that measures carotenoid antioxidant levels non-invasively in living human tissue, validated by years of research, over 50 full-length peer-review articles, key studies and demonstrations presented at a number of prestigious scientific meetings and conferences all over the world. This technology is only available for use by the general public through the Pharmanex network of independent distributors."

The measured data is sent to an ipad mini (scanner works only with apple) via WLAN or bluetooth connection for display. In case of offline usage the data is saved locally on the ipad. Being online the data is uploaded to a server database in regular intervals.

The scanner has been built on experience and scientific data from the groups of Prof Gellermann and Prof Bernstein.

Concerning guaranteed results upon consumption/application of their products Pharmanex states: "Pharmanex guarantees that after 60 days of consuming a Guaranteed Product (or 90 days in the case of Eye Formula) at the recommended label dosage, your Skin Carotenoid Score, as determined by the Pharmanex BioPhotonic Scanner, will have increased. If you meet the criteria set forth below and your score has not increased from the time you were initially scanned and began taking the Guaranteed Product, you may submit a written request for a total refund of the purchase price of the approved purchased Guaranteed Product (less shipping costs).

In order to qualify for the BioPhotonic Scanner SCS Guarantee (the "Guarantee"), you must adhere to the following requirements:

The Guarantee applies ONLY to LifePak, LifePak Prime, LifePak Women, LifePak Nano, Jungamals SCS, g3 and Eye Formula ("Guaranteed Products"). LifePak Prenatal is NOT included in the Guarantee. If you are applying the Guarantee to Eye Formula, please read the Eye Formula section below as the rules and timetables for this product are different from the rules and timetables for the other Guaranteed Product.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

You must receive your initial scan before you begin taking any of the guaranteed products. This Guarantee does not apply to people who have taken any of the Guaranteed Products within the past 3 months.

You must establish a monthly Auto-Delivery (ADR) order with the Guaranteed Product for which you intend to claim the Guarantee not later than 7 days following your initial scan.”

Guarantee Usage Requirements:

You must begin taking 2 oz per day of g3 or the recommended dosage of LifePak, LifePak Prime, LifePak Women, LifePak Nano, or Jungamals SCS upon receipt of your product following your initial scan and continue taking the product for a total of 60 consecutive days before your subsequent scan.”

14 Conclusion

According to the *National Academy of Sciences* “blood concentrations of carotenoids are the best biological markers for consumption of fruits and vegetables”. It has been shown that carotenoids can even serve as a biomarker for the whole antioxidant network in the skin. Carotenoid levels in the skin correlate with plasma/blood levels and therefore mirror systemic concentrations.

Resonance Raman Spectroscopy (RRS) has been established as a quick, non-invasive and highly sensitive method to assess carotenoids in the human skin. RRS data correlate significantly with those of plasma HPLC methods. Reflectance spectroscopy is yet another non-invasive method for the assessment of carotenoids. The main advantages of reflection spectroscopy-based devices in comparison to Raman devices are the relatively low price, compact size and light weight. Reflection spectroscopy data correlate with RRS and plasma HPLC.

Validity of non-invasive measurements of carotenoids in human skin has been shown by several groups. Intra-subject variability as well as inter-subject variability of carotenoid measurements via RRS fulfill the requirements for carotenoids to be used as a biomarker. Feasibility and reproducibility of skin carotenoid measurements via RRS in non-lab-conditions has been acknowledged.

Assessed factors influencing carotenoids as a biomarker include irradiation (sunlight/UV/IR), diet and dietary intervention, smoking, gender, obesity (BMI), genetic factors and age (only relevant in children). Furthermore it has been shown that people with high oxidative stress had significantly lower skin carotenoid levels than people with low oxidative stress. It is also suggested that skin carotenoid RRS scores might be useful as a surrogate marker for general antioxidant status.

Skin aging is yet another topic of interest associated with skin carotenoid assessment. A high correlation between skin surface structure and the concentration of carotenoids has been found. Subjects of same age with high concentrations of carotenoids showed significantly less wrinkles than those with low carotenoid values.

Both food-based and supplementation based intervention correlate good with measurements. The composition of nutrition supplements needs to be well chosen.

15 Literaturverzeichnis

- [1] M. Darvin, L. Zastrow, W. Sterry and J. Lademann, "Effect of supplemented and topically applied antioxidant substances on human tissue," *Skin Pharmacological Physiology*, vol. 19, no. 5, pp. 238-247, 2006.
- [2] S. Haag, B. Taskoparan, M. Darvin, N. Groth, J. Lademann, W. Sterry and M. Meinke, "Determination of the antioxidative capacity of the skin in vivo using resonance raman and electron paramagnetic resonance spectroscopy," vol. 20, no. 6, pp. 483-487, 2011.
- [3] H. Maeda and T. Akaike, "Nitric oxide and oxygen radicals in infection, inflammation, and cancer," *Biochemistry (Moscow)*, vol. 63, no. 7, pp. 854-865, 1998.
- [4] Black and HS, "Potential involvement of free radical reactions in ultraviolet light mediated cutaneous damage," *Photochemistry and Photobiology*, vol. 46, no. 2, pp. 213-221, 1987.
- [5] L. Zastrow, N. Groth, F. Klein, D. Kockott, J. Lademann, R. Renneberg and L. Ferrero, "The Missing Link – Light-Induced (280–1,600 nm) Free Radical Formation in Human Skin," *Skin Pharmacology and Physiology*, vol. 22, pp. 31-44, 2009.
- [6] M. Darvin, S. Haag, M. Meinke, L. Zastrow, W. Sterry and J. Lademann, "Radical Production by Infrared A Irradiation in Human Tissue," *Skin Pharmacology and Physiology*, vol. 23, pp. 40-46, 2010.
- [7] K. Burke and H. Wei, "Synergistic damage by UVA radiation and pollutants," *Toxicology and Industrial Health*, vol. 25, p. 219.224, 2009.
- [8] G. Valacchi, C. Sticozzi, A. Pecorelli, F. Cervellati, C. Cervellati and E. Maioli, "Cutaneous responses to environmental stressors," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1271, no. 1, pp. 75-81, 2012.
- [9] W. Dröge, "Free radicals in the physiological control of cell function," *Physiological Reviews*, vol. 82, no. 1, pp. 47-95, 2002.
- [10] M. Jackson, "Free radicals in skin and muscle: damaging agents or signals for adaptation?," *Proceedings of the Nutrition Society*, vol. 58, pp. 673-676, 1999.
- [11] T. Akaike, "Role of free radicals in viral pathogenesis and mutation," *Reviews in Medical Virology*, vol. 11, no. 2, pp. 87-101, 2001.
- [12] N. Dhalla, R. Temsah and T. Netticadan, "Role of oxidative stress in cardiovascular diseases," *Journal of Hypertension*, vol. 18, no. 6, pp. 655-673, 2000.
- [13] B. Halliwell, "Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?," *Journal of Neurochemistry*, vol. 97, no. 6, pp. 1634-1658, 2006.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

- [14] C. Sander, H. Chang, F. Hamm, P. Elsner and J. Thiele, "Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis," *International Journal of Dermatology*, vol. 43, no. 5, pp. 326-335, 2004.
- [15] M. Darvin, A. Patzelt, F. Knorr, U. Blume-Peytavi, W. Sterry and J. Lademann, "One-year study on the variation of carotenoid antioxidant substances in living human skin: influence on dietary supplementation and stress factors," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 13, no. 4, 2008.
- [16] E. Offord, J.-C. Gautier, O. Avanti, C. Scaletta, F. Runge and K. A. L. Krämer, "Photoprotective potential of lycopene, beta-carotene, vitamin e, vitamin c and carnolic acid in uva-irradiated human skin fibroblasts," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 32, no. 12, pp. 1293-1303, 2002.
- [17] M. Wrona, W. Korytowski, M. Rożanowska, T. Sarna and T. Truscott, "Cooperation of antioxidants in protection against photosensitized oxidation," vol. 35, no. 10, pp. 1319-1329, 2003.
- [18] H. Biesalski, C. Hemmes, W. Hopfenmüller, C. Schmid and H. Gollnick, "Effects of controlled exposure of sunlight on plasma and skin levels of beta-carotene," *Free Radicals Research*, vol. 24, no. 3, pp. 215-224, 1996.
- [19] J. Ribaya-Mercado, M. Garmyn, B. Gilchrist and R. Russell, "Skin lycopene is destroyed preferentially over beta-carotene during ultraviolet irradiation in humans," *Journal of Nutrition*, vol. 125, no. 7, pp. 1854-1859, 1995.
- [20] W. Markesbery, "Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 56, no. 1, pp. 467-477, 1997.
- [21] E. Koutsilieris, C. Scheller, E. Grünblatt, K. Nara, J. Li and P. Riederer, "Free radicals in Parkinson's disease," *Journal of Neurology*, vol. 249, 2002.
- [22] R. McMullen, *Antioxidants and the Skin*, 1 ed., Allured Pub Corp., 2013.
- [23] J. Lademann, A. Patzelt, S. Schanzer, H. Richter, M. Meinke, W. Sterry, L. Zastrow, O. Doucet, T. Vergou and M. Darvin, "Uptake of antioxidants by natural nutrition and supplementation: pros and cons from the dermatological point of view," *Skin Pharmacology and Physiology*, vol. 24, pp. 269-273, 2011.
- [24] W. Stahl, U. Heinrich, S. Wiseman, O. Eichler, H. Sies and H. Tronnier, "Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans," *The American Society for Nutritional Sciences*, vol. 131, no. 5, pp. 1449-1451, 2001.
- [25] W. Stahl and H. Sies, "Bioactivity and protective effects of natural carotenoids," *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1740, no. 2, pp. 101-107, 2004.
- [26] L. Skibsted, "Carotenoids in Antioxidant Networks. Colorants or Radical Scavengers," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 60, pp. 2409-2417, 2012.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

- [27] M. Passos and C. Ribeiro, Eds., *Innovation in Food Engineering: New Techniques and Products*, Boca Ranton: CRC Press, 2010.
- [28] I. Ermakov, M. Sharifzadeh, M. Ermakova and W. Gellermann, "Resonance Raman detection of carotenoid antioxidants in living human tissue," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 10, no. 6, 2005.
- [29] I. Ermakov, M. Ermakova, R. McClane and W. Gellermann, "Resonance Raman detection of carotenoid antioxidants in living human tissues," *Optics Letters*, vol. 26, no. 15, pp. 1179-1181, 2001.
- [30] H. Sies and W. Stahl, "Nutritional protection against skin damage from sunlight," *Annual Review of Nutrition*, vol. 24, pp. 173-200, 2004.
- [31] M. Darvin, M. Meinke, W. Sterry and J. Lademann, "Optical methods for noninvasive determination of carotenoids in human and animal skin," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 18, no. 6, pp. 612-630, 2013.
- [32] F. Niedorf, "Entwicklung eines Verfahrens zur quantitativen Auswertung nicht-invasiver reflexionsspektroskopischer Messungen von Beta-Carotin in der Haut," Münster, 2001.
- [33] H. Krinsky, "The interaction of oxygen and oxyradicals with carotenoids," *Journal of National Cancer Institute*, vol. 69, pp. 205-210, 1982.
- [34] M. Prince and J. Frisoli, "Beta-carotene accumulation in serum and skin," *American Journal of Clinical Nutrition*, pp. 175-181, 1993.
- [35] W. Stahl, U. Heinrich, H. Jungmann, H. Sies and H. Tronnier, "Carotenoids and carotenoids plus vitamin E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans," *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 71, no. 3, pp. 795-798, 2000.
- [36] W. Stahl, "Increased dermal carotenoid levels assessed by noninvasive reflection spectrophotometry correlate with serum levels in women ingesting betatene," *The Journal of Nutrition*, vol. 128, no. 5, pp. 903-907, 1998.
- [37] H. Jungmann, U. Heinrich and M. T. H. Wiebusch, "Der Einsatz der Reflexionsspektroskopie in der Dermatologie am Beispiel des beta-Karotin," *Kosmetische Medizin*, pp. 50-57, 1996.
- [38] Y. Peng, Y. Peng, Y. Lin, T. Moon and D. R. C. Roe, "Concentrations and plasma-tissue-diet relationships of carotenoids, retinoids and tocopherols in humans," *Nutrition and Cancer*, vol. 23, pp. 233-246, 1995.
- [39] M. Meinke, R. Müller, A. Bechtel, S. Haag, M. Darvin, S. Lohan, F. Ismaeel and J. Lademann, "Evaluation of carotenoids and reactive oxygen species (ROS) in human skin after UV irradiation: a critical comparison between in vivo and ex vivo investigations," *Experimental Dermatology*, 2014.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

- [27] M. Passos and C. Ribeiro, Eds., *Innovation in Food Engineering: New Techniques and Products*, Boca Ranton: CRC Press, 2010.
- [28] I. Ermakov, M. Sharifzadeh, M. Ermakova and W. Gellermann, "Resonance Raman detection of carotenoid antioxidants in living human tissue," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 10, no. 6, 2005.
- [29] I. Ermakov, M. Ermakova, R. McClane and W. Gellermann, "Resonance Raman detection of carotenoid antioxidants in living human tissues," *Optics Letters*, vol. 26, no. 15, pp. 1179-1181, 2001.
- [30] H. Sies and W. Stahl, "Nutritional protection against skin damage from sunlight," *Annual Review of Nutrition*, vol. 24, pp. 173-200, 2004.
- [31] M. Darvin, M. Meinke, W. Sterry and J. Lademann, "Optical methods for noninvasive determination of carotenoids in human and animal skin," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 18, no. 6, pp. 612-630, 2013.
- [32] F. Niedorf, "Entwicklung eines Verfahrens zur quantitativen Auswertung nicht-invasiver reflexionsspektroskopischer Messungen von Beta-Carotin in der Haut," Münster, 2001.
- [33] H. Krinsky, "The interaction of oxygen and oxyradicals with carotenoids," *Journal of National Cancer Institute*, vol. 69, pp. 205-210, 1982.
- [34] M. Prince and J. Frisoli, "Beta-carotene accumulation in serum and skin," *American Journal of Clinical Nutrition*, pp. 175-181, 1993.
- [35] W. Stahl, U. Heinrich, H. Jungmann, H. Sies and H. Tronnier, "Carotenoids and carotenoids plus vitamin E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans," *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 71, no. 3, pp. 795-798, 2000.
- [36] W. Stahl, "Increased dermal carotenoid levels assessed by noninvasive reflection spectrophotometry correlate with serum levels in women ingesting betatene," *The Journal of Nutrition*, vol. 128, no. 5, pp. 903-907, 1998.
- [37] H. Jungmann, U. Heinrich and M. T. H. Wiebusch, "Der Einsatz der Reflexionsspektroskopie in der Dermatologie am Beispiel des beta-Karotin," *Kosmetische Medizin*, pp. 50-57, 1996.
- [38] Y. Peng, Y. Peng, Y. Lin, T. Moon and D. R. C. Roe, "Concentrations and plasma-tissue-diet relationships of carotenoids, retinoids and tocopherols in humans," *Nutrition and Cancer*, vol. 23, pp. 233-246, 1995.
- [39] M. Meinke, R. Müller, A. Bechtel, S. Haag, M. Darvin, S. Lohan, F. Ismaeel and J. Lademann, "Evaluation of carotenoids and reactive oxygen species (ROS) in human skin after UV irradiation: a critical comparison between in vivo and ex vivo investigations," *Experimental Dermatology*, 2014.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

- [40] S. Mayne, B. Cartmel, S. Scarmo, L. Jahns, I. Ermakov and W. Gellermann, "Resonance Raman spectroscopic evaluation of skin carotenoids as a biomarker of carotenoid status for human studies," *Archive of Biochemistry and Biophysics*, vol. 539, no. 2, pp. 163-170, 2013.
- [41] I. Ermakov, M. Ermakova, W. Gellermann and J. Lademann, "Noninvasive selective detection of lycopene and beta-carotene in human skin using Raman spectroscopy," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 9, no. 2, pp. 332-338, 2004.
- [42] M. Darvin, I. Gersonde, H. Albrecht, S. Gonchukov, W. Sterry and J. Lademann, "Determination of beta carotene and lycopene concentrations in human skin using resonance raman spectroscopy," *Laser Physics*, vol. 15, no. 2, pp. 295-299, 2005.
- [43] M. Darvin, I. Gersonde, M. Meinke, W. Sterry and J. Lademann, "Non-invasive in vivo determination of the carotenoids beta-carotene and lycopene concentrations in the human skin using the raman spectroscopic method," *Journal of Physics D: Applied Physics*, vol. 38, pp. 2696-2700, 2005.
- [44] S. Mayne, B. Cartmel, S. Scarmo, H. Lin, D. Leffell, E. Welch, I. B. P. Ermakov, P. Bernstein and W. Gellermann, "Noninvasive assessment of dermal carotenoids as a biomarker of fruit and vegetable intake," *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 92, no. 4, pp. 794-800, 2010.
- [45] M. Darvin, C. Sandhagen, W. Koecher, W. Sterry, J. Lademann and M. Meinke, "Comparison of two methods for non-invasive determination of carotenoids in human and animal skin: Raman spectroscopy versus reflection spectroscopy," *Journal of Biophotonics*, vol. 5, no. 7, pp. 550-558, 2012.
- [46] I. Ermakov and W. Gellermann, "Dermal carotenoid measurements via pressure mediated reflection spectroscopy," *Journal of Biophotonics*, vol. 5, no. 7, pp. 559-570, 2012.
- [47] I. Ermakov and W. Gellermann, "Dermal carotenoid measurements via pressure mediated reflection spectroscopy," *Journal of Biophotonics*, vol. 5, no. 7, pp. 559-570, 2012.
- [48] U. D. o. H. a. H. S. U.S. Department of Agriculture, *Dietary Guidelines for Americans*, 7 ed., Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2010.
- [49] S. Krebs-Smith, P. Guenther, A. Subar, S. Kirkpatrick and W. Kevin, "Americans Do Not Meet Federal Dietary Recommendations," *The Journal of Nutrition*, vol. 140, no. 10, pp. 1832-1838, 2010.
- [50] N. A. o. S. F. a. N. B. Institute of Medicine, *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*, Washington, D.C.: National Academy Press, 2000.
- [51] U. Blume-Peytavi, A. Rolland, M. Darvin, A. Constable, I. Pineau, C. Voit, K. Zappel, G. Schäfer-Hersterberg, M. Meinke, R. Clavez, W. Sterry and J. Lademann, "Cutaneous lycopene and beta-carotene levels measured by resonance Raman spectroscopy: High reliability and sensitivity to oral lactolycopene deprivation and supplementation," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 73, no. 1, pp. 187-194, 2009.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

- [52] D. Talwar, T. Ha, J. Cooney, C. Brownlee and D. O'Reilly, "A routine method for the simultaneous measurement of retinol, alpha-tocopherol and five carotenoids in human plasma by reverse phase HPLC," *Clinical Chimica Acta*, vol. 270, no. 2, pp. 85-100, 1998.
- [53] J. Lademann, M. Meinke, W. Sterry and M. Darvin, "Carotenoids in human skin," *Experimental Dermatology*, vol. 20, no. 5, pp. 377-382, 2011.
- [54] A. Svilaas, A. Sakhi, L. Andersen, T. Svilaas, E. Ström, D. Jacobs, L. Ose and R. Blomhoff, "Intakes of antioxidants in coffee, wine and vegetables are correlated with plasma carotenoids in humans," *American Society for Nutritional Sciences*, vol. 134, no. 3, pp. 562-567, 2004.
- [55] L. Jahns, L. Johnson, S. Mayne, B. Cartmel, M. S. Picklo, I. Ermakov, W. Gellermann and L. Whigham, "Skin and plasma carotenoid response to a provided intervention diet high in vegetables and fruit: uptake and depletion kinetics," *American Society for Nutrition*, vol. 100, no. 3, pp. 930-937, 2014.
- [56] I. Ermakov and W. Gellermann, "Validation model for Raman based skin carotenoid detection," *Archive of Biochemistry and Biophysics*, vol. 504, no. 1, pp. 40-49, 2010.
- [57] S. Aguilar, "Validating Resonance Raman Spectroscopy: a Non-invasive Assessment of Skin Carotenoids as a Biomarker of Fruit and Vegetable Intake in Children," 2013.
- [58] S. Scarmo, K. Henebery, H. Peracchio, B. Cartmel, H. Lin, I. Ermakov, W. Gellermann, P. Bernstein, V. Duffy and S. Mayne, "Skin carotenoid status measured by resonance Raman spectroscopy as a biomarker of fruit and vegetable intake in preschool children," *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 66, no. 5, pp. 555-560, 2012.
- [59] S. Scarmo, B. Cartmel, H. Lin, L. DJ, I. Ermakov, W. Gellermann, P. Bernstein and S. Mayne, "Single v. multiple measures of skin carotenoids by resonance Raman spectroscopy as a biomarker of usual carotenoid status," *British Journal of Nutrition*, vol. 110, no. 5, pp. 911-917, 2013.
- [60] M. Meinke, A. Lauer, B. Taskoparan and I. Gersonde, "Influence on the carotenoid levels of skin arising from age, gender, body mass index in smoking/non-smoking individuals," *Free Radicals and Antioxidants*, vol. 1, no. 2, pp. 15-20, 2011.
- [61] W. Gellermann, J. Zidichouski, C. Smidt and P. Bernstein, "Raman detection of carotenoids in human tissue," in *Carotenoids and Retinoids, Molecular Aspects and Health Issues*, K. Kraemer, L. Packer, H. Sies and U. Obermüller-Jevic, Eds., AOCs Publishing, 2005.
- [62] M. Meinke, A. Friedrich, K. Tschersch, S. Haag, M. Darvin, H. Vollert, N. Groth, J. Lademann and S. Rohn, "Influence of dietary carotenoids on radical scavenging capacity of the skin and skin lipids," *European Journal of Pharmacology Biopharmacology*, vol. 84, no. 2, pp. 365-373, 2013.
- [63] P. Schröder, J. Lademann, M. Darvin, H. Stege, C. Marks, S. Bruhnke and J. Krutmann, "Infrared radiation-induced matrix metalloproteinase in human skin: implications for protection," vol. 128, pp. 2491-2497, 2008.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

- [64] M. Darvin, I. Gersonde, H. Albrecht, L. Zastrow, W. Sterry and J. Lademann, "In vivo raman spectroscopic analysis of the influence of IR radiation on the carotenoid antioxidant substances beta-carotene and lycopene in the human skin," *Laser Physics Letters*, vol. 4, no. 4, pp. 318-321, 2007.
- [65] M. Akhalaya, G. Maksimov, A. Rubin, J. Lademann and M. Darvin, "Molecular action mechanisms of solar infrared radiation and heat on human skin," *Ageing Research Reviews*, vol. 16, pp. 1-11, 2014.
- [66] P. Schröder, C. Calles, T. Benesova, F. Macaluso and J. Krutmann, "Photoprotection beyond ultraviolet radiation - effective sun protection has to include protection against infrared a radiation-induced skin damage," *Skin Pharmacology and Physiology*, vol. 23, pp. 15-17, 2010.
- [67] M. Darvin, J. Fluhr, M. Meinke, I. Zastrow, W. Sterry and J. Lademann, "Topical beta-carotene protects against infra-red-light-induced free radicals," *Experimental Dermatology*, vol. 20, no. 2, pp. 125-129, 2011.
- [68] I. Ermakov, M. Sharifzadeh, P. Bernstein and W. Gellermann, "Application of Resonance Raman Spectroscopy to the Detection of Carotenoids in Vivo," in *Carotenoids - Physical, Chemical and Biological Functions and Properties*, T. Landrum, Ed., CRC Press, 2009.
- [69] R. Goralczyk, "Skin Photoprotection by Carotenoids," in *Carotenoids Volume 5: Nutrition and Health*, vol. 5, Birkhauser Verlag, 2009, pp. 335-362.
- [70] M. Meinke, M. Darvin, H. Vollert and J. Lademann, "Bioavailability of natural carotenoids in human skin compared to blood," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 76, no. 2, pp. 269-274, 2010.
- [71] S. Rerksuppaphol and L. Rerksuppaphol, "Effect of fruit and vegetable intake on skin carotenoid detected by non-invasive Raman spectroscopy," *Journal of Medical Association of Thailand*, vol. 89, no. 8, pp. 1206-1212, 2006.
- [72] M. Livingstone and P. Robson, "Measurement of Dietary Intake in Children," *Proceedings of the Nutrition Society*, vol. 59, no. 2, pp. 279-293, 2000.
- [73] U. Heinrich, H. Tronnier, W. Stahl, M. Béjot and J. Maurette, "Antioxidant supplements improve parameters related to skin structure in humans," *Skin Pharmacology and Physiology*, vol. 19, pp. 224-231, 2006.
- [74] M. Darvin, S. Schanzer, A. Teichmann, U. Blume-Peytavi, W. Sterry and J. Lademann, "Functional food and bioavailability in the target organ skin," *Hautarzt*, vol. 57, no. 4, pp. 288-290, 2006.
- [75] M. Darvin, A. Patzelt, S. Gehse, S. Schanzer, C. Benderoth, W. Sterry and J. Lademann, "Cutaneous concentration of lycopene correlates significantly with the roughness of the skin.," *European Journal of Pharmacology and Biopharmacology*, vol. 69, no. 3, pp. 943-947, 2008.

Non-invasive Assessment of Carotenoid Status in vivo in the Human Skin

- [76] R. Yu, W. Köcher, M. Darvin, M. Büttner, S. Jung, B. Lee, C. Klotter, K. Hurrelmann, M. Meinke and J. Lademann, "Spectroscopic biofeedback on cutaneous carotenoids as part of a prevention program could be effective to raise health awareness in adolescents," *Journal of Biophotonics*, vol. 7, no. 11-12, pp. 926-937, 2014.
- [77] W. Köcher, "Verfahren und Vorrichtung zur Erzielung von Biofeedback-Informationen". Patent WO 2013023637 A2, 2011.

28 June 2018/*In-vivo* Raman spectroscopy: from basics to applications

Eliana Cordero; Ines Latka; Christian Matthäus; Iwan W. Schie; Jürgen Popp

Author Affiliations +

J. of Biomedical Optics, 23(7), 071210 (2018). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.7.071210>

Abstract

For more than two decades, Raman spectroscopy has found widespread use in biological and medical applications. The instrumentation and the statistical evaluation procedures have matured, enabling the lengthy transition from *ex-vivo* demonstration to *in-vivo* examinations. This transition goes hand-in-hand with many technological developments and tightly bound requirements for a successful implementation in a clinical environment, which are often difficult to assess for novice scientists in the field. This review outlines the required instrumentation and instrumentation parameters, designs, and developments of fiber optic probes for the *in-vivo* applications in a clinical setting. It aims at providing an overview of contemporary technology and clinical trials and attempts to identify future developments necessary to bring the emerging technology to the clinical end users. A comprehensive overview of *in-vivo* applications of fiber optic Raman probes to characterize different tissue and disease types is also given.

1.

Introduction

Raman spectroscopy is a label-free, nondestructive, and noninvasive method that provides information about the molecular composition and structure of a sample. It has found widespread use in the fields of material sciences, pharmaceutical analysis, inline and offline process controlling, airport security, and many others. In the last few decades, Raman spectroscopy has also begun to emerge as a promising tool for biomedical analytics and clinical diagnostics, such as the detection and staging of cancer, and has been validated in countless *ex-vivo* studies.¹⁻⁴

¹¹ Due to the highly promising results, there has been an incredible effort to move Raman spectroscopy to clinical *in-vivo* applications, where the method can unfold its full diagnostic potential. Although these *in-vivo* studies demonstrate a superb diagnostic potential of Raman spectroscopy in clinical surroundings, they also reveal technological challenges and shortcomings of the method. Due to the highly complex implementation of the technique for *in-vivo* applications it is often difficult, especially for novice scientists in the field of *in-vivo* Raman spectroscopy, to assess the relevant instrumental design parameters and their influence on the detected signal, the different available fiber optical Raman probe designs, and the readily evaluated *in-vivo* applications.

The implementation of Raman spectroscopy for clinical applications significantly differs from Raman-based analysis of prokaryotic and eukaryotic cells. For example, to provide easy access to most anatomical locations *in-vivo*, fiber optic Raman probes, which are designed for specific applications and are available in a large number of configurations, are required. Due to the generation of a strong Raman background in the fiber, the development of those probes is highly complex and complicates the development of single-use probes. Moreover, probes have to be designed in a way that allows sustainable sterilization procedures to be routinely used in a medical environment. Because fiber optic Raman probes are usually single-point sensors, efforts have to be made to register the measurement spot at the body site to determine the precise location of the optical biopsy. This is often achieved through image guidance, and the combination with other modalities, such as white-light or fluorescence imaging, optical coherence tomography (OCT), optoacoustic or magnetic resonance (MR) tomography, and many others. The additional imaging modalities can also deliver complementary information of the target region and can significantly boost sensitivity and specificity. It is well-known that in biomedical applications intrinsic autofluorescence can easily obscure the weak Raman signal.¹² This can, for

the most part, be circumvented using 785 or 830 nm as the excitation wavelength and often in combination with other software¹³ or hardware-based methods,¹⁴ such as time gating,¹⁵ frequency modulation,¹⁶ and shifted excitation.^{17,18}

In addition to the Raman probes, the entire Raman system, including the narrowband laser source, the optical and electronic components, the software for the device controlling, and data processing are underlying stringent requirements to achieve desirable results. Moreover, the Raman device has to be developed in agreement with local and global medical regulatory standards for the application in clinical studies. This includes risk analysis, which has to prove that the benefits provided by the method outweigh possible risks. An ongoing problem in the field is also the frequently observed inconsistencies of spectral biomarkers for the same diseases. When proper spectral disease markers are available, real-time analysis of the measured Raman spectra is a key requirement for clinical applications. This normally requires a sophisticated statistical analysis,^{19–21} relying on pre-established databases with a multitude of stored sample data.

This review aims to provide an overview of the different aspects and challenges for moving Raman spectroscopy from research laboratories to clinics to novice scientists in the field of *in-vivo* Raman spectroscopy. The overview starts with the basic requirements for the instrumentation and outlines the relevant instrumental parameters, which are needed to reliably detect the weak Raman signal, following an outline of common fiber optic Raman probe developments and common geometries for *in-vivo* applications. Finally, the review provides a comprehensive summary focusing specifically on *in-vivo* applications, using Raman spectroscopy of different disease types and different organs.

2. Raman Instrumentation

The successful implementation of any application using Raman spectroscopy is tightly bound by the instrumental parameters, which have to be chosen very carefully to measure the weak Raman signals often in the presence of a high background. As such, this section outlines the most important factors for the required components, such as excitation sources, detectors, and spectrometers, and relates the information to the relevant parameters, such as linewidth, noise sources, and resolution. A comprehensive overview of all discussed parameters is summarized in [Table 1](#).

Table 1

These device parameters are most commonly found in clinical *in-vivo* Raman spectroscopy. The table provides only a general overview of the available parameter space. In some implementations, the parameters can vary from the parameters in the table. Moreover, keep in mind that many of the parameters are coupled.

Device	Relevant parameters	Typical parameter values	Influences
Detector	QE	30 to 90% @ 900 nm	SNR, acquisition time
	Read-out-speed	16 kHz to 8 MHz	SNR; number of frames/s
	Read noise	3 to 20e ⁻ /pixel 20 e ⁻ /pixel	SNR; acquisition time
	Dark current	0.0001 to 0.03e ⁻ /s/pixel 0.03 e ⁻ /s/pixel @ at -80°C-80°C	SNR; acquisition time
	Number of pixels	Horizontally: 532 to 2048	Spectral range

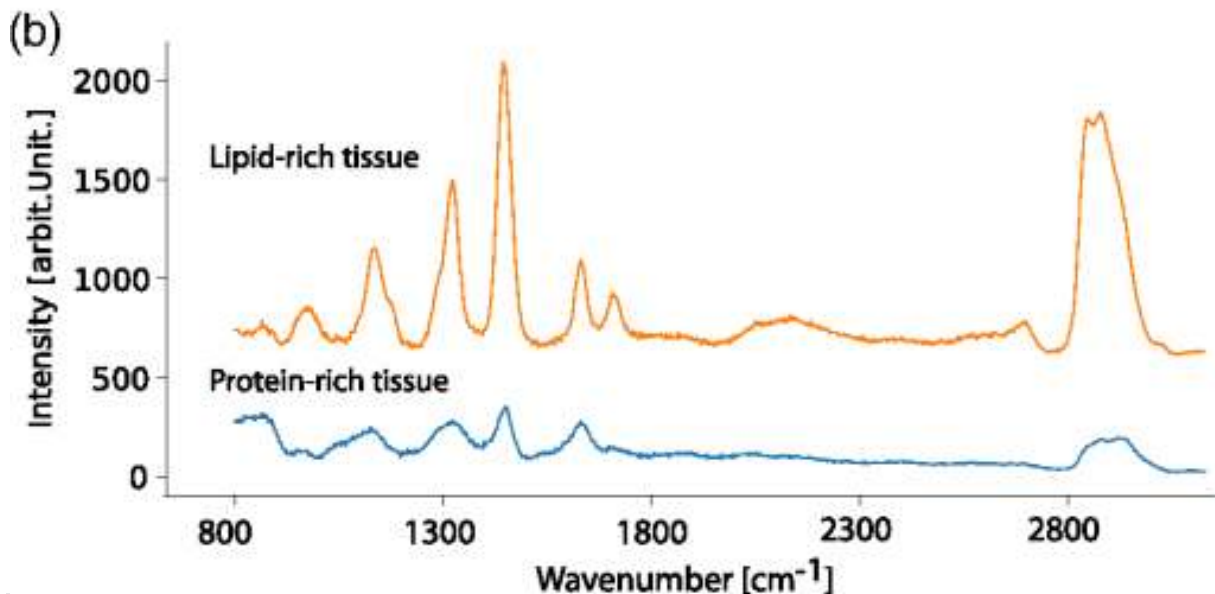
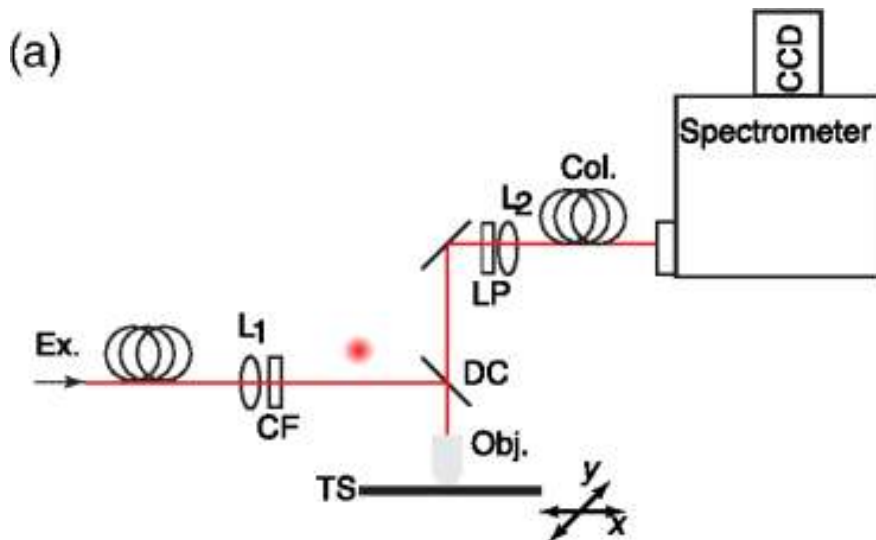
Excitation sources	Pixel size	Vertically: 100 to 2048 13×13μm ² 13×13 μm ² to 26×26μm ² 26×26 μm ²	Etendue Resolution
	Wavelengths	785 nm; 830 nm; 1064 nm	Autofluorescence; SNR
	Spectral linewidth	typ. <100pm<100 pm	Resolution
	Excitation power	10 to 150 mW	SNR; sample damage
Spectrometer	f/#f/#	1.8 to 9.7	Light gathering ability
	Slit width	50 to 200μm 200 μm	Resolution
	Focal length	150 to 750μm 750 μm	Resolution

In comparison with most eukaryotic and prokaryotic cells, the Raman signals of histopathological tissue biopsies and *in-vivo* measurements are highly prone to exhibit a strong autofluorescence. While other methods such as fluorescence lifetime microscopy (FLIM) rely on the presence of tissue autofluorescence, in Raman spectroscopy the presence of fluorescence creates significant complications. To overcome these drawbacks, near-infrared lasers, most commonly 785 and 830 nm, are used for the excitation of a Raman signal from tissue samples. Due to the narrow spectral width of vibrational bands, which are on the order of a few cm^{-1} , the linewidth for the excitation lasers is constrained, which means that the excitation linewidth should be $<0.1\text{nm}$ to achieve high-resolution spectra. Most of the excitation sources used for biomedical Raman spectroscopy exhibit linewidths of a few picometers with a high excitation power, resulting in higher cost. For low-cost implementations it is, therefore, worthwhile to consider the appropriate laser parameters.

For imaging applications on *ex-vivo* biopsies, the sample is usually placed on an x - y - z translational stage with submicrometer step-size resolution and illuminated using an objective lens with a high numerical aperture (NA), typically >0.5 and most commonly close to NA 1.0. This is further combined with appropriate illumination and collection optics, which ensure a signal generation and collection from a diffraction-limited spot. When the proper aperture is added in the conjugate focal plane, the Raman acquisition can be operated confocally and enables a three-dimensional (3-D) sectioning of the biopsy sample. Using a confocal Raman implementation, a biopsy probe can be easily mapped, and the biochemical information can be directly correlated to the histopathological hematoxylin and eosin (H&E) staining. A typical Raman imaging setup is shown in Fig. 1(a) and two exemplary Raman spectra of lipid-rich and protein-rich tissue are shown in Fig. 1(b). A comprehensive overview of different Raman-instrumentation schemes, which can be combined with the various probe designs, is given in Refs. 2 and 22.

Fig. 1 [Download](#)

(a) Typical Raman setup for the acquisition of Raman images of biopsies. Required components are L1-2-fiber coupling lens, CL, cleanup filter; DC, dichroic filter; LP, longpass filter; Obj., objective lens; collection and illumination fiber; and TS, translational stage; (b) typical Raman spectra from lipid- and protein-rich areas of a tissue sample.



Due to long acquisition times, typically on the order of seconds for a single spectrum, Raman imaging is usually not an option for *in-vivo* applications. *In-vivo* measurements are, therefore, most commonly performed by acquiring single-point Raman spectra using fiber optic probes. The design of such Raman probes will be discussed in detail in Sec. 3 of this review.

The key component of a Raman system is the detector, which in most cases is a charged coupled device (CCD). Several important factors have to be considered when choosing the appropriate CCD array for any Raman spectroscopy application. Specifically, the noise level and the quantum efficiency are of great importance. Because of the very low intensity of a Raman signal, typically on the order of 10^4 to 10^5 collected photons for an entire Raman spectrum from a protein-rich tissue sample, using a 785-nm excitation with an excitation of about 50-mW power in the sample plane, a collection NA of 0.35, and $100\text{-}\mu\text{m}$ spot size, it is crucial that the quantum efficiency is high. Keeping in mind that while 10^5 photons are quite a large number in comparison with many other applications, the total number of photons is typically distributed over 600 CCD-pixels, which results on average in <170 photons per pixel. For high-performance scientific CCD cameras that are currently commercially available, the QE is above 90% for the low-wavenumber region, which is between 800 and 910 nm, corresponding to 238 and 1750 cm^{-1} , respectively, for a 785-nm excitation laser. This allows the photons generated in the low-wavenumber region to be efficiently detected. For the high-wavenumber region, which is located between 1006 and 1030 nm for a 785-nm

excitation laser, corresponding to 2800 and 3000 cm^{-1} –13000 cm^{-1} , respectively, the QE is significantly reduced due to the band gap of silica. The OH stretching region of water, which extends all the way to 3800 cm^{-1} –13800 cm^{-1} , corresponding to 1120 nm, exhibits an even lower QE, i.e., <10%. Generally, photons are not detectable above 1100 nm using silicon-based CCD detectors. This is of interest because it has been previously demonstrated that the water region can provide valuable information in differentiating tumor from nontumor tissue.²³ There are several different architecture-types of CCDs available, e.g., front-illuminated (FI), back-illuminated (BI), and back-illuminated deep-depletion (BI-DD) cameras. FI cameras have QEs well below 50% for the wavelength regions mentioned above and are only suitable for applications where this lack of QE can be compensated for by the excitation power or acquisition time. However, FI cameras are also available at a lower price, compared with the two other designs, and have nearly no dark current. The BI-CCD cameras have significantly higher QE than FI-CCD cameras but can suffer from etaloning, which is specifically disruptive when dealing with high fluorescence backgrounds. Etaloning is created by NIR photons that were not absorbed in the photosensitive region but reflected at the detector interface, creating a ringing pattern on the spectrum and significantly altering the Raman spectrum. BI-DD-CCD cameras have a thicker photosensitive region, which helps to reduce the etaloning effect and provides the highest QE in the NIR region, but it also comes at a higher cost.

There have been new developments toward the implementation of InGaAs detectors for the short-wave infrared (SWIR) region. Although some promising first results have been demonstrated by the group around Puppels,²⁴ one of the main problems is the significantly higher dark noise and read noise, which can be quite challenging for some applications. Moreover, due to the $1/\lambda^4$ dependency of the Raman intensity on the excitation wavelength λ , the Raman signal generation for a 1064-nm excitation is reduced 3.4-fold in comparison with a 785-nm excitation.

There are two main noise sources for the signal acquisition using CCD cameras: read noise and dark noise. As the name suggests, read noise is generated during the read-out process of the charges from the chip and the preamplification step on the CCD camera. In addition to the device-associated noise sources, for most applications the fundamental limit for the recovery of a Raman signal is the photon shot noise. Read noise depends on the acquisition speed and varies for commonly used scientific CCD detectors between 3 and 20 electrons per pixel for comparable models from different manufacturers. Hence, specifically for low-signal applications, it is important to ensure that the right acquisition speed is chosen to ensure the highest achievable signal-to-noise ratio (SNR). Electron multiplying CCDs (EMCCDs) are frequently mentioned and have readily been used in Raman spectroscopy of biological samples. These, however, only help to circumvent the read noise using electron amplification before the electron-to-voltage conversion in the AD unit. An often-unmentioned fact about EMCCDs is that they have a higher charge transfer noise, which is given by a factor of $\sqrt{2}$. This means that only for acquisition at a very low-signal level, i.e., 10 to 20 photons per pixel, does the EMCCD outperform a CCD. However, due to the higher noise factor for longer acquisition times and higher photon levels, which is the most common case for Raman spectroscopy, the noise level of an EMCCD will be higher than for a CCD. Also, the cost for an EMCCD detector is significantly higher than any of the standard CCD detectors. A good comparison for the noise performance of different detectors is given in Ref. 25. To measure the read noise of a CCD detector, one can simply acquire a dark spectrum at a short acquisition time, e.g., 50 ms, and very small number of vertical pixels, ensuring that the dark current becomes negligible. When no specific imaging information is required, it is possible to perform a vertical hardware binning of the entire CCD-chip or a defined region. This can help to increase the signal and ensures that read noise is only affecting individual pixels. However, for some implementations, such as line-excitation or spatial-offset Raman spectroscopy (SORS), it is important to retain the vertical information on the detector because it is correlated to spatial information in the sample. Here, the SNR level is reduced in comparison with comparable measurements with full vertical binning.

In addition to the read noise, dark noise is an important factor to consider when choosing the right CCD detector for biomedical Raman applications. Dark noise occurs from thermally generated electrons in the silicon structure of the CCD and is highly temperature dependent. Hence, all

common detectors in Raman spectroscopy are cooled. Nowadays, thermoelectric cooling is the method of choice, whereas liquid-nitrogen-cooled detectors are found less frequently in laboratories. The large and cumbersome liquid-nitrogen-cooled detectors would also further complicate the transition of Raman devices to clinics, where space in the operating theater is very limited. Typical values for the dark current at -80°C – 80°C vary between 0.0001 and 0.03 electrons per second per pixel, with significantly lower values for FI-CCDs than for BI-DD-CCDs. The generation of dark noise has also to be considered for any Raman spectroscopy application. For short acquisition times, i.e., $<1\text{s}<1\text{ s}$, and a vertical binning of a few dozen of pixels, the dark noise contribution is negligible and way below the read noise level. If, however, the signal acquisition is on the order of a few seconds, or a large number of pixels are vertically binned, which is common when using Raman fiber probes with multiple collection fibers, it can become the limiting factor. Considering typical fiber probes with 10 collection fibers, with a core diameter of $200\mu\text{m}$ $200\mu\text{m}$, an imaging ratio, which is the magnification of the entrance slit into the detection plane, of the spectrometer of one, and a pixel size of $20\mu\text{m}$ $20\mu\text{m}$, a total of 100 pixels will be illuminated. Performing a vertical binning over 100 pixels and an acquisition time of 10 s, the dark current for typical BB-DD CCDs is readily 30 electrons per second per pixel, resulting in a dark noise of 5.4 electrons per pixel, which is higher than the read noise for some available detectors. Nevertheless, for most *in-vivo* and *ex-vivo* Raman applications, the main noise factor stems from shot noise of the fluorescence signal, as fluorescence can seldom be completely avoided. Shot noise is the random statistical fluctuation of the arrival time of photons at the detector, and it follows a Poisson distribution. The fluctuation in the number of arrived photons is described by \sqrt{N} \sqrt{N} , where N N is the number of photons. For Raman spectroscopy, this specifically means that if the fluorescence signal is large, the random fluctuation in the photon arrival can be just as high or higher as the measured Raman signal, which places a fundamental limit on the Raman signal detection. For example, when 20 Raman photons arrive on a single detector pixel and the number of fluorescence photons at the same pixel is 400, the SNR just due to shot noise is already 1, in combination with the other noise sources, the SNR will be <1 <1 . For any meaningful classification, an $\text{SNR}>5$ $\text{SNR}>5$ is usually required.

The generated Raman signal is dispersed onto the CCD detector through a spectrometer. There are several types of spectrometers that are employed for Raman spectroscopy, such as lens-based and Czerny–Turner arrangements, each having specific advantages and disadvantages. There are a few factors that have to be considered when choosing the right spectrometer, such as spectral resolution, light-collection ability, the diffraction efficiency, imaging artifacts, and scattering suppression. Many of those parameters are closely interconnected. The most obvious parameter for a spectrometer is the achievable spectral resolution. The resolution depends primarily on the focal length, which is the focal length of the mirror or lens, slit-width, groove density of the diffraction grating, and the detector pixel dimension. In most Raman fiber probe schemes, the linearly arranged collection fibers act as the entrance slit and define the aperture size. In general, it is desirable to detect the entire spectral region between ~ 300 ~ 300 and 3800cm^{-1} 3800cm^{-1} at once, which puts a constraint on the usable grating and the achievable spectral resolution, considering a fixed sensor size. There are implementations that allow imaging the low-wavenumber and high-wavenumber regions, vertically offset on the same detector, enabling measurement of the full spectral range at increased resolution. The desired spectral resolution also constrains the focal length and the light-collection ability of a spectrometer, i.e., the higher the resolution, the longer the spectrometer and the lower the light-collection ability. The typical $f\#$ $f\#$ numbers ($f/\#$ $f/\#$), which is the system's focal length to the entrance aperture ratio, range between $f/1.8$ $f/1.8$ and $f/6.5$ $f/6.5$ for typical Raman spectrometers, where the lower number means a higher light-collection ability. Please keep in mind that if a fiber is used to couple the light to the spectrometer, the fiber has to match the $f/\#$ $f/\#$ to ensure optimal coupling and best imaging performance of the spectrometer. Another factor to consider when using a spectrometer is the imaging performance, which is explicitly important when working with Raman fiber probes with multiple collection fibers that are imaged on the CCD detector. For example, most Czerny–Turner spectrometer designs can exhibit strong astigmatism, which leads to the so-called bowtie effect when using fibers. Here, only the center wavelength is properly imaged onto the detector while wavelengths further away from the central wavelength experience a vertical spreading. This

becomes a significant problem when using fibers arranged vertically in a line because the signals from the individual fibers start bleeding into the neighboring ones. Lens-based spectrometers exhibit excellent imaging properties with nearly no bowtie effect, but they have, on the other hand, a significant problem with out-of-plane diffraction, which is caused by the diffraction grating and rays vertically offset to the optical axis. This results in a curvature of the input from an input fiber-line array.²⁶ There are, however, computational options to correct for those artifacts.²⁷ Recently, new commercially available spectrometers that offer superb imaging properties with little aberration have been launched.

3.

Fiber and Probe Development

The key component for moving Raman spectroscopy to clinical *in-vivo* applications is fiber optical Raman probes. Over the years, a large literature body has emerged on the different types of Raman probe configurations, often too large to be assessed by a novice scientist. Each specific probe configuration can lead to different types of information, resulting in a differentiated interpretation of the data. Moreover, the number of available probe designs is constantly increasing because new probes not only are designed to perform Raman spectroscopy but also include other optical modalities, such as autofluorescence, OCT, reflectance, just to name a few. As such, it is paramount to understand the different probe designs, how they differ, and what type of information they can provide. In this article, we give a detailed overview of different probe configurations and provide information on the possible applications.

Optical fiber sensors are increasingly used in health monitoring devices. The characteristic features of silica optical fibers, i.e., small diameter, user-defined length, and high mechanical flexibility, allow facilitating the positioning of the sensor head at remote or otherwise difficult-to-access (body) sites. This permits the development of Raman probes that can fit in the instrument channel of standard medical endoscopes, and the insensitivity of optical fibers to electromagnetic fields enables applications in combination with magnetic resonance imaging (MRI). Additionally, fiber-based sensors do not interfere with conventional electronics, are nontoxic and chemically inert, and enable Raman spectroscopy to access hard-to-reach locations *in vivo*. The implementation of such optical Raman fiber probes can be quite complex. For example, the intensity of the Raman signal generated along the length of silica-based optical fibers can overshadow the generated Raman signal from the sample. Therefore, excitation and detection paths are usually separated into individual fibers to apply appropriate filtering at the distal fiber ends. The excitation fiber is supplemented with a narrowband or a shortpass filter to suppress the silica-based Raman background. In the collection path, on the other hand, a longpass filter is needed to prevent reflected or backscattered laser light from re-entering the fiber. Oftentimes, a multitude of collection fibers is used to improve collection efficiency. At the proximal end, the collection fibers are aligned to efficiently couple the detected Raman signal into the spectrometer. Huang et al.²⁸ designed a special round-to-parabolic fiber bundle comprising 64 fibers (100- μm 100- μm -core diameter, NA, 0.22) packed in a round geometry at the collection end but spread out into a parabolic linear array in an orientation opposite to the image aberration of the lens-based spectrograph at the spectrograph's entrance site.

In addition to standard optical fibers, there are a variety of optical fibers types that have also been employed, e.g., hollow,²⁹ microstructured,³⁰ bandgap,³¹ or multicore³² fibers. However, the development in recent years shows that, due to easy availability and low cost, mostly standard silica fibers are used. An overview of basic Raman fiber probe designs is given in Ref. [33](#). Here, the focus will be on fiber optic Raman probes used or intended for *in-vivo* applications.

The Raman fiber probe design is strongly dependent on the application. It is obvious that different constraints exist when using the Raman probe, e.g., within a cardiovascular catheter as compared with measurements in the oral cavity or on the skin. Therefore, not only are spectroscopic parameters, such as the design of the filters, the collection efficiency, and the beam steering properties, important, but first and foremost, the probe diameter and flexibility of the probe have to be considered. Of course, size restrictions are less limiting for skin applications in comparison with cardiovascular applications. Additionally, for applications in hospitals, the designs of fiber optic probes have to conform to hospital guidelines, i.e., the entire fiber-

spectroscopic system has to be enclosed to avoid stray light and fit on a small transportable cart for the operating theater. The clearance for the European market requires CE certification. With this marking, the manufacturer or importer declares compliance with the relevant EU legislation applicable to a product, regardless of where it was manufactured. Concerning the laser powers at the sample position, the guidelines are defined by ANSI Standard Z136.3–2011 “Safe Use of Lasers in Health Care” for the U.S. and EN 60825-1/A2 for Europe. Because of performing *in-vivo* experiments in patients, biocompatible materials should be used to avoid toxic effects.³⁴ Furthermore, the optical fiber probe has to withstand hospital sterilization procedures.¹

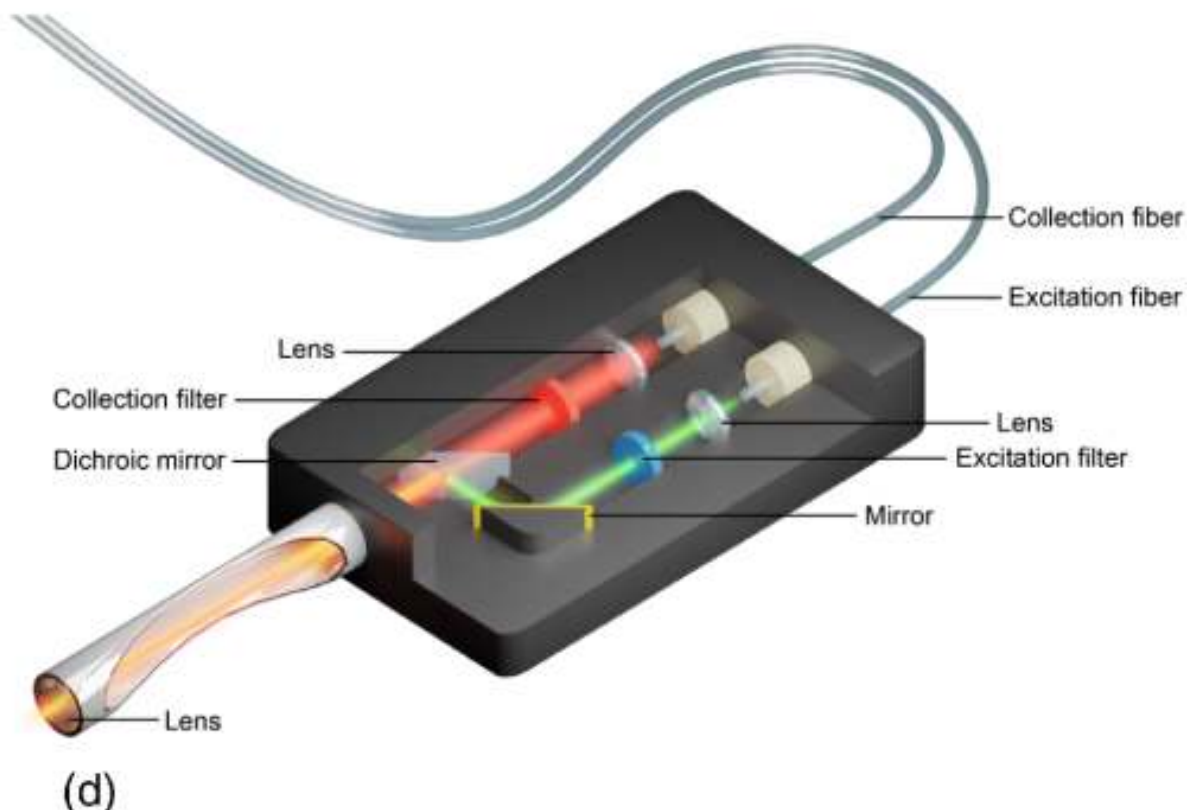
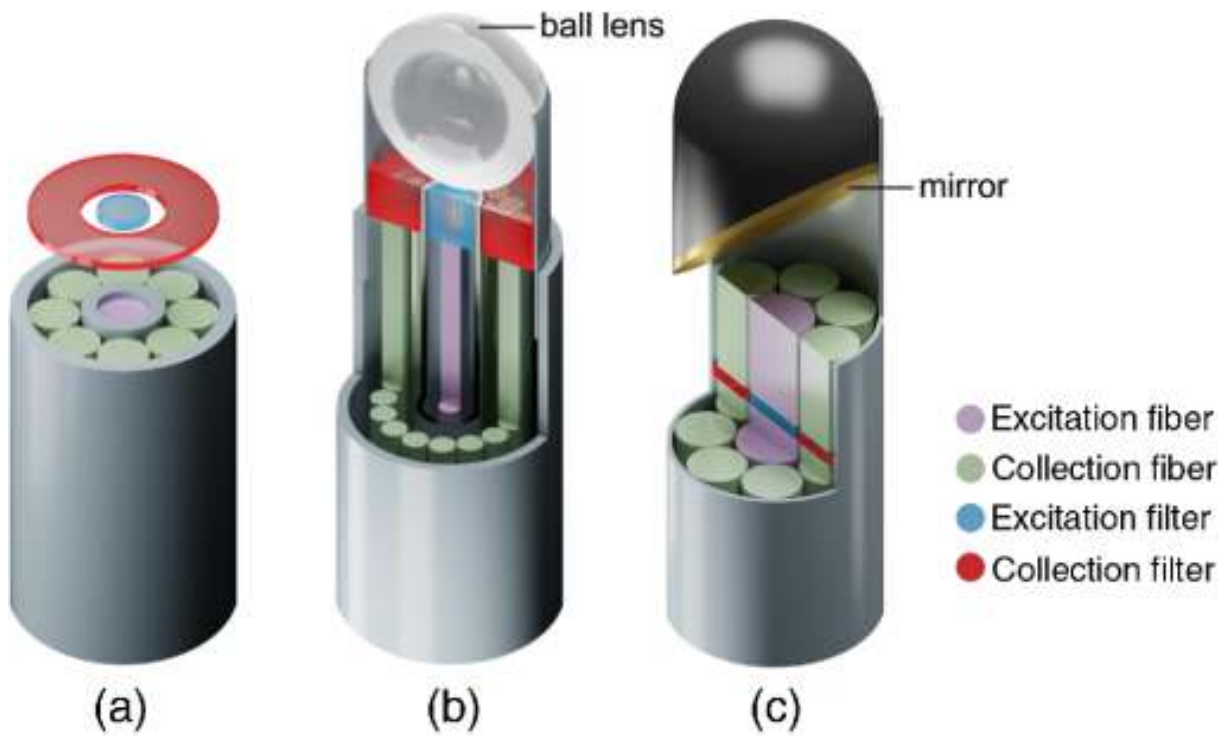
3.1.

Basic Raman Probe Setups

One major difference between endoscopic Raman probes is whether they are confocal or volume probes. For illustration purposes, [Fig. 2\(a\)](#) shows an endoscopic volume probe, also known as a nonsuperficial or nonconfocal probe. These are endoscopic probes without any focusing optics and are the simplest endoscopic fiber optical Raman probes. [Figure 2\(b\)](#) shows a confocal endoscopic fiber optical Raman probe, which is more complex than the nonconfocal probe due to the addition of extra optical components, such as ball lens, gradient index lens (GRIN lens),³⁵ or aspheric lenses.³⁶ To allow for side-viewing application, mirrors [[Fig. 2\(c\)](#)], or prisms can be added. One possible confocal handheld Raman probe design described in Ref. [37](#) is shown in [Fig. 2\(d\)](#). The handheld Raman probe comprises two optical arms: one for the delivery of the excitation light, the other for the collection of the Raman scattered signal, integrated with optical filtering modules. The excitation light is focused on the tissue by an NIR-coated sapphire ball lens to a focal spot diameter of $\sim 0.2\text{mm} \sim 0.2\text{ mm}$. The lens is mounted on the tip of the Raman probe and has a diameter of 5 mm. This probe and the more compact version,³⁸ with a total outer diameter of 8 mm were used for *in-vivo* cervical tissue measurements,^{37,39} as well as measurement of the oral cavity.⁴⁰ Using Monte Carlo simulations, the depth selectivity of ball lens-coupled probes and its dependence on refractive index and diameter of the ball lens have also been demonstrated.⁴¹

Fig. 2 [Download](#)

Different fiber optical Raman probes. (a) Basic endoscopic probe, (b) with ball lens for focusing, (c) with side-view option, and (d) handheld Raman probe.

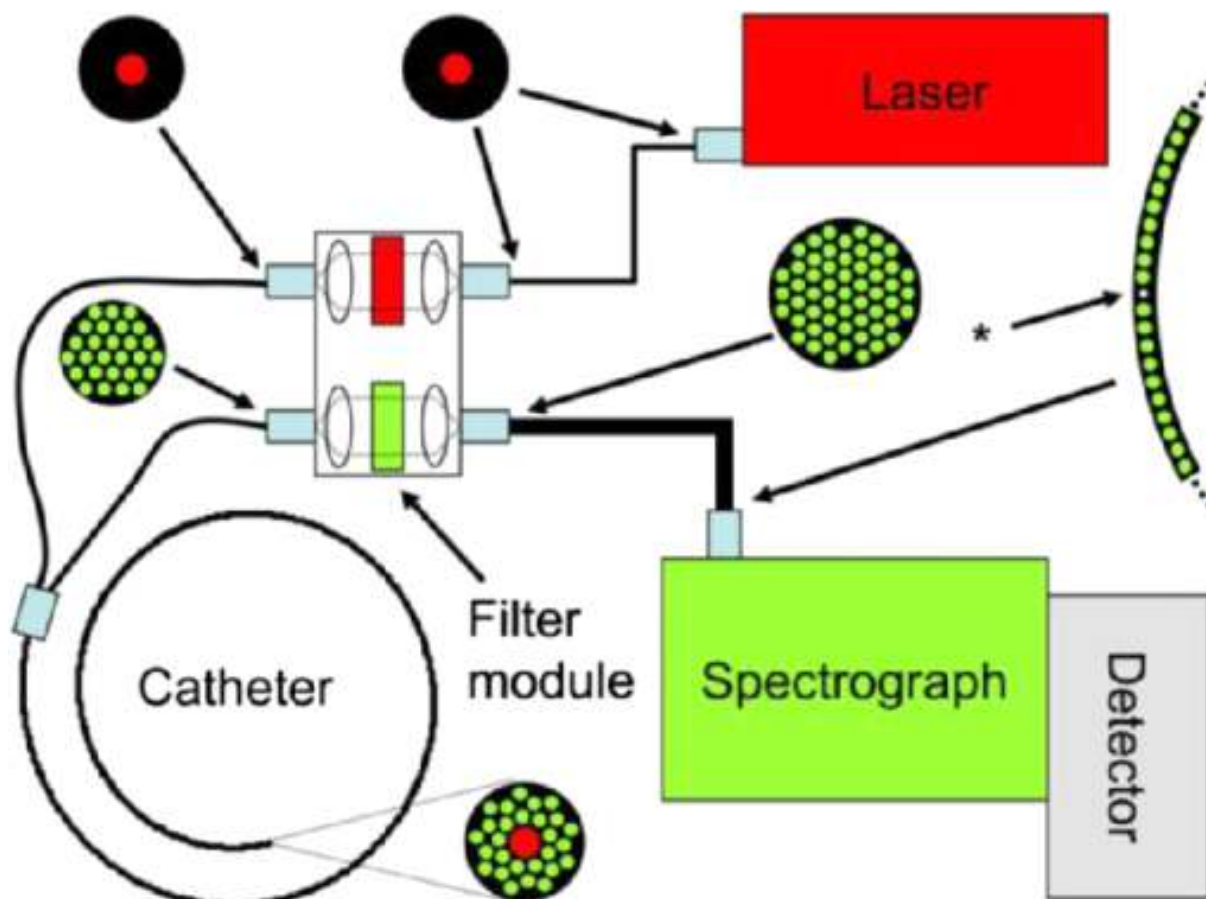


To reduce interference from deeper tissue layers during endoscopy, a beveled confocal fiber optic Raman probe coupled with a ball lens was introduced in Ref. 42. It was shown that the ratios of the Raman photons collected from epithelium versus stromal depend on the bevel-angle of the fibers.⁴² *In-vivo* measurements during endoscopy also revealed that the Raman spectra acquired using the confocal Raman probe are not easily comparable with a volume-type Raman probe⁴³ because of the different probed tissue volumes. It was found that about 85% of the collected signal arise from the top 200- μm 200- μm epithelium layer of the gastric tissue,

whereas 15% arise from a range between 200 and 800 μm 800 μm . In addition, the beveled Raman probe provides approximately twofold improvements in tissue Raman-to-autofluorescence intensity ratios as compared with the use of a volume Raman probe.⁴⁴ Beveled probes were used in a large trial to acquire spectra from 373 patients with different histological subtypes in the upper gastrointestinal (GI) tract and to construct a comprehensive Raman library with >12,000 Raman spectra.⁴⁵ For the online analysis of the *in-vivo* spectra, dedicated MATLAB-based software was used with automated data acquisition and spectra preprocessing, allowing also discarding of noncontact spectra.⁴⁶ In further trials,^{40,47,48} the advantage of using both the high and the low-wavenumber range was shown. A comparative study demonstrates that the Raman spectroscopic technique coupled with beveled fiber optic Raman probe has great potential to enhance *in-vivo* diagnostics of gastric precancer and early cancer at endoscopy,⁴⁴ as compared with a volume probe. Another clinical setup was introduced by Motz et al.,⁴⁹ which uses a sapphire ball lens with a 2-mm diameter and a coupled fiber probe with 15 collection fibers.⁵⁰ Here, filters deposited on a special glass substrate were used, instead of directly coating the fiber ends.⁴³ The probe was applied for margin assessment during breast surgery⁵¹ and in combination with a fluorescence/diffuse reflectance probe for skin cancer diagnostics.⁵² A commercial handheld fiber probe (InPhotonics, Norwood, Massachusetts) consisting of a 105- μm 105- μm excitation fiber and a 200- μm 200- μm collection fiber was used to study cervical⁵³ as well as oral cancers.⁵⁴ Short et al.⁵⁵ introduced a probe intended for lung cancer diagnostics. The probe comprises two filter stages: one set coated at the distal end of the probe, and the other is placed in the parallel light path; see Fig. 3. In contrast to contact probes of other groups, this noncontact probe had a probe tip to tissue distance of between 5 and 10 mm and was used to generate an excitation illumination spot diameter on the tissue surface between 2 and 4 mm. An *in-vivo* application with the aforementioned probe showed that high-grade dysplasia and malignant lung lesions can be detected with a high sensitivity of 90% and a specificity of 65%,⁵⁶ using only the high wavenumber range, i.e., above 2800 cm^{-1} 2800 cm^{-1} . To accurately indicate the area being measured, a 532-nm guide laser was added and connected to three of the 31 collection fibers.⁵⁷

Fig. 3 [Download](#)

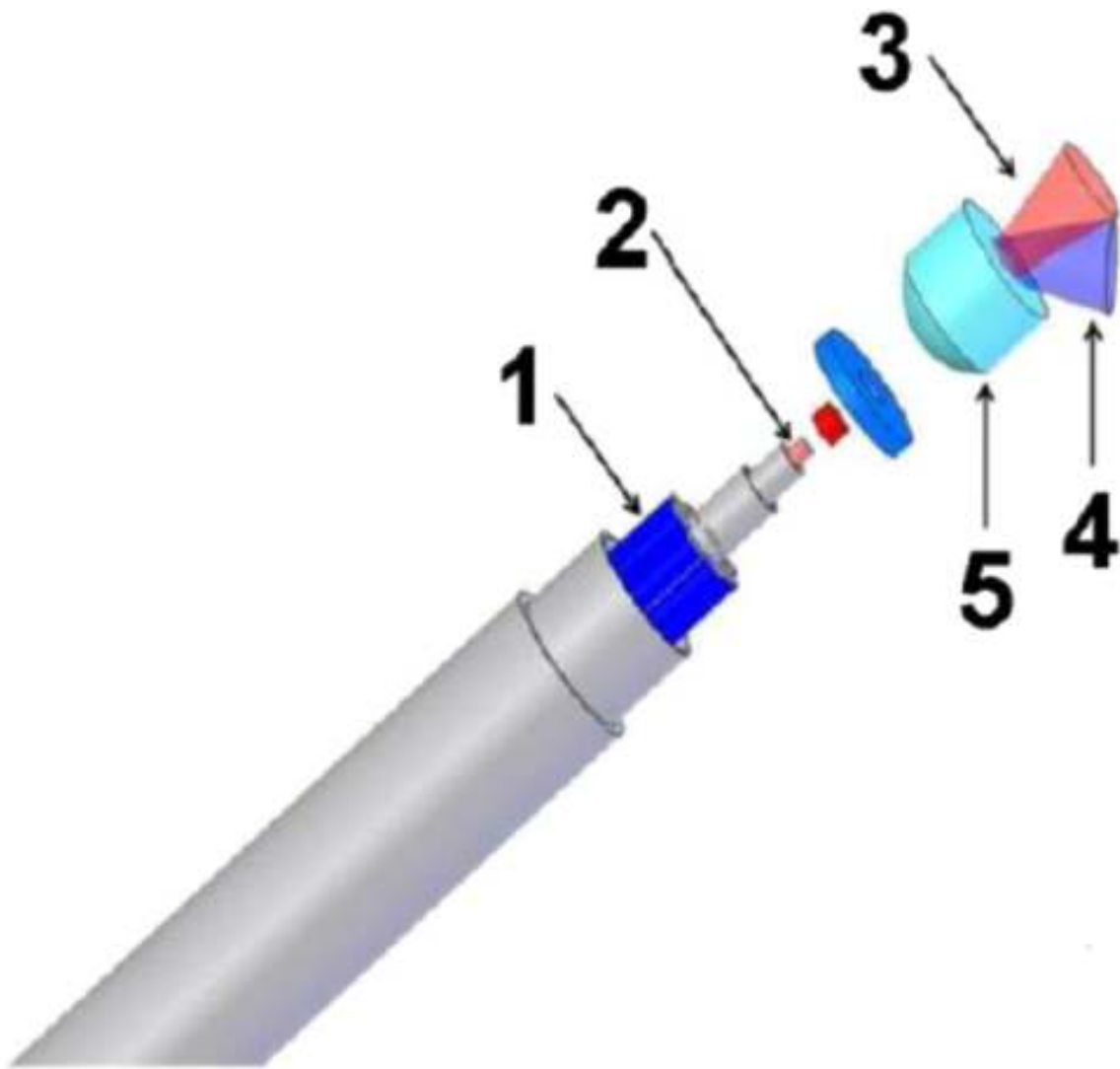
Schematic diagram of the endoscopic laser Raman spectroscopy system. The inserts show the arrangement of the excitation (red) and collection fibers (green). The collection fibers were connected to the spectrograph through a special round-to-parabolic fiber bundle to correct the spectral imaging distortion. With permission from Ref. [56](#).



Custom-made commercial probes are also in widespread use. Agenant et al.⁵⁸ compared a nonsuperficial (or volume probe)⁵⁹ with a superficial Raman probe, both from EMVision LLC⁶⁰ (Loxahatchee, Florida) with respect to their sampling range. Both use seven collection fibers surrounding a single excitation fiber. The superficial probe had additionally a two-component converging lens, which is a 1-mm-thick flat window of fused silica, and a proximal element of a plano-convex sapphire lens; see Fig. 4. This configuration allows overlapping the excitation and collection light at the sample without interference from the sapphire Raman signal and an $\sim 0.5\text{-mm} \times 0.5\text{-mm}$ surface diameter of the sampled region. Using a layered phantom model, they found that the optimal sampling range of the superficial probe is between 0 and $200\mu\text{m}$ and for the nonsuperficial probe between 0 and $300\mu\text{m}$.⁵⁸ With this range, the superficial probe measures close to the origin of urothelial carcinomas 100 to $200\mu\text{m}$ below the surface. It is designed to comply with the regulations of the Medical Device Directive, made of biocompatible materials, and can withstand repeated plasma (STERRAD[®]) sterilization. With its outer diameter of 2.1 mm, it fits through the endoscopic channel of a cystoscope⁵⁸ or a colonoscope.⁶¹ The same type of superficial probe has been used for intraoperative brain cancer detection.^{62–64} Using the fiber probe on 17 patients with WHO grade 2 to 4 gliomas, it was possible to accurately differentiate normal brain from dense cancer and normal brain invaded by cancer cells, with a sensitivity of 93% and a specificity of 91%.⁶⁴ The group around Mahadevan–Jansen used this probe to characterize human cervical remodeling throughout pregnancy⁶⁵ and inflammatory bowel disease (IBD).⁶⁶ For the examination of soft-tissue sarcoma immediately after excision, the slim body of the probe was made pen-like and housed, resulting to an outer diameter of 6 mm.⁶⁷ The tissue of 42 patients was measured by bringing the tip of the fiber optic probe in direct contact with the regions of interest, i.e., tumor bed, control of normal muscle tissue, and fat tissue.

Fig. 4 [Download](#)

Superficial probe (1 = 7 times collection fibers, 2 = excitation fiber, 3 = Raman laser cone, 4 = Raman collection cone, and 5 = two-component front lens). With permission from Ref. 58.



Optical filters are usually employed to prevent the reentry of reflected laser light into collection fibers. Another approach is to use a noncollinear arrangement of excitation and collection fibers, which additionally offers advantages concerning the Raman fiber background.²⁸ The probe was designed as a Raman probe for skin analysis^{26,68} and applied with the collection arm perpendicular to the skin surface. To collect the signal⁵⁸, optical fibers with a core diameter of $100\mu\text{m}$ $100\ \mu\text{m}$ were used. The fibers are arranged along a curvature and coupled into the spectrometer. As described in Refs. ⁶⁸ and ⁶⁹, this probe was used for the detection of benign and malignant skin cancer lesions, respectively. The results published in 2012 showed sensitivities between 95% and 99% and specificities between 15% and 54%.⁶⁸ Related patents are licensed to Verisante Technology Inc., Germany, which gained market access in 2011 for the evaluation of suspicious skin lesions in terms of diagnosing melanoma, squamous cell carcinoma, and/or basal cell carcinoma.⁷⁰ Another handheld probe for skin measurements⁷¹ was introduced in Ref. ⁷², additionally containing positioning elements to enable automated positioning of the objective making it somewhat bulky, with an outer dimension of $12.7\times 20.3\text{cm}$ $12.7\times 20.3\ \text{cm}$. As this handheld system contains no visual imaging capabilities, a targeting system, consisting of a guiding collar with a removable reticle, was developed to allow accurate identification of the measurement location. As for skin applications, a special probe design is not required as the one-around-seven probe from EMVision can also be employed, as was demonstrated in Ref. ⁷³. For skin analysis not related to cancer, but to characterize depth profiles of stratum corneum, e.g., penetration studies of drugs or cosmetic products, in numerous cases a model 3510 Skin Composition Analyzer (River Diagnostics, Rotterdam, The Netherlands) was frequently employed.⁷⁴⁻⁷⁸ An alternative miniaturized, confocal fiber optic probe intended to fit within the instrument channel of a standard medical endoscope, with a diameter of 2.8 mm, was developed by Day et al.³⁶ It

was optimized for the study of the carcinogenesis process of esophageal malignancy. The optical layout is related to the probe shown in Fig. 2(d). The group used a monolithic filter/mirror component and developed wet-etched silicon motherboards and the jigs to ensure sufficient positioning accuracy of the optical parts. Although the probe is designed for *in-vivo* application, up to now it has been used to study resected tissues only.^{35,79,80} Almond et al.³⁵ turned it into a contact probe by replacing the aspheric lens with a grin lens.³⁶

3.2.

Unfiltered Probes

The necessary spectral filtering to suppress the background makes the design and implementation of fiber optic Raman probes for the fingerprint region rather complex. At wavenumbers larger than $\sim 2000\text{cm}^{-1}$ to $\sim 2000\text{ cm}^{-1}$, the silica core and the cladding of the fiber generate considerably lower Raman background signal. This implies that the costly filters at the distal end of the probes could be omitted if the monitoring would be restricted to the high-wavenumber range, which was defined in Sec. 2. Hence, the diagnostic properties of the high-wavenumber range in comparison with the full or only the low-wavenumber range have been of significant interest and were widely investigated.^{57,81,82} A comparison between the predictive strength of high- and low-wavenumber range was performed using a filtered and an unfiltered probe, respectively.⁸¹ Applying this approach on colon lesions and employing multivariate analyses, the researchers found that detecting the high wavenumber Raman profiles might provide sufficient information for predicting the pathology. This has also been confirmed by others,⁸³ where a single fiber was used for both excitation as well as collection.

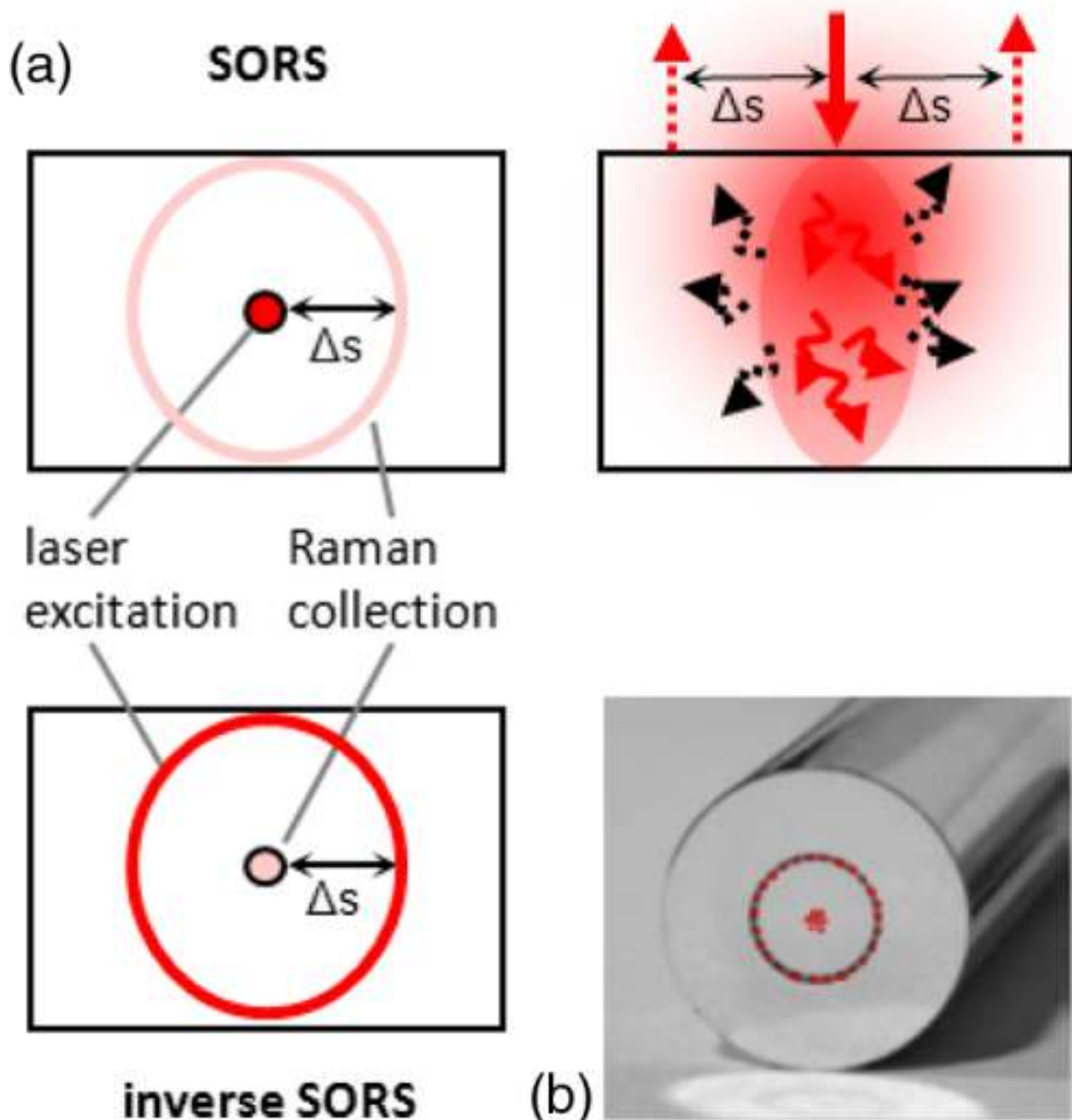
3.3.

Spatially Offset Raman Spectroscopy

SORS is a method for the effective retrieval of Raman spectra of subsurface layers in diffusely scattering media and was introduced by Matousek et al.⁸⁴ The concept behind SORS is that there is a spatial separation between the point of laser illumination and the point of Raman signal collection on the sample surface.^{84,85} There are two main categories: SORS with a central illumination point and a collection ring and inverse-SORS with an illumination ring and a central collection area; see Fig. 5. A method to quantitatively determine the optimal offset for a given chemical sample is introduced in Ref. 86. Commercial devices are available and routinely used for airport security or in pharmaceuticals,⁸⁷ i.e., for measurements through packages. Starting in 2006,⁸⁸ it has been used for *in-vivo* transcutaneous measurement of bone tissue,⁸⁹⁻⁹² mainly by inverse-SORS. Using a custom-built instrument (Cobalt Light Systems Ltd., Oxfordshire, UK) with offsets of up to 9.5-mm, photon migration properties and Raman signal recovery from the depth within three selected bone types have been assessed.⁸⁹ SORS can also be employed for soft-tissue characterization, e.g., for breast tumors beneath a layer of normal tissue.⁹³⁻⁹⁵ An SORS probe for the diagnostics of breast tumors was developed, arranging the collection fibers in four circle segments⁹⁴ and not in full circles as shown in Fig. 5. Raman signal collection from three coaxial annuli of optical fibers was demonstrated.⁹⁶ In very recent publications, alternative approaches for depth-resolved Raman measurements, namely frequency offset Raman spectroscopy (FORS)⁹⁷ and time-domain Raman diffuse spectroscopy,⁹⁸ were introduced. With FORS, depth probing can be achieved by exploiting the different values of the optical properties of the medium at different frequencies, whereas time-domain approach exploits differing arrival times of photons.

Fig. 5 [Download](#)

Spatially offset Raman spectroscopy (a) sketch of SORS and inverse SORS principle and (b) SORS annular fiber probe with an inner and outer ring of collecting fibers. With permission from Ref. 33.



3.4.

Multimodal Probes

Already in 2008, Patil et al.⁹⁹ introduced a dual-modal device capable of performing sequential acquisition of Raman spectra and OCT images along a common optical axis. An integrated system with a common sample arm as well as common detection path was also demonstrated.¹⁰⁰ Here, both coregistered datasets are recorded sequentially with the same spectrometer. As a continuation of Ref. 99, the clinical OCT/Raman setup of Patil et al.¹⁰¹ allowed screening areas of up to 15-mm transverse and 2.4 mm in depth with OCT to identify measurement locations of interest for Raman measurements. However, the overall probe size of 10.2×12.7×20.3 cm makes it mainly suitable for skin applications. A side-view hybrid probe for *in-vivo* real-time measurements was developed,^{102,103} making use of the complementary information provided by OCT and Raman spectroscopy. The handheld OCT/RS probe has a length of ~120 mm with a probe head size of ~13 mm×8 mm, making it suitable for *in-vivo* tissue measurements on human organs, such as the oral cavity, cervix, and skin, or for intraoperative monitoring, e.g., brain surgeries. With this, both the tissue morphology and biochemical information can be acquired simultaneously *in vivo*. However, making full use of the potential of combined Raman-

OCT will require the development of analytical techniques that appropriately correlate the information from both types of data, i.e., imaging and spectroscopy.¹⁰¹ In Ref. 103, it was demonstrated that the diagnostic strength of the combination is improved in comparison with Raman spectroscopy or OCT alone. To address the issue of obtaining both morphological and molecular information at depth, a hybrid approach integrating OCT with wavelength modulated spatially offset Raman spectroscopy (WM-SORS) was introduced.¹⁰⁴ Using polystyrene in lard phantom, coregistered Raman spectroscopy and OCT measurements at depths of up to 1.2 mm were demonstrated. The wavelength modulation additionally suppresses fluorescence background.^{16,105} A Raman-OCT probe for the prospective *in-vivo* clinical melanoma skin cancer screening was integrated into a commercial spectral domain OCT-setup (Telesto II, Thorlabs).¹⁰⁶ To allow a future upgrade with an optoacoustic detector, a pulsed excitation source for Raman spectroscopy was used. For first *in-vivo* measurements, an elliptically illuminated skin area with axes of 9 and 7 mm and integration times of 100 s were used.

Scepanovic et al.¹⁰⁷ developed a multimodal system that combined Raman spectroscopy, autofluorescence, and diffuse reflectance and comprising three light sources that are sequentially coupled to the probe by an optical fiber switch. It was employed for *in-vivo* detection of vulnerable or thrombotic plaques during femoral bypass and carotid endarterectomy surgeries.¹⁰⁸ The ball lens-coupled probe contained a single excitation fiber and a concentric ring of 15 collection fibers, 10 of which were used to collect Raman spectra, and the remaining five to collect reflectance and fluorescence data.

A multispectroscopy surgical probe from EMVision, similar to the probes described in US patents 8,175,423 and 8,702,321, allows sequential acquisition of Raman spectra and fluorescence signals for two excitation wavelengths and the reflection of a white-light source, controlled by an optical switch.¹⁰⁹ Depending on the read-out technique, fluorescence intensity or fluorescence lifetime¹¹⁰ can be recorded. Figure 6 shows the principal setup, consisting of seven collection fibers around an excitation fiber for Raman spectra and, in green, two fibers for the collection of the other modalities. A multimodal setup, designed for skin cancer diagnostics, was introduced in Ref. 111. It is nearly identical to the probe shown in Fig. 7, except that three fibers with a 200- μm 200- μm -core diameter are arranged in a triangle and used for fluorescence and diffuse reflectance spectroscopy (DFS). In addition, eight fibers, i.e., seven 300- μm 300- μm -core collection fibers and one 200- μm 200- μm -core excitation fiber, are used for Raman spectroscopy. Another difference is that three “non-Raman” fibers bypass not only the donut-shaped longpass filter but also the front lens to correct for spectral aberrations.

Fig. 6 [Download](#)

Schematic view of the probe with filters, lenses, and beam propagation cones. Front view of the probe distal end. The fibers shown in blue are used for collecting the Raman scattering. The fiber shown in red transmits the light for the Raman excitation. The fibers shown in green are for generating the fluorescence/white-light signal. With permission from Ref. 110.

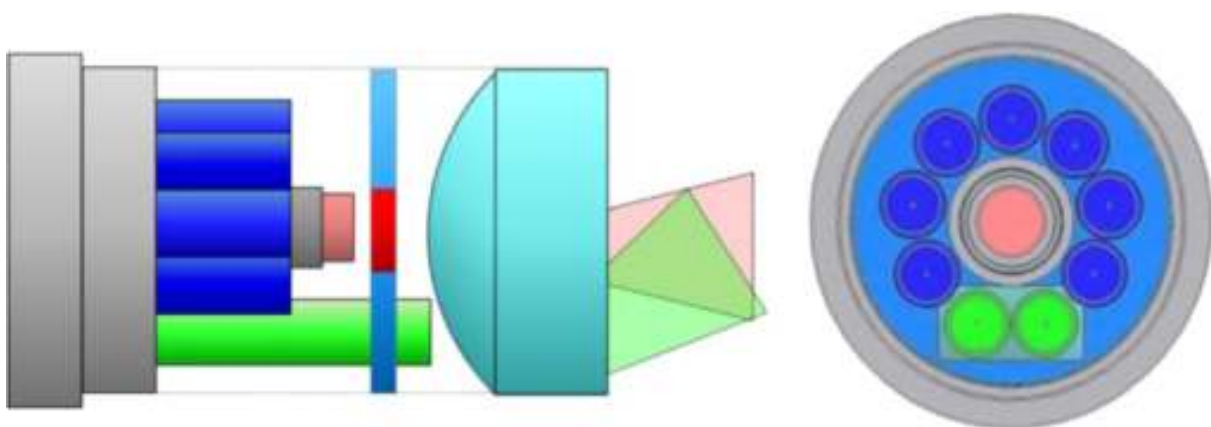


Fig. 7 [Download](#)

Schematic of the multimodal spectroscopy probe with a side view on the left and a cross sectional view on the right. A central excitation fiber 200- μm core diameter, 0.22 NA is surrounded by 15 collection fibers, 10 of which collect Raman spectra and five of which collect DRS/IFS return light. The probe tip contains a module to filter the excitation and collection light and a sapphire ball lens to optimize collection. Adapted from Ref. 107.

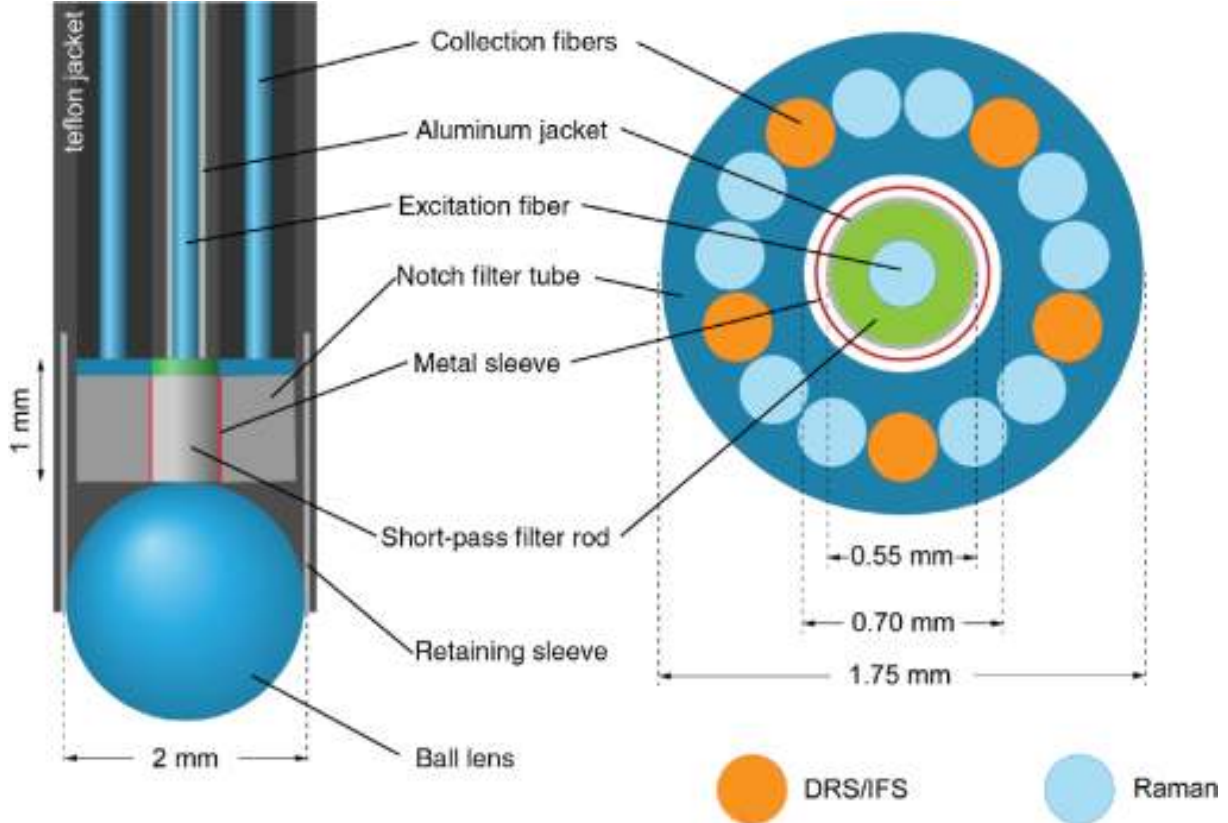


Fig. 8 [Download](#)

Schematic of the integrated Raman spectroscopy and trimodal endoscopic imaging system developed for *in-vivo* tissue Raman measurements at endoscopy. With permission from Ref. 43.

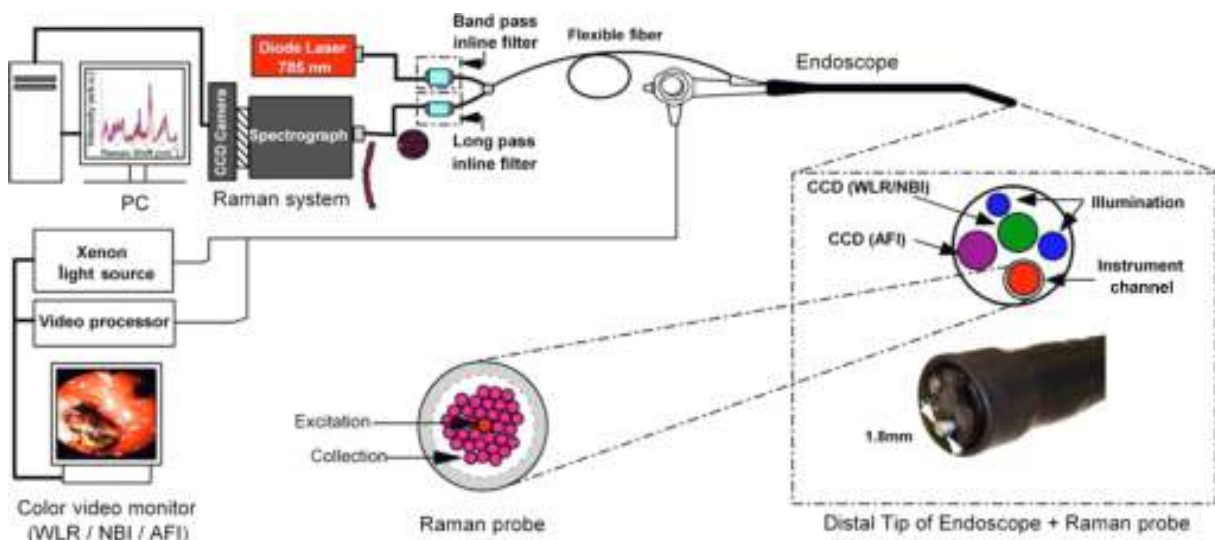
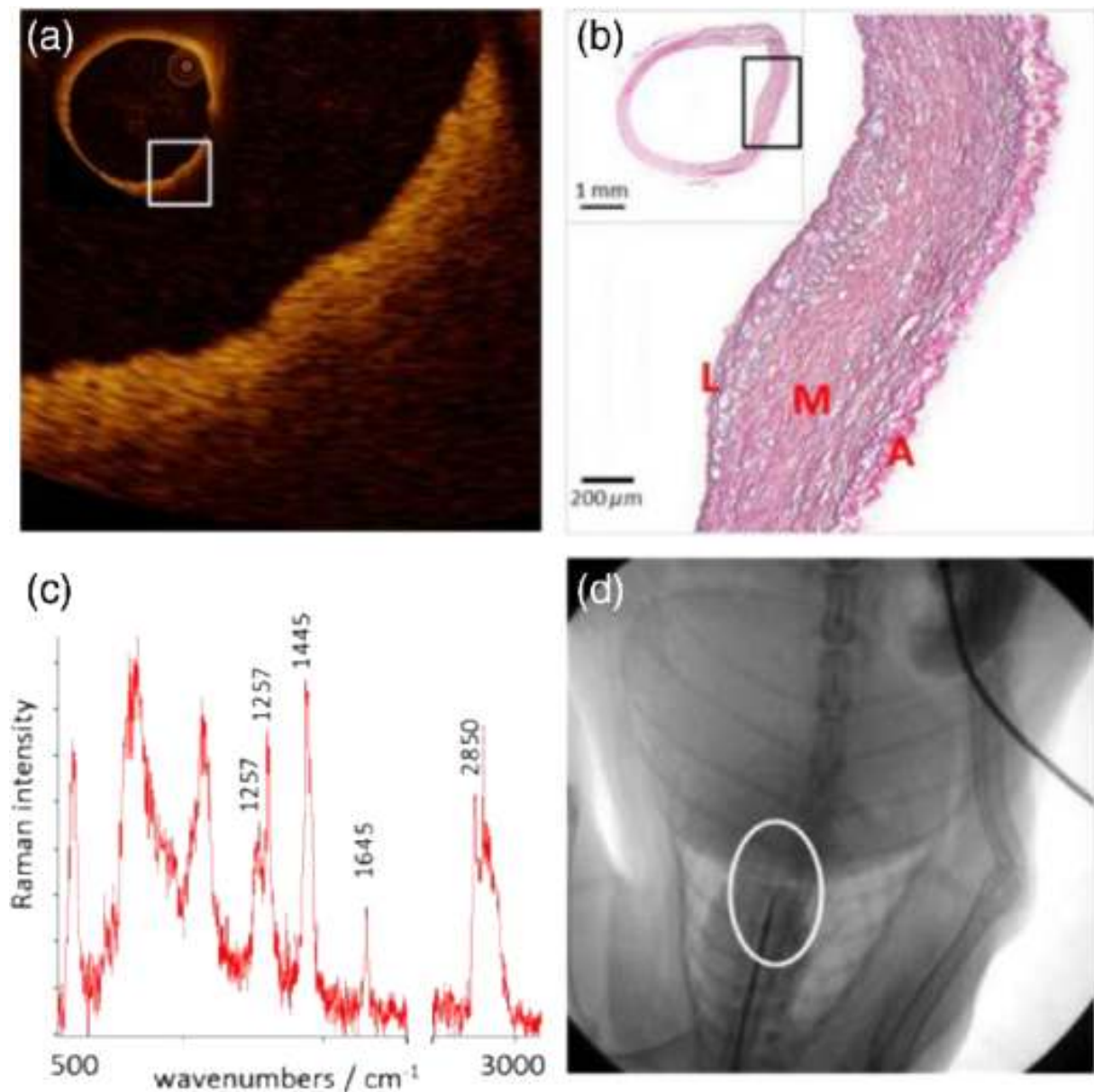


Fig. 9 [Download](#)

Enlarged OCT image (a) from the section shown in comparison with an EvG stain (b) of a section from the same region; L, lumen or artery; M, muscularis media; A, adventitia. Graph (c) shows a Raman spectrum with characteristic lipid bands collected within the region, where the OCT image

was obtained. The position of the Raman probe is shown in (d). Reprinted with permission Matthäus et al., “Detection and characterization of early plaque formations by Raman probe spectroscopy and OCT: an *in-vivo* study on a rabbit model” with permission of the *Journal of Biomedical Optics*.¹¹²



3.5.

Image Guidance

Recent developments in biomedical Raman spectroscopy indicate that image guidance for Raman measurements is highly advantageous, especially with regard to future computer-assisted and robotic surgery. In Ref. ¹¹³, integration and visualization of an image-registered Raman probe were demonstrated. It was shown that the position of the probe can be tracked and registered to any imaging modality, e.g., computed tomography (CT) scans. During brain surgery, a navigation attachment (Medtronic SureTrak) was used for spatial registration with the Medtronic StealthStation system, enabling MR guidance of measurement and tissue sample collection locations.^{62,64} A commercial Raman probe from EMVision LLC was adapted to the ARAKNES¹¹⁴ robotic platform and tested using tissue samples. The final intent is to identify ambiguous tissue margins during robot-assisted endoluminal surgeries.¹¹⁵ As Raman probes can only perform single-point measurements, the knowledge of the exact measurement point is of great importance¹¹⁶ because the samples are often very heterogeneous. Schleusener et al.¹¹⁷ have, therefore, designed a macroscopic Raman probe with a video-recorded

measurement spot. Image guidance is also very advantageous for endoscopy as it helps to correlate the Raman measurements with histopathological findings. In 2009, Huang et al.⁴³ introduced image-guided endoscopy in combination with Raman spectroscopy (Fig. 8). The group used a trimodal widefield setup, i.e., white-light reflectance (WLR), autofluorescence, and narrow-band imaging in combination with point-wise Raman measurements. A Raman endoscopic probe with an outer diameter of 1.8 mm was constructed to fit through the instrument channel of a medical endoscope. This is a more direct approach as compared with MR or CT guidance. Confocal, as well as volume probes, can be employed, as long as the size restrictions given by the instrument channel are observed. The Raman probe developed by Huang et al.⁴³ consisted of 33 optical fibers: one for excitation and 32 for Raman signal collection. The distal end of the fiber probe was coated with two different types of filters; the central excitation fiber is coated with a narrow bandpass filter, centered at 785 nm, with an FWHM of $\pm 2.5 \text{ nm} \pm 2.5 \text{ nm}$. The surrounding collection fibers were coated with edge longpass filters and a cutoff at 800 nm. The Huang-group has published several papers, using the described Raman probe for a variety of *in-vivo* applications.^{46,82,118-121} For example, to construct a spectral database to build a model for gastric cancer diagnostics, they acquired 2748 spectra of gastric tissue from 305 patients *in vivo* using the described real-time system.⁴⁶ To get a universal tool, organ-specific diagnostic models were implemented, enabling instant switching among the spectral databases of different organs, e.g., esophagus, gastric, colon, cervix, bladder, lung, nasopharynx, larynx, and the oral cavity, including the hard palate, soft palate, buccal, inner lip, ventral, and the tongue.⁴⁶ This instrumental setup was also used with a confocal probe and improved depth resolution for the characterization of nasopharyngeal cancer.⁴⁸ In this study, spectra from 95 patients were recorded. As biopsies were taken only from suspicious sites, relying on otolaryngologists' observations, the researchers state that the "healthy baseline" may not be fully corrected, which could result in errors in tissue Raman classification.⁴⁸ More clinical information regarding the mentioned publications can be found in Sec. 4.

3.6.

Clinical Use

Several technical challenges remain for clinical use, such as a robust control over the laser radiation dose and measurement repeatability during endoscopy. A decrease in the SNR, due to the aging of the Raman probe after repeated cycles of harsh reprocessing procedures, is also of concern. To address such issues, disposable, biocompatible, and sterile sheaths for manufacturing endoscopic fiber optic Raman probes is being designed and tested.^{115,122} Sterilization is realized mostly by either cold gas ethylene oxide or Sterrad R (Advanced Sterilization Products, Irvine, California).^{58,108}

To save costs, unfiltered probes have also been investigated and would make single-use probes more feasible as reprocessing can damage the probe or alter its spectral behavior.⁸¹ For some applications, a large excitation spot is preferred as a larger laser intensity can be used while still complying with the maximum permissible exposure (MPE) guidelines.¹²² However, a lack of precision in controlling the sampling distance was anticipated under most operating circumstances. Using an EMVision Raman probe¹¹⁷ with an added light suppression shield, Schleusener et al.¹² investigated the perturbation factors in the clinical surrounding, such as ambient light, contact force, and immersion fluids. Also, user induced, e.g., caused by varying contact force and angle, and system-induced variabilities were investigated.¹²³ Using an unfocused seven-plus-one probe (EMVision), only small user influence was observed.

During surgery, there can be interference from light sources, as for example, surgical spotlights, white-light sources, and LCD-monitor light. The same holds true when combining Raman systems with image guidance. Spectral interference from the imaging light, which gives rise to spectral artifacts, can easily obscure the weak Raman signal and reduce the predictive accuracy of the analysis. Switching the imaging light off during a Raman measurement increases the risk of puncturing the tissue, and the point of spectral acquisition cannot be visually confirmed.⁵⁷ Desroches et al.⁶³ more thoroughly researched the impact of surrounding light and found arrangements, which avoid measurements in complete darkness, i.e., standard operating room lights can be left turned on as long as they are pointed away from the sample. In a follow-up publication,¹²⁴ a filter adapter for the surgical microscope composed of two shortpass filters was

designed. This adapter in combination with background removal efficiently suppressed the interference of the operating microscope light source.

Depending on the clinical surrounding, special approaches are necessary. For Raman measurements during interventional MRI, a special fiber probe is needed, with no metal parts in the probe head. Ashok et al. developed an MRI compatible fiber optical Raman probe with a disposable probe head, which also maintains sterility. To make the probe head a single-use component, the filtering was decoupled from the head and the commonly used steel capillaries were replaced by a heat-shrinkable sleeve.

Furthermore, efficient calibration procedures have to be applied to ensure reproducible system performance. Wavenumber calibration is typically accomplished using calibration standards,¹⁰⁹ such as acetaminophen, naphthalene, and a calibration light source. The spectral system response can be calibrated using a tungsten-halogen lamp.^{67,111} For quantitative analysis of *in-vivo* tissue, Raman measurements in real-time univariate¹²⁵ or multivariate¹²⁶ reference signals can be used.

4.

Medical In-Vivo Applications

Raman spectroscopy has been used extensively for the characterization of *ex-vivo* biopsy samples; however, the real benefit of the method can only be explored through *in-vivo* applications. As such, there has been a significant movement from *ex-vivo* to *in-vivo* studies in recent years. This section presents the latest *in-vivo* studies and applications of Raman spectroscopy as a potential tool for intraoperative assistance and for the medical diagnostics on a variety of diseases and tissue types, such as cardiovascular and inflammatory disease and lung, breast, digestive and urinary tract, brain, and skin cancer.

4.1.

Cardiovascular Diseases

Cardiovascular diseases are the leading causes of death worldwide.¹²⁷ Due to the aging of blood vessels lining, the inner walls of arteries become susceptible to deposition and permeation of various lipids circulating through the bloodstream, resulting in a clogging of the vessel walls, a disease which is called atherosclerosis (AT). The associated swelling can severely reduce the blood flow and thus the nutritional supply of the affected organs, which is one of the leading causes of cardiovascular events.

Apart from diagnosing the presence of atherosclerotic plaques, it is well-known that the severity of a plaque and its stability are strongly correlated with its biochemical composition.¹²⁸ For instance, the identification of vulnerable plaques remains one of the most important and challenging aspects of cardiology. There are several types of vulnerable plaques, which have distinct biochemical compositions that are characterized by lipid cores, thin fibrous caps infiltrated by macrophages, proteoglycan matrices in a smooth muscle cell-rich environment, intraplaque hemorrhage, or calcified nodules protruding into the vessel lumen.¹²⁹ Thus, specific information about the composition of a plaque would greatly improve the risk assessment and management.

Several spectroscopic techniques based on near-infrared absorption, Raman spectroscopy, or fluorescence are currently under investigation or being developed.¹³⁰ Due to a high-molecular specificity and sensitivity for lipids and crystalline calcium, which are the main constituting biochemical components of atherosclerotic plaque, Raman spectroscopy is a predestined tool to perform this characterization. Furthermore, it is readily possible to distinguish between subclasses of lipids, such as triglycerides, cholesterol, and different cholesterol esters. The coupling of Raman spectroscopy to miniaturized probes allows a catheter-based implementation that can be performed during a routine catheter administered cardiovascular intervention, such as stenting or balloon-induced angioplasty. The development of miniaturized Raman probes would

allow a combination with cardiac catheterization and could potentially facilitate the diagnosis. It can also be combined with other intravascular imaging techniques.

First, *in-vivo* experiments were reported as early as 2000 on lipid plaque observed in sheep.¹³¹ In 2006, Raman spectroscopy was tested during carotid endarterectomy and femoral artery bypass surgeries.¹³² Experiments in combination with other spectroscopic techniques, in particular with DRS and autofluorescence, often referred to as intrinsic fluorescence spectroscopy (IFS),^{108,133} demonstrated that Raman spectroscopy is very sensitive to lipid pools. Concurrently, obtained DRS data have been related to the presence of $\beta\beta$ -carotenoids and superficial foam cells. Autofluorescence, on the other hand, has been used to detect the thickness of fibrous caps. Depending on the Raman probe design, the currently available Raman probes for cardiovascular applications are about 1 mm in diameter, which is generally subject to improvement. At this point, it is noteworthy to mention that Raman excitation within the NIR is not hindered by the presence of blood, and the intensity of the occurring autofluorescence is not too high and does not obscure relevant Raman signals.¹³⁴

In contrast to other modalities, Raman spectroscopy offers enormous benefits because of its potential to provide quantitative data. Early on in cardiovascular applications with Raman spectroscopy, it has been demonstrated that individual plaque components can be quantified. Because of unique compositional parameters, different plaque types can be analyzed in a nonsubjective manner that can assist in the recognition of vulnerable plaques and improve the aforementioned risk management. It is also possible to combine Raman spectroscopy with OCT for fast image contrast on the plaque morphology. *In-vivo* Raman spectroscopy in combination with OCT has been applied consecutively on rabbits (Fig. 9).¹¹² The allocation of the collected OCT and Raman data can be assured by XX-ray angiography during the operation; however, a probe that allows both modalities would be of significant impact. The OCT images and the Raman spectral information of distinct abnormal positions of early plaque formations were recorded. The morphology of early plaque formations was characterized by the OCT images and the Raman data obtained clearly showed the lipid nature of the depositions. All reported studies, mostly *ex vivo*, focused on proof of principle experiments. In particular, the application of Raman probes within arteries under *in-vivo* conditions is still very basic. The current challenges are predominantly of a technical nature, i.e., to design Raman probes that fulfill the technical requirements for applications in human.

Intravascular FLIM has also been compared with Raman spectroscopy. Both modalities were simultaneously acquired from two human coronary specimens using a bimodal probe.¹³⁵ Raman spectroscopy could distinguish lipid from necrotic cores, whereas FLIM extracted information could identify fibrous caps.

4.2.

Inflammatory Diseases

Inflammatory diseases are linked to a vast array of disorders characterized by inflammation and include allergic asthma, autoimmune disease, hepatitis, and IBD, among others. The diagnosis of inflammatory changes is crucial for the early diagnosis and treatment of autoimmune infections and metastatic diseases.¹³⁶ *Ex-vivo* Raman-based diagnostics of asthma and hepatitis was investigated by analyzing serum and blood plasma samples.^{137,138}

Ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease are two distinct types of IBD. The ability to endoscopically, pathologically, and radiologically diagnose and analyze the disease severity still needs improvement.¹³⁹ The potential of Raman spectroscopy to detect molecular alterations in UC and Crohn's (CC) has already been demonstrated.¹⁴⁰ Pence et al.¹⁴¹ tested a colonoscopy-coupled Raman fiber probe on 53 patients. Raman spectra were collected from the cecum, transverse, and sigmoid sites of the colon with integration times of 0.5 s and an excitation power of 80 mW. To improve the signal collection, a shallow focus design through a focusing microlens at the probe tip was implemented.¹⁴² The authors employed a sparse multinomial logistic regression algorithm to discriminate between UC and CC. The model was based on a Bayesian machine learning framework of statistical pattern recognition and allowed an overall classification accuracy of 95%. Recently, Pence et al.⁶⁶ reported a pilot *in-vivo* Raman study to characterize

IBD in 23 patients including healthy subjects that underwent a routine surveillance and evaluation colonoscopy, with biopsies collected. The classifiers did not achieve optimal sensitivity and specificity, with 62% and 22%, respectively, when discriminating colitis from the quiescent disease. Nevertheless, the analyzed Raman spectra provided enough information to discriminate between IBD and normal colon, demonstrating the potential of Raman spectroscopy for providing unknown biochemical information that can be used as a diagnostic tool for IBD.

4.3.

Cancer

4.3.1.

Lung

Lung and bronchus cancers are the most common causes of cancer deaths worldwide,¹⁴³ and smoking is the leading cause for this kind of cancer.¹⁴⁴ Techniques, such as CT, chest XX-ray, and sputum cytology, are commonly employed for lung cancer screening, but by the time of diagnosis in more than half of the patients the cancer has already metastasized. Early detection is urgently required to allow appropriate treatment and a reduction of mortality rates.¹⁴⁵ For example, using low-dose CT scanning, it was demonstrated that screening a high-risk population for lung cancer has led to a mortality reduction.^{146,147} White-light bronchoscopy has also been tested for early detection of cancer. However, it was reported that this technique cannot diagnose early cancers and precancerous lesions, such as angiogenic squamous dysplasia and squamous cell carcinoma *in situ*, and only 29% carcinoma *in situ* (CIS) and 69% of microinvasive tumors were detectable.¹⁴⁸ Fluorescence bronchoscopy has been tested and remains a promising tool for early detection of lung cancer.¹⁴⁹ Nevertheless, a main limitation is the specificity and the ability to only detect the proximal bronchial tree.¹⁵⁰ Early *ex-vivo* and *in-vivo* Raman studies demonstrated the potential of Raman spectroscopy to differentiate accurately tumor from healthy tissue.^{151,152} Recently, McGregor demonstrated that Raman spectroscopy together with multivariable analysis allowed differentiation of high-grade dysplasia and malignant lung lesions from tumor tissue and benign lung lesions with a high sensitivity and good specificity for 280 tissue sites of 80 patients.⁵⁶ The authors acquired Raman spectra mainly from the high wavenumber region (2775 to 3040 cm^{-1} –13040 cm^{-1}), with an acquisition time of 1 s. It was observed that spectra with malignant lesions presented a distinctive loss in lipid at 2850 cm^{-1} –2850 cm^{-1} . The analysis of this vibrational band allowed the discrimination of tumor from normal tissue with a sensitivity of 90% and specificity of 65%, respectively. It was further shown that the low specificity could be improved when Raman spectroscopy was combined with autofluorescence and white-light bronchoscopy.¹⁵³ Thereby, the efficiency of Raman spectroscopy has been demonstrated for lung and bronchus cancers detection. Nevertheless, so far it remains investigational and larger clinical trials are required to validate its effectiveness in the early cancer diagnostics.

4.3.2.

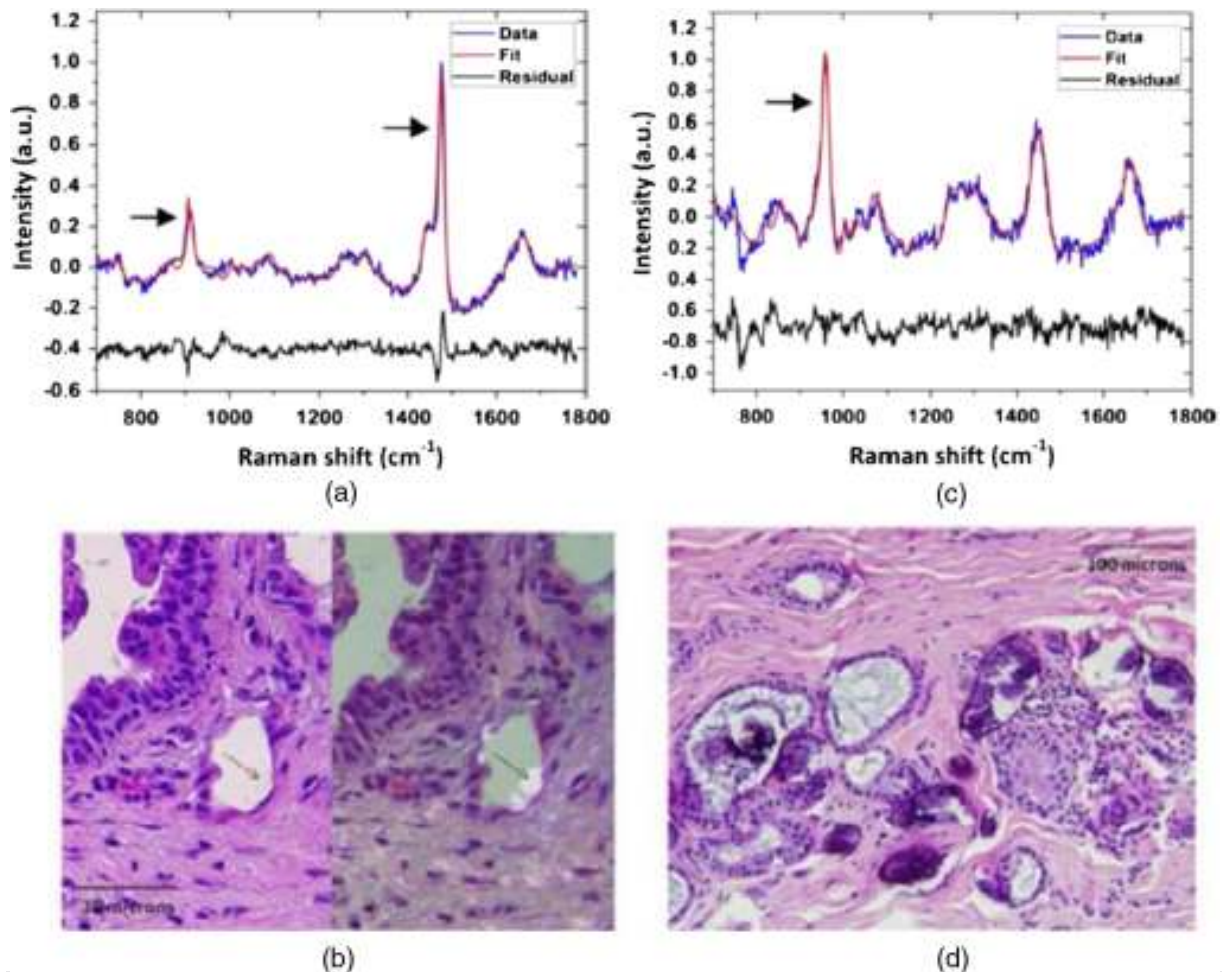
Breast

The second most common cancer and one of the most frequent malignancies in women worldwide is breast cancer, with 1.7 million new cases per year.¹⁵⁴ Many diagnostic methods have been investigated to diagnose early-stage breast cancer, including MRI, ultrasonography (US), positron emission tomography (PET), and CT, and are routinely used in the clinics.¹⁵⁵ Nevertheless, the sensitivity for the detection of early-stage breast cancer is rather low, and an intrasurgical assessment of the tumor margins is often quite challenging. In addition, there are cost and time constraints that still need to be addressed, and these create a demand for highly-sensitive and rapid methods to assess tumor margins during the surgery of early-stage breast cancer.^{155,156} An early study employing 321 Raman spectra from 44 patients demonstrated the potential of Raman spectroscopy to effectively diagnose early-stage breast cancer with a sensitivity of 72% for malignant tissue and 62% for benign tissue and a specificity for normal tissue of 83%.¹⁵⁷ The authors found that the normal tissue exhibits characteristic bands of carotenoids at 1150 and 1520 cm^{-1} –1520 cm^{-1} , which can be assigned to C–CC–C and C=CC=C stretching vibrations, respectively. Other characteristic changes

were observed in the symmetric and asymmetric C—HC—H vibrations at 2850 and 2940 cm^{-1} and 2940 cm^{-1} , respectively, which are representative of lipids. These characteristic bands were not observed or did exhibit altered appearance in malignant breast tumor tissue. In addition, the group found that the fatty acid composition in cancerous breast tissue had an increased content of 20-carbon essential fatty acid, which is significantly different from the fatty acid profiles present in normal breast tissue. This was also observed by Abramczyk et al.^{158,159} after testing the Raman same system on 150 patients. One possible interpretation is that the noncancerous tissue is dominated by monounsaturated oleic acid.¹⁵⁹ Saha et al.¹⁶⁰ reported on the potential of Raman spectroscopy for the real-time identification of microcalcifications as an early sign of breast cancer during stereotactic breast core needle biopsies. The study included *ex-vivo* Raman measurements from 159 tissue sites of 33 patients to detect microcalcifications in breast tissue biopsies. Using a probe described by Motz et al.,⁵⁰ the authors employed ordinary least squares fitting to approximate the acquired spectra with a breast model that was developed in a previous study.¹⁶¹ The authors showed that it was possible to distinguish the types of microcalcifications based on the presence or absence of vibrational bands characteristic of calcium oxalate at 912 and 1477 cm^{-1} and 1477 cm^{-1} ; see Fig. 10(a). The specific location in the biopsy from where the spectrum was acquired is shown in Fig. 10(b). In contrast, Fig. 10(c) highlights the prominent band 960 cm^{-1} and 960 cm^{-1} , which is characteristic for calcium hydroxyapatite/(microcalcification type II). The specific location in the biopsy is shown in Fig. 10(d).

Fig. 10 [Download](#)

Raman spectra and histopathology of breast lesions with types I and II microcalcifications. (a) Microcalcifications type I shows bands at 912 and 1477 cm^{-1} and 1477 cm^{-1} , (b) shows the calcium oxalate crystals (type I), left panel do not bind H&E and right panel viewed under polarized light, (c) Raman spectrum of type II microcalcifications with bands at 960 cm^{-1} and 960 cm^{-1} , and (d) calcium hydroxyapatite appear as basophilic concretions on the H&E stain. Reprinted from A. Saha et al., “Raman spectroscopy: a real-time tool for identifying microcalcifications during stereotactic breast core needle biopsies” with permission of *Biomedical Optics Express* (OSA).¹⁶⁰



Additionally, Horsnell¹⁶² and Haka et al.¹⁶³ evaluated the potential of Raman spectroscopy for *in-vivo* diagnostics for breast cancer. Both report on the feasibility to use the method in an operational theatre environment during surgery. The study by Haka et al. included nine patients and 31 Raman spectra were acquired. With their classification model, they reached an overall accuracy of 93% (28 of 30).⁵¹ The work by Horsnell et al.¹⁶² included 38 lymph node samples from 17 patients, achieving sensitivities and specificities of 90% in unsupervised test. The classification algorithm, as the one applied here described by Li et al.,¹⁶⁴ was able to classify the normal from tumor biopsies with a sensitivity of 94.9% and a specificity of 93.8%.

During the last 5 years, there have been no further records of *in-vivo* studies using Raman spectroscopy for the detection of early breast cancer.

4.3.3.

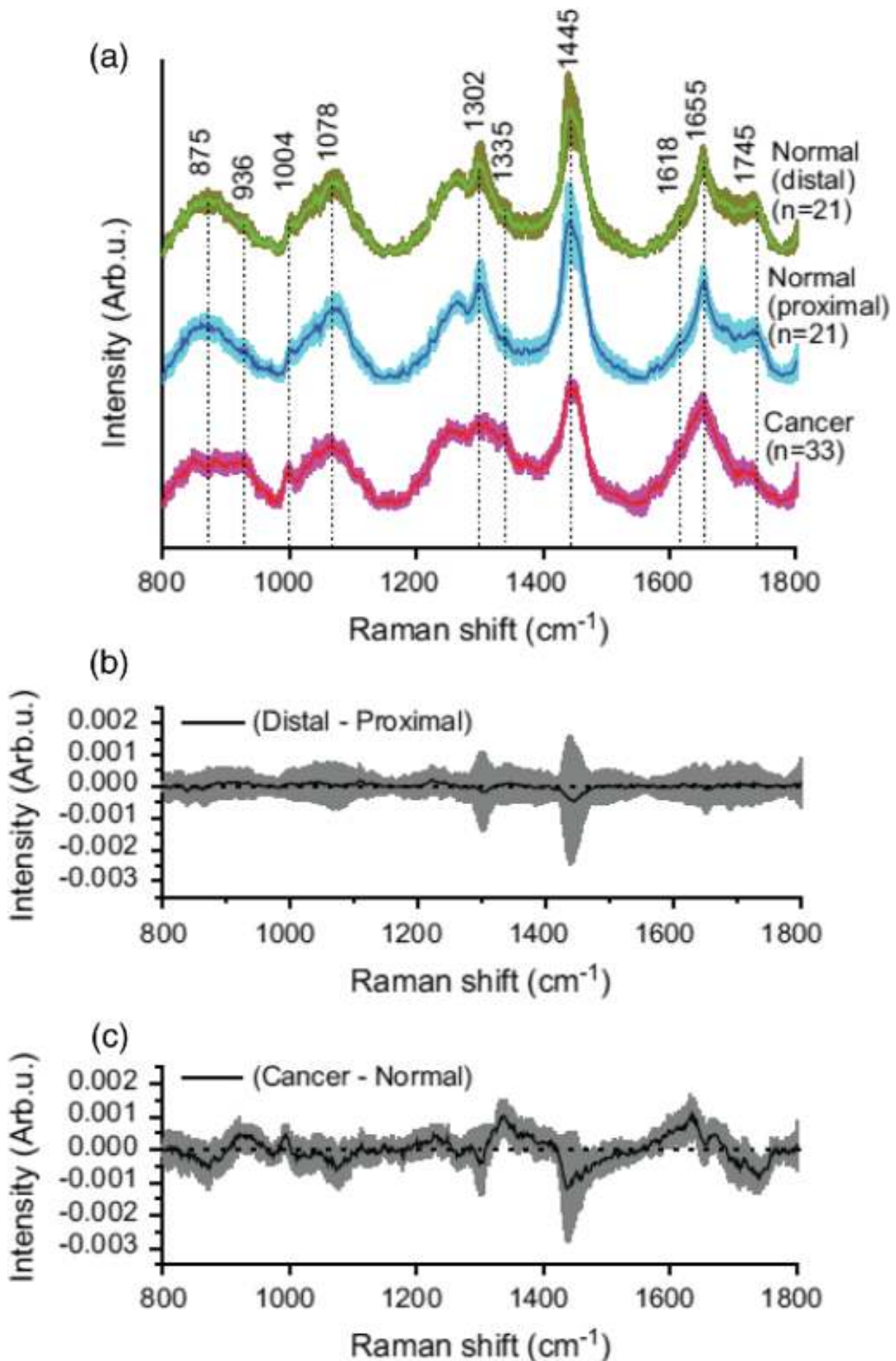
Digestive and urinary systems

According to the international agency for research on cancer, one of the most commonly diagnosed cancers worldwide is colorectal cancer with 1.4 million cases per year. The third most frequent cause of cancer death is stomach cancer with 0.7 million cases (8.8%),¹⁶⁵ while esophageal cancer is the eighth most frequent cancer (3.2%) and the sixth most common cause of death (4.9%).^{166,167} The research group around Huang has widely performed *in-vivo* studies with Raman spectroscopy to differentiate normal and tumor tissue in colon, stomach, and the esophagus.^{46,47,119,121,168-172} Early work by this group demonstrated the potential of Raman spectroscopy in the stomach by differentiating dysplasia from normal tissue. The authors use a 785-nm excitation laser and measured 76 gastric tissue samples from 44 patients, with 55 normal tissue samples and 21 tissue sample exhibiting dysplasia.¹⁷³ Data were analyzed by the variation in the band intensity ratio at the band 875cm⁻¹-1875 cm⁻¹, i.e., C—CC—C stretching of

hydroxyproline, and the band at 1450cm^{-1} , i.e., CH_2CH_2 bending of proteins/lipids, resulting in a sensitivity of 85.7% and a specificity of 80%. Huang and Bergholt^{174,175} have also performed *in-vivo* Raman measurements in the stomach for a label-free diagnostics of epithelial neoplasia, benign, and malign stomach ulcers. The results of these studies demonstrated that the diagnostic capability is optimized through the combination of near-infrared autofluorescence with Raman spectroscopy. A total of 1098 normal tissue and 140 cancer gastric tissue samples from 81 patients were measured with a spectral acquisition time of 0.5 s. The differentiation between gastric cancer and normal tissue was achieved with a sensitivity of 97.9% and specificity of 91.5%. The main advantage of combining Raman spectroscopy with autofluorescence is that the latter provides additional information, such as changes in morphological structures, tissue scattering, absorption, and endogenous fluorophore content of sample.¹²¹ Bergholt et al.¹¹⁹ also performed *in-vivo* diagnostics of esophageal cancer with image-guided Raman endoscopy by combining widefield endoscopic imaging, narrow band imaging, and autofluorescence imaging in 75 esophageal tissue sites from 27 patients, where 42 Raman spectra were acquired from normal tissues. It was found that the esophageal cancer tissue exhibits Raman bands associated with cell proliferation, lipid reduction, and neovascularization. The LDA-based diagnostic model allowed differentiating tumor from normal tissue with a sensitivity of 97% and specificity of 95%. Examples of *in-vivo* Raman spectra and Raman difference spectra of normal and cancerous esophageal tissue from this publication are plotted in Fig. 11. The difference spectra between the distal and proximal esophageal sites of normal tissue show insignificant detectable biomolecular variability; see Fig. 11(b). Figure 11(c) shows the difference spectrum between tumor and normal esophageal tissue, which resolves meaningful biomolecular changes that are related to neoplastic tissue transformation.^{176,177} Other relevant studies on the esophagus, although *ex vivo* but worth mentioning, were carried out by the Stone's group.^{79,80} Kendall et al. performed the diagnostics of esophageal cancer using a Raman probe on 123 esophageal biopsies collected from 49 patients. The authors demonstrated that high levels of sensitivity (81%) and specificity (98%) can be achieved using the miniature confocal fiber optic Raman probe at 50 mW, laser excitation of 830 nm, and acquisition times between 2 and 10 s from random locations on the surface of each sample.^{36,79}

Fig. 11 [Download](#)

(a) Mean Raman spectra obtained *in vivo* and standard deviations of normal and cancerous esophageal tissue, the spectra are shifted vertically to observe easily the change, (b) The difference spectrum of the mean normal Raman spectra between the distal and proximal esophageal tissue, and (c) difference spectrum of the mean Raman spectra between cancer and normal esophageal tissue. Adapted with permission from Bergholt et al., "*In-vivo* diagnosis of esophageal cancer using image-guided Raman endoscopy and biomolecular modeling" with permission of the *Journal of Technology in Cancer Research and Treatment*.¹¹⁹



Recently, Wang et al.¹⁷¹ demonstrated that the acquisition of both the low and the high wavenumber regions of a Raman spectrum meaningfully enhances the detection of esophageal neoplasia *in vivo* in comparison with each region alone. The authors measured Raman spectra from 48 esophageal patients under endoscopic examination, with 80% of the data used to train a model and the remaining data used for testing the data acquired with a confocal beveled fiber optic Raman probe.⁴² The classification was performed using partial least squares discriminant analysis with cross validation, resulting in a diagnostic sensitivity of 97% and specificity of 97.4% of the esophageal squamous cell carcinoma. The changes were attributed to a reduction of the Raman band intensities at 1078 cm^{-1} and 1078 cm^{-1} , which is associated with a reduction in lipid content that occurs mainly due to the thickening of the cancerous esophageal mucosa.¹⁷⁸ In a follow-up study, Wang et al.⁴⁷ also reported an *in-vivo* investigation into diagnostics gastric dysplasia, mostly known as a precursor of gastric cancer. The authors tested the fiber Raman probe system employed in the previous study^{45,171} to differentiate normal, dysplastic, and cancerous gastric tissue, achieving much higher specificity in comparison with WLR endoscopy, 95.9% and 51%, respectively. The study obtained a total of 5792 Raman spectra of gastric tissue, i.e., 89% normal, 2% high-grade dysplasia, and 8% adenocarcinoma from 191 gastric patients and 441 tissue sites. Bergholt et al.¹⁷⁹ also reported for the first time depth-resolved Raman endoscopy as a tool for the *in-vivo* detection of dysplasia in Barrett's epithelium, with a total of 43 patients that were tested with Raman endoscopy. The fiber optic Raman probe was used in direct contact with the GI epithelia. The Raman signal was acquired from a layer of a depth of $\sim 200\mu\text{m}$ to $200\mu\text{m}$, with a 785-nm excitation trimodal Raman spectroscopic platform, which allowed the resolution of histopathological features of endogenous biomolecules in the epithelium.

Lin et al.¹⁷² reported diagnosing gastric intestinal metaplasia (IM) *in vivo* using the beveled fiber optic Raman probe previously developed.^{42,44} The authors acquired 4520 gastric Raman spectra from 157 gastric patients, i.e., normal 92% and IM 8%. Relevant differences between normal and IM tissue were reductions in the band intensities at 875 and 1078 cm^{-1} and 1078 cm^{-1} , which are associated with collagen and lipid contents, respectively.

Bergholt et al.¹⁸⁰ demonstrated in 2015 in an *in-vivo* study that specific biomolecular variations picked-up by Raman spectroscopy in different anatomical locations within the colorectum of normal colorectal tissue is negligible compared with cancer tissue.

The authors acquired Raman spectra from 1129 sites of five different locations, i.e., ascending colon 16%, transverse colon 22%, descending colon 11%, sigmoid 19%, and rectum 32%, in 50 patients. To complement this work, Ding et al.¹⁸¹ investigated different physiological factors on biochemical properties of colon tissue. After measuring 455 Raman spectra from 56 subjects, between 28 and 85 years of age, it was found that ethnicity, gender, and age in relation with body mass index (BMI) are key factors of variability in the spectra within the normal tissue, mainly from contrasting abundance between lipids and proteins. The authors report that the intensity of Raman bands at 1303, 1445, and 1656 cm^{-1} and 1656 cm^{-1} increased substantially in obese and overweighted patients compared with the normal subjects. In contrast, protein decreased in both groups. It is, therefore, reasonable to consider the BMI a relevant factor when applying Raman spectroscopy for label-free *in-vivo* diagnostics.

Worldwide bladder cancer has become the ninth most common cancer, with a mortality rate of $>60\%$ to $>60\%$.¹⁸² Early studies on biopsies demonstrated the potential of Raman spectroscopy to detect different bladder tumors (CIS, G1 to G3) from normal bladder tissue.¹⁸³⁻¹⁸⁶ For instance, it was found that the DNA content increases for pathologies within the bladder and the prostate, while in contrast the collagen content decreases. In addition, a higher level of cholesterol with an increased severity of the tumor was observed.¹⁸⁷ These investigations were complemented by another *ex-vivo* study that employed confocal Raman probes acquiring 140 Raman spectra from 28 fresh biopsies of 14 patients optimizing the classification algorithm and achieving a sensitivity of 85.7% and specificity of 100% for the diagnostic performance.¹⁸⁵ Further steps were taken by Stone and coworkers¹⁸⁸ in collaboration with Motz et al.⁴⁹ The authors reported on a clinical fiber optic Raman system for the discrimination between benign and malignant snap-frozen bladder samples with an overall accuracy of 84%.^{50,188} This initial work allowed the translation of the Raman-based diagnostic approach from *ex vivo* to *in-vivo* bladder cancer diagnostics. A highly cited study on *in-vivo* bladder cancer diagnostics was reported by Draga and coworkers,⁵⁹ who

performed measurements on 38 patients, using a Raman spectroscopic probe, reported previously by Magee et al.¹⁵¹ For each sample, a leave-one-out cross validation was used to distinguish cancer from normal tissue, achieving a sensitivity of 85% and specificity of 79%.

4.3.4.

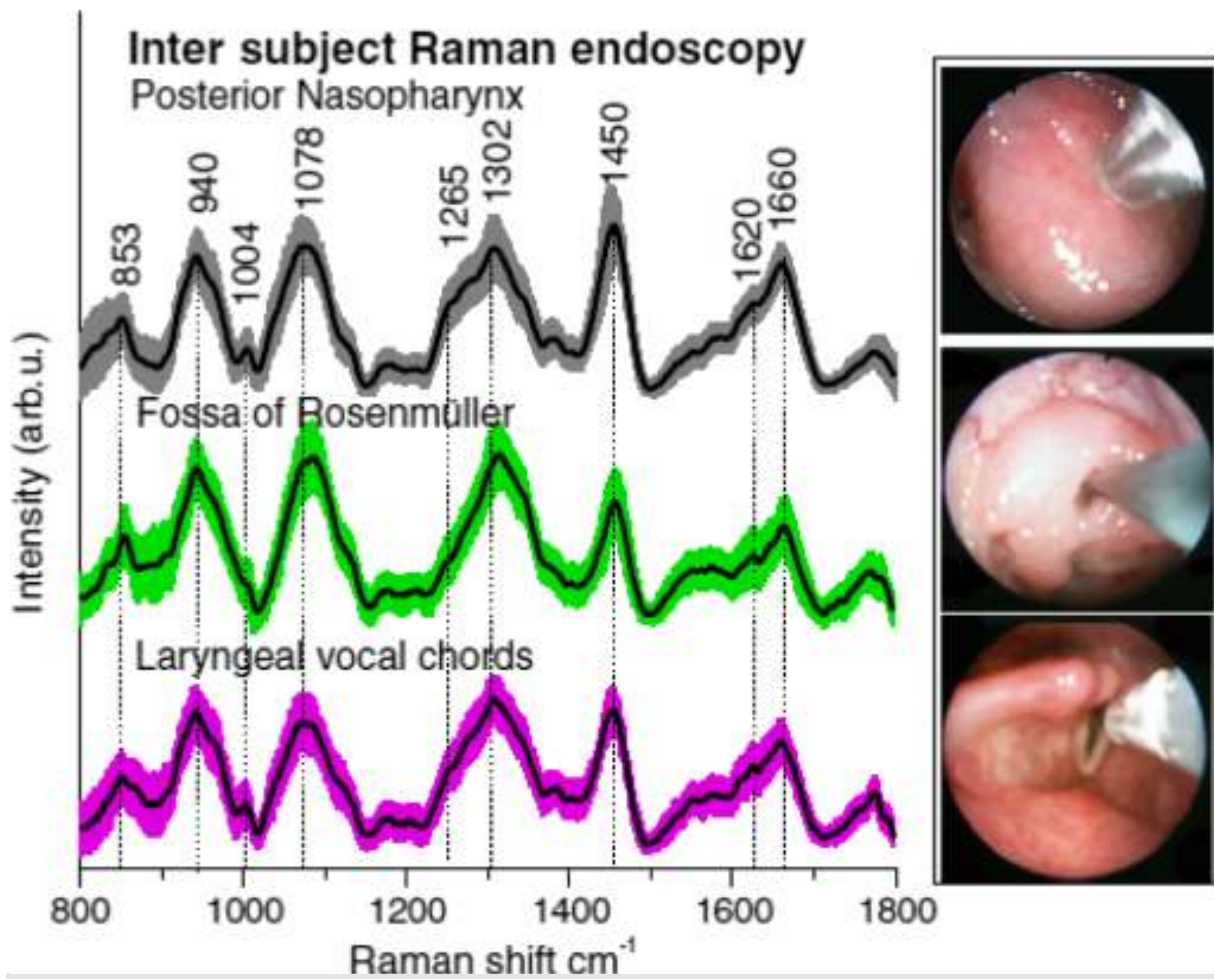
Head and neck

Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) includes a variety of tumors in the lip, oral cavity, hypopharynx, oropharynx, nasopharynx, and larynx. HNSCC is the sixth most common malignancy worldwide,¹⁸⁹ with about 85,000 incident cases and over 50,000 reported deaths from nasopharyngeal carcinoma (NPC) in 2012.¹⁹⁰ As an alternative to the standard tissue biopsy methods, optical spectroscopy techniques, such as light scattering, Raman and fluorescence spectroscopies have been tested for the detection of early-stage NPC.^{191–193}

The application of Raman spectroscopy for cancer diagnostics of head and neck has been reported for several cases.^{191,194–196} For example, Lin et al.⁸² implemented transnasal image-guided Raman spectroscopy in the higher wavenumber region to detect laryngeal tumor tissue with a miniaturized fiber optical Raman probe in the larynx, acquiring 94 Raman spectra with 23% normal and 77% tumor sites from 39 patients that underwent laryngoscopic screening. The measured spectra presented prominent differences between normal and tumor tissue in the Raman band intensities at 2845, 2880, and 2920 cm^{-1} –2920 cm^{-1} associated with CH_2CH_2 stretching of lipids, and the 2940 cm^{-1} –2940 cm^{-1} band, which is assigned to the CH_3CH_3 stretching vibration of proteins. The authors were able to differentiate laryngeal tumor from normal with a diagnostic sensitivity of 90.3% and specificity of 90.9%. Further studies in the nasopharynx and larynx allowed the first implementation of *in-vivo* real-time transnasal image-guided Raman endoscopy,¹¹⁶ where the authors employed an earlier described Raman probe⁴³ to acquire 874 Raman spectra of 60% posterior nasopharynx, 18% of the fossa of Rosenmüller, and 22% true laryngeal vocal cords (LVCs) from 23 patients without any previous carcinosis. The spectra provided characteristic information about the composition and morphology variations in the normal nasopharynx and larynx tissue. The mean spectra of each intersubject nasal track are shown in Fig. 12, where each spectrum was acquired within 0.1 s. The WLR images of the upper (PN), mid (FOR), and lower (LVCs) nasal track are also shown. In another study, the *in-vivo* anatomical variability of the oral cavity was investigated, and Raman spectra from 26 healthy volunteers and 113 patients registered for medical examination without a history of malignancy or dysplasia were acquired. The authors performed unsupervised classification to identify anatomical differences of the measured sites, whereby the anatomical clustering yielded an overall accuracy of 95%.¹⁹⁷ Wang et al.¹⁰³ characterized biochemical and morphological changes of clinically relevant locations of oral tissue, i.e., alveolar process, the floor of the mouth, and lateral tongue *in vivo* by combining Raman spectroscopy with optical coherence tomography (RS-OCT). The study was carried out on 26 healthy volunteers with 1049 Raman spectra acquired from alveolar process (31%), lateral tongue (33%), and floor of mouth (36%). OCT images were acquired to reveal the inter-anatomical morphological dissimilarities. Partial least squares discriminant analysis was used to train the dataset obtained with the RS-OCT, yielding a higher diagnostic sensitivity of 100%, 76.5%, and 51.3% and specificity of 95.1%, 77.6%, and 89.6%, respectively, than obtained by just using Raman spectroscopy, i.e., sensitivities of 90.2%, 77.5%, and 48.8%, and specificities of 95.8%, 72.1%, and 88.8% for the differentiation of tumor and normal tissue of alveolar process, lateral tongue, and floor mouth, respectively.

Fig. 12 [Download](#)

Mean Raman spectra obtained *in vivo* of posterior nasopharynx (PN), fossa of Rosenmüller (FOR), and LVCs. The mean spectra are oriented vertically. In addition, *in-vivo* fiber optic Raman endoscopic acquisitions from upper-, mid-, and lower-nasal track under WLR and narrow band imaging guidance are presented (Reprinted with permission of JBO).¹¹⁶



Huang and coworkers⁴² investigated a micro-optical Raman probe for the *in-vivo* diagnostics of laryngeal cancer, acquiring 2124 Raman spectra, i.e., 62% normal and 38% tumor tissue from 60 patients under routine endoscopic examination. They reported that laryngeal tumor differs from normal tissue and that the changes are associated with the water content in the larynx, as well as the composition of proteins, lipids, and nucleic acids. The measured spectra were analyzed with partial least squares discriminant analysis, achieving a sensitivity of 93.3% and specificity of 90.1% and diagnostic accuracy of 91.1%.¹⁹⁸ In a follow-up publication, the authors also confirmed that observed Raman bands at 940 cm^{-1} –1940 cm^{-1} for proline and valine and 1078 cm^{-1} –11078 cm^{-1} for lipids decrease as a consequence of the thickening of the epithelium associated with cancerous progression, which obscures the collagen Raman emission from deeper tissue layers.¹⁹⁹ Furthermore, the group also tested the probe for *in-vivo* diagnostics of nasopharyngeal in 95 patients, acquiring 3731 spectra, 47% of them from normal tissue, and applying PCA-LDA together with leave-one-subject-out cross-validation (LOO-CV), obtaining a diagnostic accuracy of 93.1%.⁴⁸

4.3.5.

Brain

Surgical removal of the entire tumor tissue in brain, even meningiomas (benign tumor), is crucial for optimal treatment of the affected patient.²⁰⁰ US, PET, CT, and MRI allow defining the border for tumor excision.^{201,202} However, despite the extended use, even intraoperative MRI, US, and PET have several drawbacks, such as the application of radioactive tracers, spatial resolution, scanning, and patient transport time.²⁰³ A further complication occurs in the correlation between any imaging modality performed before a craniotomy and the true location of the brain after the craniotomy. A method that can provide biochemical information to differentiate tumor from nontumor tissue can provide supplemental information to current techniques.²⁰⁴ The potential of Raman spectroscopy for intraoperative differentiation of brain tumor from normal brain tissue has been evaluated.^{205–207} One recent study demonstrates the potential of Raman spectroscopy for intraoperative brain cancer detection. The handheld contact Raman probe (EMVision)

(see Fig. 13) was tested on 17 patients by collecting 161 measurements per sample with an integration time of 0.2 s with a laser power between 37 and 64 mW. The researchers were able to distinguish normal brain from dense cancer with a sensitivity of 93% and specificity of 91%, enabling also the detection of brain cancer cells in patients with grade 2 to 4 gliomas.^{64,208} The work was partially consistent with previously published results. The samples with cancer cells in comparison with normal brain showed differences in the lipid bands at 700 and 1142 cm^{-1} 1142 cm^{-1} ; the additional changes in the 1540 to 1645 cm^{-1} 1645 cm^{-1} bands indicate the higher content of nucleic acid in cancer cells.²⁰⁹ It has to be emphasized that it is crucial to properly correct the signal when strong background from autofluorescence or from ambient light is present. In addition to the significant shot noise level, a convolution of the broad polynomial background with the filter function can easily result in additional peaks and can even emulate to some degree Raman spectra, making the analysis very challenging and the results often misleading. Jermyn and coauthors also demonstrated the potential of boosted trees¹⁰⁹ and artificial neuronal networks (ANN)²¹⁰ to distinguish tissue with and without the presence of light artifacts, concluding that ANN achieves an accuracy of 90%, sensitivity of 91%, and specificity of 89% when measuring with light artifacts. In contrast, boosted trees have a lower accuracy.¹⁰⁹ A recent study characterized the SNR of a Raman probe system for intraoperative brain tissue on 10 patients. The authors proved that by increasing the integration time from 0.05 to 0.1 s and reducing the CCD camera temperature to -80°C – 80°C , the SNR increases by 41% and 35%, respectively, in addition they showed that the system response is linear by relating laser power and integration time with relevant bands ratios. This study also demonstrated that necrosis can be distinguish from tumor and healthy brain tissue with an accuracy, sensitivity, and specificity above 84%;⁶³ the authors performed the test with an excitation laser operated between 40 and 60 mW at 0.05-s integration time. The probe was sterilized with a STERRAD system in a standard low temperature procedure that uses plasma gas.

Fig. 13 [Download](#)

Raman handheld probe being used in the operating room at the Montreal neurological Institute and Hospital by neurosurgeon Dr. Kevin Petrecca. The sources of ambient light can be observed including the microscope white-light, operating room overhead lights, and LCD screens (Reprinted with permission of JBO).²³⁰



4.3.6.

Prostate and cervix

Prostate cancer is one of the leading causes of cancer mortality among men with 1.4 million reported cases and 293,000 deaths worldwide in 2013.²¹¹ There is a comparable number for cervical cancer with an estimated 266,000 deaths worldwide in 2012.²¹² Diagnostic techniques for early detection of cervical cancer, such as screening methods, e.g., pap smear, visual inspection with acetic acid (VIA), and excisional biopsy, have been investigated, but poor sensitivity and specificity have been reported.^{213,214} The potential of optical spectroscopic techniques has been extensively studied; for instance, *in-vivo* fluorescence and reflectance spectroscopy have demonstrated sufficient sensitivity at low cost.^{215,216} Nevertheless, studies using Raman spectroscopy demonstrated that *in-vivo* diagnostics of cervical cancer with higher accuracy is possible.^{39,217} An early *in-vivo* high-wavenumber Raman spectroscopy study on 46 women, using a handheld fiber optic Raman probe coupled with a ball lens, demonstrated that dysplasia tissue could be identified with a sensitivity of 93.5% and specificity of 97%.³⁷ Comparing Raman spectra of normal and dysplasia cervical tissue, distinct intensity differences were observed at CH₂CH₂ stretching bands of lipids (2850 and 2885 cm⁻¹) and at CH₃CH₃ stretching bands of proteins (2940 cm⁻¹), respectively.³⁷ The authors evaluated the intensity ratio of protein to lipid bands, resulting in ratios of 5.05 for dysplasia tissue and a lower ratio of 4.16 for normal tissue. The differences were linked to a decrease in content of membrane lipids, combined with an increase in short-chain fatty acids. Changes induced by dysplasia led to an increase in the nucleic hyperchromatism and density.²¹⁹ In one of the first studies, Duraipandian et al.³⁹ reported an *in-vivo* investigation on cervical precancer detection, using Raman spectroscopy, based on the measurement of 105 near-infrared Raman spectra from 57 sites *in vivo* of 29 patients, with 65 spectra from normal and 40 from cervical precancerous sites. The authors employed a genetic algorithm partial least squares discriminant analysis (GA-PLS-DA-dCV) to identify seven significant bands associated to lipids, proteins, and nucleic acids in tissue and were able to differentiate low and high-grade precancerous lesions with a diagnostic accuracy of 82.9%. To further increase the diagnostic accuracy, the authors also incorporated spectral variations linked to confounding factors, such as age, race, smoking habits, and menopausal status in cervical Raman spectra from previous studies to the GA-PLS-DA-dCV model.²²⁰ The authors also investigated variations in the high wavenumber region aimed to improve the classification accuracy of cervical precancer. The acquired Raman spectra were stratified based on the menopausal status of the cervix of 15 patients, increasing the accuracy from 71% to 91%.²²¹ A follow-up study by Duraipandian et al.²¹⁷ explored the advantages of using both the low- and the high-wavenumber regions for *in-vivo* detection of cervical precancer, acquiring 473 Raman spectra (349 normal) from 35 patients. The researchers observed intensity increases in the bands at 1001, 1095, and 1313 cm⁻¹ of dysplastic cervical tissue in comparison with normal tissue. In a second follow-up study, the authors investigated composite NIR AF/Raman spectroscopy for cervical precancer diagnostics. Here, 1240 NIR AF/Raman spectra were acquired *in vivo* from 115 normal sites of 84 nonpregnant female patients, between 18 and 70 years of age, undergoing a colposcopy revision linked to abnormal pap smears. The combination of near-infrared Raman spectroscopy with autofluorescence yielded a diagnostic accuracy of 84.1% for *in-vivo* discrimination of dysplastic cervix. Nevertheless, the autofluorescence intensity change associated with dysplastic progression was not significant, which indicated that confocal-based NIR AF spectroscopy alone is inefficient for precancer identification.²²² In a further investigation using NIR Raman spectroscopy, the author reported that Raman spectral biomarkers can be used for monitoring the multistage cervical precarcinogenesis at the molecular level.²²³ A semiquantitative modeling based on the major biochemical macromolecules in cervical tissue, i.e., DNA, histone, collagen, triolein, and glycogen, contains the stepwise accumulation of biomolecular changes associated with progressive cervical precarcinogenesis. The potential of Raman spectroscopy for prostate cancer was investigated by Crow et al.,²²⁴ who developed a diagnostic algorithm to differentiate between pathological groups, i.e., benign prostatic hyperplasia and adenocarcinoma-Gleason, with an accuracy of 89%. The authors found reduced glycogen content and increased nucleic acid content in malignant samples compared with benign pathologies. In a follow-up study, the authors also tested an NIR fiber optic Raman system to acquire 220 Raman spectra from 29 bladder samples in cystoscopic procedures and 197 Raman spectra from 38 prostate samples.¹⁸⁸ The developed algorithm differentiated benign prostatic hyperplasia and prostatitis from prostate cancer with 86% overall accuracy. Further studies using Raman spectroscopy reported accurate differentiation of benign and malign

prostate tissue.²²⁵ For instance, the differences in the band intensities at 782cm^{-1} – 1782cm^{-1} in the cancer samples compared with benign samples can be interpreted as an increase in the DNA content in cancer prostate tissue.²²⁵ *In-vivo* investigations in prostate have not been reported, but the potential of Raman for *in-vivo* prostate cancer diagnostics has been demonstrated and should be expanded to the *in-vivo* diagnostics of prostate cancer.

4.3.7.

Skin

As one of the most exposed organs of the human body, the skin has been studied and is routinely investigated by various optical modalities. Clinical routine investigations range from large screening dermoscopy and whole-body photography to the assessment of a few atypical and preselected regions that are investigated by pathologists.⁷⁰ The gold standard for risk evaluation of skin abnormalities and the diagnosis of skin cancer is based on biopsy extraction and subsequent histopathology, which is usually time consuming. The need for real-time and noninvasive examination of skin abnormalities arises from the growing number of skin cancer cases. Apart from supporting on-site evaluation, fast diagnosis can be beneficial as most skin cancers can be cured if recognized early enough.²²⁶ Several spectroscopy methods, such as Raman, reflectance, and fluorescence spectroscopy, have been widely investigated.²²⁷ Lui et al.⁸⁸ have demonstrated the feasibility of Raman spectroscopy in combination with multivariate data analysis to distinguish cancerous from benign lesions, showing promising results for skin cancer. The group used a Raman probe that consists of a $200\text{-}\mu\text{m}$ – $200\text{-}\mu\text{m}$ -core diameter single fiber to collect the generated Raman signal and one fiber to illuminate a 3.5-mm diameter skin area. The collected single-point spectra were recorded in 1 s and subjected to principal component with generalized discriminant analysis (PC-GDA) and PLS for statistical data evaluation. All together 453 patients were examined, with abnormalities including melanomas, basal cell carcinomas, squamous cell carcinomas, actinic keratoses, atypical nevi, melanocytic nevi, blue nevi, and seborrheic keratoses. The sensitivities to differentiate skin cancers and precancers from benign skin lesions, melanomas from nonmelanoma pigmented lesions, and melanomas from seborrheic keratoses ranged between 95% and 99%. The achieved specificities of about 15% were still higher than that of studies based on inspections by clinicians.²²⁸ Another probe-based approach was suggested by the University of Texas (Austin) in collaboration with EmVision.¹¹¹ They employed a seven-around-one fiber optic Raman probe in combination with fluorescence and reflectance measurements. In a clinical study, the group investigated 137 lesions from 76 patients with cases of MM, nonmelanoma pigmented lesion (PL), BCC, actinic keratosis (AK), and SCC.⁵² The sensitivity was 100% and specificity values ranged between 95% and 71%, depending on the differentiation between individual abnormalities. The best classification performance for nonmelanoma skin cancer was obtained using multiple modalities. The best melanoma classification was evaluated based on the Raman data alone. To support the data analysis, the group also analyzed the spectral contributions of individual skin components such as collagen, elastin, triolein, nuclei, keratin, ceramide, melanin, and water, by fitting spectra obtained *in vitro* using Raman microscopy.²²⁹ A probe design using 785-nm excitation was used in a larger clinical study involving 104 patients being suspected of having MM ($n=36$), BCC ($n=39$), and SCC ($n=29$).⁷³ The probe design focuses the excitation beam to a spot size of $104\text{-}\mu\text{m}$ and 17 mW on a sapphire finishing lens surface, which results in an asymmetrical detection spot with dimensions in the range of $500\text{ to }600\text{-}\mu\text{m}$. The probe was designed for contact mode, and the backscattered light is guided by three $100\text{-}\mu\text{m}$ -collecting fibers into the spectrometer. The incorporated lens potentially allows penetration depths of $100\text{-}\mu\text{m}$ or more, which can be crucial to reach the epidermal site of the basal membrane as a potential site of early cancer development. NMSC, MM, and pigmented nevi (PN) were discriminated with high accuracies of 73% for BCC, 85% for SCC, and 91% for the pigmented cases. There have also been approaches to combine Raman spectroscopy with OCT as it is probably the imaging modality that has the best potential to be used as a routine clinical screening technique. The first *in-vivo* experiments were reported in 2011 by the group of Mahadevan-Jansen.¹⁰¹ The described multimodal setup employs focusing optics for the Raman excitation with an estimated spot size of $44\text{-}\mu\text{m}$ at the sample with a depth penetration

of $\sim 530\mu\text{m}$ $\sim 530\ \mu\text{m}$ at an excitation power of 40 mW. The Raman spectra of normal skin and BCC were compared and showed significant differences mainly around 1090, 1340, and 1440 cm^{-1} 1440 cm^{-1} .

5.

Summary and Outlook

In-vivo Raman spectroscopy has a great potential to enable noninvasive clinical diagnostics for a variety of diseases because it provides label-free information about the biomolecular fingerprint of the sample and can be used to characterize and to differentiate different disease stages. In the recent years, there have been significant technological achievements and a considerable number of clinical applications readily performed. This review provides a comprehensive overview of the different technical aspects and clinical *in-vivo* applications. It describes instrumental aspects, starting with the choice of the appropriate components, such as excitation source, detector, and spectrometer, but it also describes in detail the different fiber optical Raman probes, which have been shown in different experimental settings. Any successful *in-vivo* Raman measurement is tightly bound by the instrumentation parameters and has to be carefully assessed by the developer before measurements can be performed. Instrumentation parameters, such as the linewidth of the laser, the read noise level and dark current of the detector, and the spectral resolution of the spectrometer unit, are just a few that have to be carefully evaluated. Although the performance can usually be ensured by high-end scientific devices, it is also important to emphasize that cost can play a significant role in moving Raman spectroscopy to the clinical environment. It is, therefore, highly important to evaluate how parameters, such as spectral resolution, spatial sampling size, and spectral SNR, can be sacrificed while maintaining adequate label-free clinical diagnostics. The simplification of device structure will ultimately lead to reduction in cost and a wider availability of the method. In addition to the instruments, it is highly important to consider the designs, development, and performance of the specific fiber optic Raman probes. Here, new designs based on fiber technologies have to be addressed and tested to reduce the complexity of constructing Raman fiber probes. This will result in low-cost, single-use probes, which can further help to make Raman spectroscopy an invaluable diagnostics tool. The implementation of Raman-probes tailored to the working channels of commercially available endoscopes has already been shown by several groups. The combination with other spectroscopy and imaging modalities will further expand on the applicability of the method, and additional multimodal probe designs will appear in the near future. The clinical applications outlined in this review clearly demonstrate the great potential for *in-vivo* use of biomedical Raman spectroscopy. Ultimately, as efficiently summarized in Ref. 4, the advantage of Raman spectroscopy over existing medical devices has to be demonstrated in large cohort studies based on patient outcomes and compared with accepted gold standard methodologies. Overall, in the last several years, there has been significant progress in moving Raman spectroscopy from a pure scientific research method to a mature tool, which bears significant promise to provide label-free *in-vivo* diagnostics.

Disclosures

The authors have no potential conflicts of interest to disclose.

Acknowledgments

This work was supported by the EU-funded project MIB (No. 667933).

References

1. E. B. Hanlon et al., "**Prospects for *in vivo* Raman spectroscopy**," *Phys. Med. Biol.*, 45 R1 –59 (2000). <https://doi.org/1088/0031-9155/45/2/201> [Google Scholar](#)
2. I. W. Schie and T. Huser, "**Methods and applications of Raman microspectroscopy to single-cell analysis**," *Appl. Spectrosc.*, 67 (8), 813 –828 (2013). <https://doi.org/10.1366/12-06971> APSPA4 0003-7028 [Google Scholar](#)

3. O. Stevens et al., "**Developing fibre optic Raman probes for applications in clinical spectroscopy**," *Chem. Soc. Rev.*, 45 1919–1934 (2016). <https://doi.org/10.1039/C5CS00850F> CSRVBR 0306-0012 [Google Scholar](#)
4. I. J. Pence and A. Mahadevan-jansen, "**Clinical instrumentation and applications of Raman spectroscopy**," *Chem. Soc. Rev.*, 45 (7), 1958–1979 (2016). <https://doi.org/10.1039/c5cs00581g> CSRVBR 0306-0012 [Google Scholar](#)
5. D. W. S. Shipp, F. S. Sinjab and I. Notingher, "**Raman spectroscopy: techniques and applications in the life sciences**," *Adv. Opt. Photonics*, 9 (2), 1–70 (2017). <https://doi.org/10.1364/AOP.9.000315> AOPAC7 1943-8206 [Google Scholar](#)
6. A. Mahadevan-jansen and R. R. Richards-Kortum, "**Raman spectroscopy for the detection of cancers and precancers**," *J. Biomed. Opt.*, 1 (1), 31–70 (1996). <https://doi.org/10.1117/12.227815> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
7. M. Diem et al., "**Applications of infrared and Raman microspectroscopy of cells and tissue in medical diagnostics: present status and future promises**," *Spectrosc. An Int. J.*, 27 (5–6), 463–496 (2012). <https://doi.org/10.1155/2012/848360> [Google Scholar](#)
8. S. Wachsmann-Hogiu, T. Weeks and T. Huser, "**Chemical analysis in vivo and in vitro by Raman spectroscopy-from single cells to humans**," *Curr. Opin. Biotechnol.*, 20 (1), 63–73 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2009.02.006> CUOBE3 0958-1669 [Google Scholar](#)
9. Q. Tu and C. Chang, "**Diagnostic applications of Raman spectroscopy**," *Biol. Med.*, 8 545–558 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.09.013> AUPBDJ 0397-2836 [Google Scholar](#)
10. L. A. Austin, S. Osseiran and C. L. Evans, "**Raman technologies in cancer diagnostics**," *Analyst*, 141 (2), 476–503 (2016). <https://doi.org/10.1039/C5AN01786F> ANLYAG 0365-4885 [Google Scholar](#)
11. M. Jermyn et al., "**A review of Raman spectroscopy advances with an emphasis on clinical translation challenges in oncology**," *Phys. Med. Biol.*, 61 R370–R400 (2016). <https://doi.org/10.1088/0031-9155/61/23/R370> PHMBA7 0031-9155 [Google Scholar](#)
12. J. Schleusener et al., "**Perturbation factors in the clinical handling of a fiber-coupled Raman probe for cutaneous in vivo diagnostic Raman spectroscopy**," *Appl. Spectrosc.*, 69 (2), 243–256 (2015). <https://doi.org/10.1366/14-07482> APSPA4 0003-7028 [Google Scholar](#)
13. E. Cordero et al., "**Evaluation of shifted excitation Raman difference spectroscopy and comparison to computational background correction methods applied to biochemical Raman spectra**," *Sensors*, 17 (8), 1724 (2017). <https://doi.org/10.3390/s17081724> SNSRES 0746-9462 [Google Scholar](#)
14. D. Wei, S. Chen and Q. Liu, "**Review of fluorescence suppression techniques in Raman spectroscopy**," *Appl. Spectrosc. Rev.*, 50 387–406 (2015). <https://doi.org/10.1080/05704928.2014.999936> APSRBB 0570-4928 [Google Scholar](#)
15. T. Rojalin et al., "**Fluorescence-suppressed time-resolved Raman spectroscopy of pharmaceuticals using complementary metal-oxide semiconductor (CMOS) single-photon avalanche diode (SPAD) detector**," *Anal. Bioanal. Chem.*, 408 (3), 761–774 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9156-6> ABCNBP 1618-2642 [Google Scholar](#)
16. E. Canetta et al., "**Modulated Raman spectroscopy for enhanced identification of bladder tumor cells in urine samples**," *J. Biomed. Opt.*, 16 (3), 037002 (2011). <https://doi.org/10.1117/1.3556722> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
- 17.

- M. T. Gebrekidan et al., “**A shifted-excitation Raman difference spectroscopy (SERDS) evaluation strategy for the efficient isolation of Raman spectra from extreme fluorescence interference**,” *J. Raman Spectrosc.*, 47 (2), 198 –209 (2016). <https://doi.org/10.1002/jrs.4775> JRSPAF 0377-0486 [Google Scholar](#)
- 18.
- K. Christian et al., “**Raman difference spectroscopy: a non-invasive method for identification of oral squamous cell carcinoma**,” *Biomed. Opt. Express*, 5 (9), 3252 –3265 (2014). <https://doi.org/10.1364/BOE.5.003252> BOEICL 2156-7085 [Google Scholar](#)
- 19.
- R. Gautam et al., “**Review of multidimensional data processing approaches for Raman and infrared spectroscopy**,” *EPJ Tech. Instrum.*, 2 (1), 8 (2015). <https://doi.org/10.1140/epjti/s40485-015-0018-6> [Google Scholar](#)
- 20.
- T. W. Bocklitz et al., “**A comprehensive study of classification methods for medical diagnosis**,” *J. Raman Spectrosc.*, 40 (12), 1759 –1765 (2009). <https://doi.org/10.1002/jrs.2529> JRSPAF 0377-0486 [Google Scholar](#)
- 21.
- T. W. Bocklitz et al., “**How to pre-process Raman spectra for reliable and stable models?**,” *Anal. Chim. Acta*, 704 (1–2), 47 –56 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.06.043> ACACAM 0003-2670 [Google Scholar](#)
- 22.
- C. Krafft et al., “**Developments in spontaneous and coherent Raman scattering microscopic imaging for biomedical applications**,” *Chem. Soc. Rev.*, 45 (7), 1819 –1849 (2016). <https://doi.org/10.1039/c5cs00564g> CSRVBR 0306-0012 [Google Scholar](#)
- 23.
- E. M. Barroso et al., “**Water concentration analysis by Raman spectroscopy to determine the location of the tumor border in oral cancer surgery**,” *Cancer Res.*, 76 (20), 5945 –5953 (2016). <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1227> [Google Scholar](#)
- 24.
- I. P. Santos et al., “**Implementation of a novel low-noise InGaAs detector enabling rapid near-infrared multichannel Raman spectroscopy of pigmented biological samples**,” *J. Raman Spectrosc.*, 46 (7), 652 –660 (2015). <https://doi.org/10.1002/jrs.4714> JRSPAF 0377-0486 [Google Scholar](#)
- 25.
- D. Dussault and P. Hoess, “**Noise performance comparison of ICCD with CCD and EMCCD cameras**,” *Proc. SPIE*, 5563 195 (2004). <https://doi.org/10.1117/12.561839> PSISDG 0277-786X [Google Scholar](#)
- 26.
- J. Zhao et al., “**Integrated real-time Raman system for clinical in vivo skin analysis**,” *Ski. Res. Technol. Off. J. Int. Soc. Bioeng. Ski. [and] Int. Soc. Digit. Imaging Ski. [and] Int. Soc. Ski. Imaging*, 14 (4), 484 –492 (2008). <https://doi.org/10.1111/j.1600-0846.2008.00321.x> [Google Scholar](#)
- 27.
- J. Qi, K. L. Bechtel and W.-C. Shih, “**Automated image curvature assessment and correction for high-throughput Raman spectroscopy and microscopy**,” *Biomed. Spectrosc. Imaging*, 3 (4), 359 –368 (2014). <https://doi.org/10.3233/BSI-140092> [Google Scholar](#)
- 28.
- Z. Huang et al., “**Rapid near-infrared Raman spectroscopy system for real-time in vivo skin measurements**,” *Opt. Lett.*, 26 (22), 1782 –1784 (2001). <https://doi.org/10.1364/OL.26.001782> OPLEDP 0146-9592 [Google Scholar](#)
- 29.
- Y. Komachi et al., “**Raman probe using a single hollow waveguide**,” *Opt. Lett.*, 30 (21), 2942 –2944 (2005). <https://doi.org/10.1364/OL.30.002942> OPLEDP 0146-9592 [Google Scholar](#)
- 30.
- S. O. Konorov et al., “**Hollow-core photonic crystal fiber-optic probes for Raman spectroscopy**,” *Opt. Lett.*, 31 (12), 1911 –1913 (2006). <https://doi.org/10.1364/OL.31.001911> OPLEDP 0146-9592 [Google Scholar](#)
- 31.

- K. M. Tan et al., "**Near-infrared Raman spectroscopy using hollow-core photonic bandgap fibers**," *Opt. Commun.*, 283 (16), 3204–3206 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2010.04.037> OPCOB8 0030-4018 [Google Scholar](#)
- 32.
- S. Dochow et al., "**Multicore fiber with integrated fiber Bragg gratings for background-free Raman sensing**," *Opt. Express*, 20 (18), 20156–20169 (2012). <https://doi.org/10.1364/OE.20.020156> OPEXFF 1094-4087 [Google Scholar](#)
- 33.
- I. Latka et al., "**Fiber optic probes for linear and nonlinear Raman applications—current trends and future development**," *Laser Photonics Rev.*, 7 (5), 698–731 (2013). <https://doi.org/10.1002/lpor.201200049> [Google Scholar](#)
- 34.
- U. Utzinger and R. R. Richards-Kortum, "**Fiber optic probes for biomedical optical spectroscopy**," *J. Biomed. Opt.*, 8 (1), 121–147 (2003). <https://doi.org/10.1117/1.1528207> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
- 35.
- L. M. Almond et al., "**Assessment of a custom-built Raman spectroscopic probe for diagnosis of early oesophageal neoplasia**," *J. Biomed. Opt.*, 17 (8), 081421 (2012). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.8.081421> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
- 36.
- J. C. C. Day et al., "**A miniature confocal Raman probe for endoscopic use**," *Phys. Med. Biol.*, 54 (23), 7077–7087 (2009). <https://doi.org/10.1088/0031-9155/54/23/003> PHMBA7 0031-9155 [Google Scholar](#)
- 37.
- J. Mo et al., "**High wavenumber Raman spectroscopy for in vivo detection of cervical dysplasia**," *Anal. Chem.*, 81 (21), 8908–8915 (2009). <https://doi.org/10.1021/ac9015159> [Google Scholar](#)
- 38.
- S. Duraipandian et al., "**Simultaneous fingerprint and high-wavenumber confocal Raman spectroscopy enhances early detection of cervical precancer in vivo**," *Anal. Chem.*, 84 5913–5919 (2012). <https://doi.org/10.1021/ac300394f> ANCHAM 0003-2700 [Google Scholar](#)
- 39.
- S. Duraipandian et al., "**In vivo diagnosis of cervical precancer using Raman spectroscopy and genetic algorithm techniques**," *Analyst*, 136 (20), 4328 (2011). <https://doi.org/10.1039/c1an15296c> ANLYAG 0365-4885 [Google Scholar](#)
- 40.
- M. S. Bergholt, W. Zheng and Z. Huang, "**Characterizing variability in in vivo Raman spectroscopic properties of different anatomical sites of normal tissue in the oral cavity**," *J. Raman Spectrosc.*, 43 (2), 255–262 (2012). <https://doi.org/10.1002/jrs.3026> JRSPAF 0377-0486 [Google Scholar](#)
- 41.
- J. Mo, W. Zheng and Z. Huang, "**Fiber-optic Raman probe couples ball lens for depth-selected Raman measurements of epithelial tissue**," *Biomed. Opt. Express*, 1 (1), 17–30 (2010). <https://doi.org/10.1364/BOE.1.000017> BOEICL 2156-7085 [Google Scholar](#)
- 42.
- J. Wang et al., "**Development of a beveled fiber-optic confocal Raman probe for enhancing in vivo epithelial tissue Raman measurements at endoscopy**," *Opt. Lett.*, 38 (13), 2321–2323 (2013). <https://doi.org/10.1364/OL.38.002321> OPLEDP 0146-9592 [Google Scholar](#)
- 43.
- Z. Huang et al., "**Integrated Raman spectroscopy and trimodal wide-field imaging techniques for real-time in vivo tissue Raman measurements at endoscopy**," *Opt. Lett.*, 34 (6), 758–760 (2009). <https://doi.org/10.1364/OL.34.000758> OPLEDP 0146-9592 [Google Scholar](#)
- 44.
- J. Wang et al., "**Comparative study of the endoscope-based bevelled and volume fiber-optic Raman probes for optical diagnosis of gastric dysplasia in vivo at endoscopy**," *Anal. Bioanal. Chem.*, 407 (27), 8303–8310 (2015). <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8727-x> ABCNBP 1618-2642 [Google Scholar](#)
- 45.

- M. S. Bergholt et al., "**Fiberoptic confocal Raman spectroscopy for real-time in vivo diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus**," *Gastroenterology*, 146 (1), 27–32 (2014). <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.11.002> GASTAB 0016-5085 [Google Scholar](#)
- 46.
- S. Duraipandian et al., "**Real-time Raman spectroscopy for in vivo, online gastric cancer diagnosis during clinical endoscopic examination**," *J. Biomed. Opt.*, 17 (8), 081418 (2012). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.JBOPFO.1083-3668> [Google Scholar](#)
- 47.
- J. Wang et al., "**Fiber-optic Raman spectroscopy for in vivo diagnosis of gastric dysplasia**," *Faraday Discuss.*, 187 377–392 (2016). <https://doi.org/10.1039/C5FD00151J> [Google Scholar](#)
- 48.
- K. Lin et al., "**Real-time in vivo diagnosis of nasopharyngeal carcinoma using rapid fiber-optic Raman spectroscopy**," *Theranostics*, 7 (14), 3517–3526 (2017). <https://doi.org/10.7150/thno.16359> [Google Scholar](#)
- 49.
- J. T. Motz et al., "**Real-time Raman system for in vivo disease diagnosis**," *J. Biomed. Opt.*, 10 (3), 031113 (2007). <https://doi.org/10.1117/1.1920247> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
- 50.
- J. T. Motz et al., "**Optical fiber probe for biomedical Raman spectroscopy**," *Appl. Opt.*, 43 (3), 542–554 (2004). <https://doi.org/10.1364/AO.43.000542> APOPAI 0003-6935 [Google Scholar](#)
- 51.
- A. S. Haka et al., "**In vivo margin assessment during partial mastectomy breast surgery using Raman spectroscopy**," *Cancer Res.*, 66 (6), 3317–3322 (2006). <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2815> [Google Scholar](#)
- 52.
- L. Lim et al., "**Clinical study of noninvasive in vivo melanoma and nonmelanoma skin cancers using multimodal spectral diagnosis**," *J. Biomed. Opt.*, 19 (11), 117003 (2014). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.11.117003> [Google Scholar](#)
- 53.
- R. Shaikh et al., "**In vivo Raman spectroscopy of human uterine cervix: exploring the utility of vagina as an internal control**," *J. Biomed. Opt.*, 19 (8), 087001 (2014). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.8.087001> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
- 54.
- A. Malik et al., "**In vivo Raman spectroscopy-assisted early identification of potential second primary/recurrences in oral cancers: an exploratory study**," *Head Neck*, 39 (11), 2216–2223 (2017). <https://doi.org/10.1002/hed.24884> [Google Scholar](#)
- 55.
- M. A. Short et al., "**Development and preliminary results of an endoscopic Raman probe for potential in vivo diagnosis of lung cancers**," *Opt. Lett.*, 33 (7), 711–713 (2008). <https://doi.org/10.1364/OL.33.000711> OPLEDP 0146-9592 [Google Scholar](#)
- 56.
- H. C. McGregor et al., "**Real-time endoscopic Raman spectroscopy for in vivo early lung cancer detection**," *J. Biophotonics*, 13 (1), 98–110 (2016). <https://doi.org/10.1002/jbio.201500204> [Google Scholar](#)
- 57.
- M. A. Short et al., "**Development and in vivo testing of a high frequency endoscopic Raman spectroscopy system for potential applications in the detection of early colonic neoplasia**," *J. Biophotonics*, 9 (1–2), 44–48 (2016). <https://doi.org/10.1002/jbio.201500205> [Google Scholar](#)
- 58.
- M. Agenant et al., "**Clinical superficial Raman probe aimed for epithelial tumor detection: phantom model results**," *Biomed. Opt. Express*, 5 (4), 1203 (2014). <https://doi.org/10.1364/BOE.5.001203> BOEICL 2156-7085 [Google Scholar](#)
- 59.
- R. O. P. Draga et al., "**In vivo bladder cancer diagnosis by high-volume Raman spectroscopy**," *Anal. Chem.*, 82 (14), 5993–5999 (2010). <https://doi.org/10.1021/ac100448p> ANCHAM 0003-2700 [Google Scholar](#)
- 60.
- "**EmVision Advanced Optical Designs**," [Google Scholar](#)

61. H. Ding et al., "***In vivo analysis of mucosal lipids reveals histological disease activity in ulcerative colitis using endoscope-coupled Raman spectroscopy***," Biomed. Opt. Express, 8 (7), 3426 –3439 (2017). <https://doi.org/10.1364/BOE.8.003426> BOEICL 2156-7085 [Google Scholar](#)
62. M. Jermyn et al., "***Raman spectroscopy detects distant invasive brain cancer cells centimeters beyond MRI capability in humans***," Biomed. Opt. Express, 7 (12), 5129 –5137 (2016). <https://doi.org/10.1364/BOE.7.005129> BOEICL 2156-7085 [Google Scholar](#)
63. J. Desroches et al., "***Characterization of a Raman spectroscopy probe system for intraoperative brain tissue classification***," Biomed. Opt. Express, 6 (7), 2380 (2015). <https://doi.org/10.1364/BOE.6.002380> BOEICL 2156-7085 [Google Scholar](#)
64. M. Jermyn et al., "***Intraoperative brain cancer detection with Raman spectroscopy in humans***," Sci. Transl. Med., 7 (274), 274ra19 (2015). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa2384> STMCBQ 1946-6234 [Google Scholar](#)
65. C. M. O'Brien et al., "***Characterization of human cervical remodeling throughout pregnancy using in vivo Raman spectroscopy***," J. Biomed. Opt., 1 (1), 93032F (2015). <https://doi.org/10.1117/12.2077775> [Google Scholar](#)
66. I. J. Pence et al., "***Clinical characterization of in vivo inflammatory bowel disease with Raman spectroscopy***," Biomed. Opt. Express, 8 (2), 524 –535 (2017). <https://doi.org/10.1364/BOE.8.000524> [Google Scholar](#)
67. J. Q. Nguyen et al., "***Intraoperative Raman spectroscopy of soft tissue sarcomas***," Lasers Surg. Med., 48 (8), 774 –781 (2016). <https://doi.org/10.1002/lsm.22564> LSMEDI 0196-8092 [Google Scholar](#)
68. H. Lui et al., "***Real-time Raman spectroscopy for in vivo skin cancer diagnosis***," Cancer Res., 72 (10), 2491 –2500 (2012). <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-4061> [Google Scholar](#)
69. W. Wang et al., "***Real-time in vivo cancer diagnosis using Raman spectroscopy: real-time in vivo cancer diagnosis using Raman spectroscopy***," J. Biophotonics, 8 (7), 527 –545 (2015). <https://doi.org/10.1002/jbio.201400026> [Google Scholar](#)
70. C. Fink and H. Haenssle, "***Non-invasive tools for the diagnosis of cutaneous melanoma***," Ski. Res. Technol., 23 (3), 261 –271 (2017). <https://doi.org/10.1111/srt.12350> [Google Scholar](#)
71. C. A. Lieber et al., "***In vivo nonmelanoma skin cancer diagnosis using Raman microspectroscopy***," Lasers Surg. Med., 40 (7), 461 –467 (2008). <https://doi.org/10.1002/lsm.20653> LSMEDI 0196-8092 [Google Scholar](#)
72. C. A. Lieber and A. Mahadevan-Jansen, "***Development of a handheld Raman microspectrometer for clinical dermatologic applications***," Opt. Express, 15 (19), 11874 –11882 (2007). <https://doi.org/10.1364/OE.15.011874> OPEXFF 1094-4087 [Google Scholar](#)
73. J. Schleusener et al., "***In vivo study for the discrimination of cancerous and normal skin using fibre probe-based Raman spectroscopy***," Exp. Dermatol., 24 (10), 767 –772 (2015). <https://doi.org/10.1111/exd.12768> EXDEEY 0906-6705 [Google Scholar](#)
74. E. Y. M. Bonnist et al., "***Understanding the dandruff scalp before and after treatment: an in vivo Raman spectroscopic study***," Int. J. Cosmet. Sci., 36 (4), 347 –354 (2014). <https://doi.org/10.1111/ics.12132> IJCMDW 0142-5463 [Google Scholar](#)
- 75.

- J. Lademann et al., "***In vivo Raman spectroscopy detects increased epidermal antioxidative potential with topically applied carotenoids***," *Laser Phys. Lett.*, 6 (1), 76–79 (2009). <https://doi.org/10.1002/lapl.200810092> [Google Scholar](#)
- 76.
- J. W. Fluhr et al., "***Infant epidermal skin physiology: adaptation after birth***," *Br. J. Dermatol.*, 166 (3), 483–490 (2012). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10659.x> BJDEAZ 0007-0963 [Google Scholar](#)
- 77.
- C. Choe et al., "***In vivo confocal Raman microscopic determination of depth profiles of the stratum corneum lipid organization influenced by application of various oils***," *J. Dermatol. Sci.*, 87 (2), 183–191 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2017.04.016> JDSCEI 0923-1811 [Google Scholar](#)
- 78.
- M. B. Lopes et al., "***In vivo confocal Raman spectroscopic analysis of the effects of infrared radiation in the human skin dermis***," *Photochem. Photobiol.*, 93 (2), 613–618 (2017). <https://doi.org/10.1111/php.12701> PHCBAP 0031-8655 [Google Scholar](#)
- 79.
- C. Kendall et al., "***Evaluation of Raman probe for oesophageal cancer diagnostics***," *Analyst*, 135 (12), 3038 (2010). <https://doi.org/10.1039/c0an00536c> ANLYAG 0365-4885 [Google Scholar](#)
- 80.
- L. M. Almond et al., "***Endoscopic Raman spectroscopy enables objective diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus***," *Gastrointest. Endosc.*, 79 (1), 37–45 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.gie.2013.05.028> [Google Scholar](#)
- 81.
- M. A. Short et al., "***Using high frequency Raman spectra for colonic neoplasia detection***," *Opt. Express*, 21 (4), 5025–5034 (2013). <https://doi.org/10.1364/OE.21.005025> OPEXFF 1094-4087 [Google Scholar](#)
- 82.
- K. Lin, D. L. P. Cheng and Z. Huang, "***Optical diagnosis of laryngeal cancer using high wavenumber Raman spectroscopy***," *Biosens. Bioelectron.*, 35 (1), 213–217 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.02.050> BBIOE4 0956-5663 [Google Scholar](#)
- 83.
- S. Koljenović et al., "***Tissue characterization using high wave number Raman spectroscopy***," *J. Biomed. Opt.*, 10 (3), 031116 (2005). <https://doi.org/10.1117/1.1922307> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
- 84.
- P. Matousek et al., "***Subsurface probing in diffusely scattering media using spatially offset Raman spectroscopy***," *Appl. Spectrosc.*, 59 (4), 393–400 (2005). <https://doi.org/10.1366/0003702053641450> APSPA4 0003-7028 [Google Scholar](#)
- 85.
- P. Matousek et al., "***Numerical simulations of subsurface probing in diffusely scattering media using spatially offset Raman spectroscopy***," *Appl. Spectrosc.*, 59 (12), 1485–1492 (2005). <https://doi.org/10.1366/000370205775142548> APSPA4 0003-7028 [Google Scholar](#)
- 86.
- J. R. Maher and A. J. Berger, "***Determination of ideal offset for spatially offset Raman spectroscopy***," *Appl. Spectrosc.*, 64 (1), 61–65 (2010). <https://doi.org/10.1366/000370210790571936> APSPA4 0003-7028 [Google Scholar](#)
- 87.
- "***Spatially offset Raman spectroscopy (SORS)***," [Google Scholar](#)
- 88.
- P. Matousek et al., "***Noninvasive Raman spectroscopy of human tissue in vivo***," *Appl. Spectrosc.*, 60 (7), 758–763 (2006). <https://doi.org/10.1366/000370206777886955> APSPA4 0003-7028 [Google Scholar](#)
- 89.
- K. Sowoidnich et al., "***Spatially offset Raman spectroscopy for photon migration studies in bones with different mineralization levels***," *Analyst*, 142 (17), 3219–3226 (2017). <https://doi.org/10.1039/c7an00408g> ANLYAG 0365-4885 [Google Scholar](#)
- 90.

- K. Buckley et al., "**Towards the in vivo prediction of fragility fractures with Raman spectroscopy**," J. Raman Spectrosc., 46 (7), 610 –618 (2015). <https://doi.org/10.1002/jrs.4706> JRSPAF 0377-0486 [Google Scholar](#)
- 91.
- K. Buckley et al., "**Decomposition of in vivo spatially offset Raman spectroscopy data using multivariate analysis techniques**," J. Raman Spectrosc., 45 (2), 188 –192 (2014). <https://doi.org/10.1002/jrs.4434> JRSPAF 0377-0486 [Google Scholar](#)
- 92.
- K. Buckley et al., "**Measurement of abnormal bone composition in vivo using noninvasive Raman spectroscopy**," IBMS Bonekey, 11 602 (2014). <https://doi.org/10.1038/bonekey.2014.97> [Google Scholar](#)
- 93.
- M. D. Keller, S. K. Majumder and A. Mahadevan-Jansen, "**Spatially offset Raman spectroscopy of layered soft tissues**," Opt. Lett., 34 (7), 926 –928 (2009). <https://doi.org/10.1364/OL.34.000926> OPLEDP 0146-9592 [Google Scholar](#)
- 94.
- M. D. Keller et al., "**Development of a spatially offset Raman spectroscopy probe for breast tumor surgical margin evaluation**," J. Biomed. Opt., 16 (7), 077006 (2011). <https://doi.org/10.1117/1.3600708> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
- 95.
- M. D. Keller et al., "**Monte Carlo model of spatially offset Raman spectroscopy for breast tumor margin analysis**," Appl. Spectrosc., 64 (6), 607 –614 (2010). <https://doi.org/10.1366/000370210791414407> APSPA4 0003-7028 [Google Scholar](#)
- 96.
- G. Feng et al., "**Sensitivity of spatially offset Raman spectroscopy (SORS) to subcortical bone tissue**," J. Biophotonics, 10 (8), 990 –996 (2017). <https://doi.org/10.1002/jbio.201600317> [Google Scholar](#)
- 97.
- S. V. K. Sekar et al., "**Frequency offset Raman spectroscopy (FORS) for subsurface probing of diffusive medium**," Opt. Express, 25 889 –896 (2017). <https://doi.org/10.1364/OE.25.004585> OPEXFF 1094-4087 [Google Scholar](#)
- 98.
- S. Konugolu Venkata Sekar et al., "**Time domain diffuse Raman spectrometer based on novel TCSPC camera for depth analysis of diffusive media**," Opt. Lett., 43 2134 –2137 (2018). <https://doi.org/10.1364/OL.43.002134> [Google Scholar](#)
- 99.
- C. A. Patil et al., "**Combined Raman spectroscopy and optical coherence tomography device for tissue characterization**," Opt. Lett., 33 (10), 1135 –1137 (2008). <https://doi.org/10.1364/OL.33.001135> OPLEDP 0146-9592 [Google Scholar](#)
- 100.
- C. A. Patil et al., "**Integrated system for combined Raman spectroscopy-spectral domain optical coherence tomography**," J. Biomed. Opt., 16 (1), 011007 (2011). <https://doi.org/10.1117/1.3520132> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
- 101.
- C. A. Patil et al., "**A clinical instrument for combined Raman spectroscopy-optical coherence tomography of skin cancers**," Lasers Surg. Med., 2 143 –151 (2011). <https://doi.org/10.1002/lsm.21041> LSMEDI 0196-8092 [Google Scholar](#)
- 102.
- J. Wang et al., "**Development of a hybrid Raman spectroscopy and optical coherence tomography technique for real-time in vivo tissue measurements**," Opt. Lett., 41 (13), 3045 –3048 (2016). <https://doi.org/10.1364/OL.41.003045> OPLEDP 0146-9592 [Google Scholar](#)
- 103.
- J. Wang et al., "**Characterizing biochemical and morphological variations of clinically relevant anatomical locations of oral tissue in vivo with hybrid Raman spectroscopy and optical coherence tomography technique**," J. Biophotonics, 11 e201700113 (2017). <https://doi.org/10.1002/jbio.201700113> [Google Scholar](#)
- 104.

105. M. Chen et al., "**Depth-resolved multimodal imaging: wavelength modulated spatially offset Raman spectroscopy with optical coherence tomography**," J. Biophotonics, (2017). <https://doi.org/10.1002/jbio.201700129> [Google Scholar](#)
106. A. C. De Luca et al., "**Online fluorescence suppression in modulated Raman spectroscopy**," Anal. Chem., 82 (2), 738 –745 (2010). <https://doi.org/10.1021/ac9026737> ANCHAM 0003-2700 [Google Scholar](#)
107. M. Mazurenka et al., "**Development of a combined OCT-Raman probe for the prospective in vivo clinical melanoma skin cancer screening**," Rev. Sci. Instrum., 88 (10), 105103 (2017). <https://doi.org/10.1063/1.5004999> RSINAK 0034-6748 [Google Scholar](#)
108. O. R. Šćepanović et al., "**A multimodal spectroscopy system for real-time disease diagnosis**," Rev. Sci. Instrum., 80 (4), 43103 (2009). <https://doi.org/10.1063/1.3117832> RSINAK 0034-6748 [Google Scholar](#)
109. O. R. Šćepanović et al., "**Multimodal spectroscopy detects features of vulnerable atherosclerotic plaque**," J. Biomed. Opt., 16 (1), 011009 (2011). <https://doi.org/10.1117/1.3525287> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
110. M. Jermyn et al., "**Highly accurate detection of cancer in situ with intraoperative, label-free, multimodal optical spectroscopy**," Cancer Res., 77 (14), 1 –10 (2017). <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-0668> [Google Scholar](#)
111. S. Dochow et al., "**Combined fiber probe for fluorescence lifetime and Raman spectroscopy**," Anal. Bioanal. Chem., 407 (27), 8291 –8301 (2015). <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8800-5> ABCNBP 1618-2642 [Google Scholar](#)
112. M. Sharma et al., "**Design and characterization of a novel multimodal fiber-optic probe and spectroscopy system for skin cancer applications**," Rev. Sci. Instrum., 85 (8), 83101 (2014). <https://doi.org/10.1063/1.4890199> RSINAK 0034-6748 [Google Scholar](#)
113. C. Matthäus et al., "**Detection and characterization of early plaque formations by Raman probe spectroscopy and optical coherence tomography: an in vivo study on a rabbit model**," J. Biomed. Opt., 23 (1), 015004 (2018). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.1.015004> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
114. L. A. Reisner et al., "**A prototype biosensor-integrated image-guided surgery system**," Int. J. Med. Robot. Comput. Assist. Surg., 3 (1), 82 –88 (2007). <https://doi.org/10.1002/rcs.123> [Google Scholar](#)
115. "**Araknes The BioRobotics Institute**," [Google Scholar](#)
116. P. C. Ashok et al., "**A Raman spectroscopy bio-sensor for tissue discrimination in surgical robotics**," J. Biophotonics, 7 (1–2), 103 –109 (2014). <https://doi.org/10.1002/jbio.201300034> [Google Scholar](#)
117. M. S. Bergholt et al., "**In vivo, real-time, transnasal, image-guided Raman endoscopy: defining spectral properties in the nasopharynx and larynx**," J. Biomed. Opt., 17 (7), 077002 (2012). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.7.077002> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
118. J. Schleusener et al., "**Design and technical evaluation of fibre-coupled Raman probes for the image-guided discrimination of cancerous skin**," Meas. Sci. Technol., 25 (3), 35701 (2014). <https://doi.org/10.1088/0957-0233/25/3/035701> MSTCEP 0957-0233 [Google Scholar](#)
119. M. S. Bergholt et al., "**Characterizing variability in in vivo Raman spectra of different anatomical locations in the upper gastrointestinal tract toward cancer detection**," J. Biomed. Opt., 16 (3), 037003 (2011). <https://doi.org/10.1117/1.3556723> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)

119.
M. S. Bergholt et al., "***In vivo diagnosis of gastric cancer using Raman endoscopy and ant colony optimization techniques***," *Int. J. Cancer*, 128 (11), 2673 –2680 (2011). <https://doi.org/10.1002/ijc.25618> IJCNAW 1097-0215 [Google Scholar](#)
120.
M. S. Bergholt et al., "***Fiber-optic Raman spectroscopy probes gastric carcinogenesis in vivo at endoscopy***," *J. Biophotonics*, 6 (1), 49 –59 (2013). <https://doi.org/10.1002/jbio.201200138> [Google Scholar](#)
121.
M. S. Bergholt et al., "***Combining near-infrared-excited autofluorescence and Raman spectroscopy improves in vivo diagnosis of gastric cancer***," *Biosens. Bioelectron.*, 26 (10), 4104 –4110 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.04.005> BBIOE4 0956-5663 [Google Scholar](#)
122.
W. Wang et al., "***Disposable sheath that facilitates endoscopic Raman spectroscopy***," *J. Biomed. Opt.*, 21 (2), 025001 (2016). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.2.025001> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
123.
I. J. Pence, E. Vargis and A. Mahadevan-Jansen, "***Assessing variability of in vivo tissue Raman spectra***," *Appl. Spectrosc.*, 67 (7), 789 –800 (2013). <https://doi.org/10.1366/12-06773> APSPA4 0003-7028 [Google Scholar](#)
124.
J. Desroches et al., "***Raman spectroscopy in microsurgery: impact of operating microscope illumination sources on data quality and tissue classification***," *Analyst*, 142 1185 –1191 (2017). <https://doi.org/10.1039/C6AN02061E> ANLYAG 0365-4885 [Google Scholar](#)
125.
P. I. Okagbare and M. D. Morris, "***Polymer-capped fiber-optic Raman probe for non-invasive Raman spectroscopy***," *Analyst*, 137 (1), 77 –81 (2012). <https://doi.org/10.1039/c1an15847c> ANLYAG 0365-4885 [Google Scholar](#)
126.
M. S. Bergholt et al., "***Multivariate reference technique for quantitative analysis of fiber-optic tissue Raman spectroscopy***," *Anal. Chem.*, 85 (23), 11297 –11303 (2013). <https://doi.org/10.1021/ac402059v> ANCHAM 0003-2700 [Google Scholar](#)
127.
"***WHO Global atlas on cardiovascular disease prevention and control***," [Google Scholar](#)
128.
P. R. Moreno, B. Marshik, J. E. Muller, "***Near-infrared s pectroscopy***," *The Vulnerable Atherosclerotic Plaque*, 257 –262 Blackwell Publishing, Oxford, United Kingdom (2006). [Google Scholar](#)
129.
M. Naghavi et al., "***From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: part II***," *Circulation*, 108 (15), 1772 –1778 (2003). <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000087481.55887.C9> CIRCAZ 0009-7322 [Google Scholar](#)
130.
C. V. Bourantas et al., "***Hybrid intravascular imaging: recent advances, technical considerations, and current applications in the study of plaque pathophysiology***," *Eur. Heart J.*, 38 (6), 400 –412 (2017). <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw097> CECED9 [Google Scholar](#)
131.
H. P. J. Buschman et al., "***In vivo determination of the molecular composition of artery wall by intravascular Raman spectroscopy***," *Anal. Chem.*, 72 (16), 3771 –3775 (2000). <https://doi.org/10.1021/ac000298b> ANCHAM 0003-2700 [Google Scholar](#)
132.
J. T. Motz et al., "***In vivo Raman spectral pathology of human atherosclerosis and vulnerable plaque***," *J. Biomed. Opt.*, 11 (2), 021003 (2006). <https://doi.org/10.1117/1.2190967> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
- 133.

- O. R. Sćepanović et al., "**Detection of morphological markers of vulnerable atherosclerotic plaque using multimodal spectroscopy**," J. Biomed. Opt., 11 (2), 021007 (2006). <https://doi.org/10.1117/1.2187943> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
134.
- C. Matthäus et al., "**In vivo characterization of atherosclerotic plaque depositions by Raman-probe spectroscopy and in vitro coherent anti-stokes Raman scattering microscopic imaging on a rabbit model**," Anal. Chem., 84 (18), 7845–7851 (2012). <https://doi.org/10.1021/ac301522d> [Google Scholar](#)
135.
- S. Dochow et al., "**Comparing Raman and fluorescence lifetime spectroscopy from human atherosclerotic lesions using a bimodal probe**," J. Biophotonics, 9 (9), 958–966 (2016). <https://doi.org/10.1002/jbio.201500341> [Google Scholar](#)
136.
- R. McQueenie et al., "**Detection of inflammation in vivo by surface-enhanced Raman scattering provides higher sensitivity than conventional fluorescence imaging**," Anal. Chem., 84 (14), 5968–5975 (2012). <https://doi.org/10.1021/ac3006445> ANCHAM 0003-2700 [Google Scholar](#)
137.
- A. Sahu et al., "**Serum based diagnosis of asthma using Raman spectroscopy: an early phase pilot study**," PLoS One, 8 (11), e78921 (2013). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078921> POLNCL 1932-6203 [Google Scholar](#)
138.
- H. Nawaz et al., "**Prediction of viral loads for diagnosis of hepatitis C infection in human plasma samples using Raman spectroscopy coupled with partial least squares regression analysis**," J. Raman Spectrosc., 48 (5), 697–704 (2017). <https://doi.org/10.1002/jrs.5108> JRSPAF 0377-0486 [Google Scholar](#)
139.
- G. E. Tontini et al., "**Differential diagnosis in inflammatory bowel disease colitis: state of the art and future perspectives**," World J. Gastroenterol., 21 (1), 21–46 (2015). <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i1.21> [Google Scholar](#)
140.
- X. Bi et al., "**Development of spectral markers for the discrimination of ulcerative colitis and Crohn's disease using Raman spectroscopy**," Dis. Colon Rectum, 54 (1), 48–53 (2011). <https://doi.org/10.1007/DCR.0b013e3181fcf68d> [Google Scholar](#)
141.
- I. J. Pence et al., "**Endoscopy-coupled Raman spectroscopy for in vivo discrimination of inflammatory bowel disease**," Proc. SPIE, 8939 89390R (2014). <https://doi.org/10.1117/12.2042795> PSISDG 0277-786X [Google Scholar](#)
142.
- B. Krishnapuram et al., "**Sparse multinomial logistic regression: fast algorithms and generalization bounds**," IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell., 27 (6), 957–968 (2005). <https://doi.org/10.1109/TPAMI.2005.127> ITPIDJ 0162-8828 [Google Scholar](#)
143.
- R. L. Siegel, K. D. Miller and A. Jemal, "**Cancer statistics, 2017**," CA. Cancer J. Clin., 67 (1), 7–30 (2017). <https://doi.org/10.3322/caac.21387> CAMCAM 0007-9235 [Google Scholar](#)
144.
- F. Islami, L. A. Torre and A. Jemal, "**Global trends of lung cancer mortality and smoking prevalence**," Transl. Lung Cancer Res., 4 (4), 327–338 (2015). <https://doi.org/10.3978/j.issn.2218-6751.2015.08.04> [Google Scholar](#)
145.
- "**Screening by chest radiograph and lung cancer mortality: the prostate, lung, colorectal, and ovarian (PLCO) randomized trial**," JAMA, 306 (17), 1865–1873 (2011). <https://doi.org/10.1001/jama.2011.1591> JAMAAP 0098-7484 [Google Scholar](#)
146.
- D. Sharma, T. G. Newman and W. S. Aronow, "**Lung cancer screening: history, current perspectives, and future directions**," Arch. Med. Sci. AMS, 11 (5), 1033–1043 (2015). <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.54859> [Google Scholar](#)
147.

148. P. Zarogoulidis, K. Zarogoulidis and K. Tsakiridis, "**Lung cancer: an update on current and future diagnostic and treatment techniques**," J. Thorac. Dis., 5 (4), S341 (2013). <https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2013.09.14> [Google Scholar](#)
149. N. Ikeda et al., "**Comprehensive diagnostic bronchoscopy of central type early stage lung cancer**," Lung Cancer, 56 (3), 295 –302 (2007). <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.01.009> [Google Scholar](#)
150. M. Andolfi et al., "**The role of bronchoscopy in the diagnosis of early lung cancer: a review**," J. Thoracic Dis., 8 (11), 3329 –3337 (2016). <https://doi.org/10.21037/jtd.2016.11.81> [Google Scholar](#)
151. J. Sun et al., "**The value of autofluorescence bronchoscopy combined with white light bronchoscopy compared with white light alone in the diagnosis of intraepithelial neoplasia and invasive lung cancer: a meta-analysis**," J. Thorac. Oncol., 6 (8), 1336 –1344 (2011). <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318220c984> [Google Scholar](#)
152. N. D. Magee et al., "**Ex vivo diagnosis of lung cancer using a Raman miniprobe**," J. Phys. Chem. B, 113 (23), 8137 –8141 (2009). <https://doi.org/10.1021/jp900379w> [JPCBFK 1520-6106 Google Scholar](#)
153. H. Zeng et al., "**In vivo Raman spectroscopy for early lung cancer detection**," Cancer Res., 71 (2011). <https://doi.org/10.1109/ACP.2010.5682615> [Google Scholar](#)
154. H. C. McGregor et al., "**In vivo real-time endoscopic Raman spectroscopy for improving early lung cancer detection**," in Asia Communications and Photonics Conf. (2015), (2015). <https://doi.org/10.1364/ACPC.2015.AM4A.1> [Google Scholar](#)
155. M. Ghoncheh, Z. Pournamdar and H. Salehiniya, "**Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the World**," Asian Pacific J. Cancer Prev., 17 (Suppl. 3), 43 –46 (2016). <https://doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.S3.43> [Google Scholar](#)
156. D. Roganovic et al., "**Breast MRI, digital mammography and breast tomosynthesis: comparison of three methods for early detection of breast cancer**," Bosn. J. Basic Med. Sci., 15 (4), 64 –68 (2015). <https://doi.org/10.17305/bjbms.2015.616> [Google Scholar](#)
157. A. L. Siu, "**Screening for Breast Cancer: U.S. preventive services task force recommendation statement**," Ann. Intern. Med., 164 (4), 279 (2016). <https://doi.org/10.7326/M15-2886> [AIMEAS 0003-4819 Google Scholar](#)
158. B. Brożek-Płuska et al., "**Breast cancer diagnostics by Raman spectroscopy**," J. Mol. Liq., 141 (3), 145 –148 (2008). <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2008.02.015> [JMLIDT 0167-7322 Google Scholar](#)
159. H. Abramczyk et al., "**The label-free Raman imaging of human breast cancer**," J. Mol. Liq., 164 (1–2), 123 –131 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2011.04.021> [JMLIDT 0167-7322 Google Scholar](#)
160. H. Abramczyk et al., "**Raman 'optical biopsy' of human breast cancer**," Prog. Biophys. Mol. Biol., 108 (1–2), 74 –81 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2011.10.004> [PBIMAC 0079-6107 Google Scholar](#)
161. A. Saha et al., "**Raman spectroscopy: a real-time tool for identifying microcalcifications during stereotactic breast core needle biopsies**," Biomed. Opt. Express, 2 (10), 2792 (2011). <https://doi.org/10.1364/BOE.2.002792> [BOEICL 2156-7085 Google Scholar](#)
162. K. E. Shafer-Peltier et al., "**Raman microspectroscopic model of human breast tissue: implications for breast cancer diagnosis in vivo**," J. Raman Spectrosc., 33 (7), 552 –563 (2002). <https://doi.org/10.1002/jrs.877> [JRSPAF 0377-0486 Google Scholar](#)

162.
J. Horsnell, "**The use of Raman spectroscopy for the intra-operative assessment of axillary lymph nodes in breast cancer**," (2012). [Google Scholar](#)
163.
A. S. Haka et al., "**Diagnosing breast cancer using Raman spectroscopy: prospective analysis**," J. Biomed. Opt., 14 (5), 054023 (2009). <https://doi.org/10.1117/1.3247154> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
164.
Q. Li, Q. Gao and G. Zhang, "**Classification for breast cancer diagnosis with Raman spectroscopy**," Biomed. Opt. Express, 5 (7), 2435 (2014). <https://doi.org/10.1364/BOE.5.002435> BOEICL 2156-7085 [Google Scholar](#)
165.
F. Bray et al., "**Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008**," Int. J. Cancer, 132 (5), 1133 –1145 (2013). <https://doi.org/10.1002/ijc.27711> IJCNW 1097-0215 [Google Scholar](#)
166.
D. Forman et al., Cancer Incidence in Five Continents, (2014). [Google Scholar](#)
167.
G. K. Malhotra et al., "**Global trends in esophageal cancer**," J. Surg. Oncol., 115 (5), 564 –579 (2017). <https://doi.org/10.1002/jso.24592> JSONAU 0022-4790 [Google Scholar](#)
168.
S. K. Teh et al., "**Diagnosis of gastric cancer using near-infrared Raman spectroscopy and classification and regression tree techniques**," J. Biomed. Opt., 13 (3), 034013 (2008). <https://doi.org/10.1117/1.2939406> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
169.
Z. Huang et al., "**In vivo early diagnosis of gastric dysplasia using narrow-band image-guided Raman endoscopy**," J. Biomed. Opt., 15 (3), 037017 (2010). <https://doi.org/10.1117/1.3420115> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
170.
S. K. Teh et al., "**Near-infrared Raman spectroscopy for early diagnosis and typing of adenocarcinoma in the stomach**," Br. J. Surg., 97 (4), 550 –557 (2010). <https://doi.org/10.1002/bjs.6913> [Google Scholar](#)
171.
J. Wang et al., "**Simultaneous fingerprint and high-wavenumber fiber-optic Raman spectroscopy improves in vivo diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma at endoscopy**," Sci. Rep., 5 (1), 12957 (2015). <https://doi.org/10.1038/srep12957> SRCEC3 2045-2322 [Google Scholar](#)
172.
K. Lin et al., "**Rapid fiber-optic Raman spectroscopy for real-time in vivo detection of gastric intestinal metaplasia during clinical gastroscopy**," Cancer Prev. Res., 9 (6), 476 –483 (2016). <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-15-0213> [Google Scholar](#)
173.
S. K. Teh et al., "**Diagnostic potential of near-infrared Raman spectroscopy in the stomach: differentiating dysplasia from normal tissue**," Br. J. Cancer, 98 (2), 457 –465 (2008). <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604176> BJCAAI 0007-0920 [Google Scholar](#)
174.
Z. Huang et al., "**In vivo detection of epithelial neoplasia in the stomach using image-guided Raman endoscopy**," Biosens. Bioelectron., 26 (2), 383 –389 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.07.125> BBIOE4 0956-5663 [Google Scholar](#)
175.
M. S. Bergholt et al., "**Raman endoscopy for in vivo differentiation between benign and malignant ulcers in the stomach**," Analyst, 135 (12), 3162 (2010). <https://doi.org/10.1039/c0an00336k> ANLYAG 0365-4885 [Google Scholar](#)
176.
S. K. Teh et al., "**Spectroscopic diagnosis of laryngeal carcinoma using near-infrared Raman spectroscopy and random recursive partitioning ensemble techniques**," Analyst, 134 (6), 1232 –1239 (2009). <https://doi.org/10.1039/b811008e> ANLYAG 0365-4885 [Google Scholar](#)
- 177.

- G. Shetty et al., “**Raman spectroscopy: elucidation of biochemical changes in carcinogenesis of oesophagus**,” Br. J. Cancer, 94 (10), 1460–1464 (2006). <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603102> BJCAAI 0007-0920 [Google Scholar](#)
178.
- A. May et al., “**Accuracy of staging in early oesophageal cancer using high resolution endoscopy and high resolution endosonography: a comparative, prospective, and blinded trial**,” Gut, 53 (5), 634–640 (2004). <https://doi.org/10.1136/gut.2003.029421> GUTTAK 0017-5749 [Google Scholar](#)
179.
- M. S. Bergholt et al., “**Real-time depth-resolved fiber optic Raman endoscopy for in vivo diagnosis of gastric precancer**,” Proc. SPIE, 8939 89390M (2014). <https://doi.org/10.1117/12.2039552> PSISDG 0277-786X [Google Scholar](#)
180.
- M. S. Bergholt et al., “**Characterizing variability of in vivo Raman spectroscopic properties of different anatomical sites of normal colorectal tissue towards cancer diagnosis at colonoscopy**,” Anal. Chem., 87 (2), 960–966 (2015). <https://doi.org/10.1021/ac503287u> ANCHAM 0003-2700 [Google Scholar](#)
181.
- H. Ding et al., “**Effect of physiological factors on the biochemical properties of colon tissue—an in vivo Raman spectroscopy study: physiological factors on the biochemical properties of colon tissue**,” J. Raman Spectrosc., 48 (7), 902–909 (2017). <https://doi.org/10.1002/jrs.5140> JRSPAF 0377-0486 [Google Scholar](#)
182.
- S. Antoni et al., “**Bladder cancer incidence and mortality: a global overview and recent trends**,” in Eur. Urol., 71 (1), 96–108 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.06.010> [Google Scholar](#)
183.
- B. W. D. De Jong et al., “**Raman spectroscopic detection of changes in molecular composition of bladder muscle tissue caused by outlet obstruction**,” Vib. Spectrosc., 32 (1), 57–65 (2003). [https://doi.org/10.1016/S0924-2031\(03\)00047-X](https://doi.org/10.1016/S0924-2031(03)00047-X) [Google Scholar](#)
184.
- B. W. D. De Jong et al., “**Discrimination between nontumor bladder tissue and tumor by Raman spectroscopy**,” Anal. Chem., 78 (22), 7761–7769 (2006). <https://doi.org/10.1021/ac061417b> ANCHAM 0003-2700 [Google Scholar](#)
185.
- I. Barman et al., “**Selective sampling using confocal Raman spectroscopy provides enhanced specificity for urinary bladder cancer diagnosis**,” Anal. Bioanal. Chem., 404 (10), 3091–3099 (2012). <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6424-6> ABCNBP 1618-2642 [Google Scholar](#)
186.
- M. C. M. Grimbergen et al., “**Bladder cancer diagnosis during cystoscopy using Raman spectroscopy**,” Proc. SPIE, 7161 716114 (2009). <https://doi.org/10.1117/12.807811> PSISDG 0277-786X [Google Scholar](#)
187.
- N. Stone et al., “**The use of Raman spectroscopy to provide an estimation of the gross biochemistry associated with urological pathologies**,” Anal. Bioanal. Chem., 387 (5), 1657–1668 (2007). <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0937-9> [Google Scholar](#)
188.
- P. Crow et al., “**Assessment of fiberoptic near-infrared Raman spectroscopy for diagnosis of bladder and prostate cancer**,” Urology, 65 (6), 1126–1130 (2005). <https://doi.org/10.1016/j.urology.2004.12.058> [Google Scholar](#)
189.
- C. R. Leemans, B. J. M. Braakhuis and R. H. Brakenhoff, “**The molecular biology of head and neck cancer**,” Nat. Rev. Cancer, 11 (1), 9 (2011). <https://doi.org/10.1038/nrc2982> NRCAC4 1474-175X [Google Scholar](#)
190.
- G. Carioli et al., “**Global trends in nasopharyngeal cancer mortality since 1970 and predictions for 2020: focus on low-risk areas**,” Int. J. Cancer, 140 (10), 2256–2264 (2017). <https://doi.org/10.1002/ijc.30660> IJCNAW 1097-0215 [Google Scholar](#)

191.
D. P. Lau et al., "**Raman spectroscopy for optical diagnosis in the larynx: preliminary findings**," *Lasers Surg. Med.*, 37 (3), 192–200 (2005). <https://doi.org/10.1002/lsm.20226> LSMEDI 0196-8092 [Google Scholar](#)
192.
H. Chang et al., "**Light-induced autofluorescence spectroscopy for detection of nasopharyngeal carcinoma in vivo**," *Appl. Spectrosc.*, 56 (10), 1361–1367 (2002). <https://doi.org/10.1366/000370202760355343> APSPA4 0003-7028 [Google Scholar](#)
193.
L. T. Perelman, "**Optical diagnostic technology based on light scattering spectroscopy for early cancer detection**," *Expert Rev. Med. Dev.*, 3 (6), 787–803 (2006). <https://doi.org/10.1586/17434440.3.6.787> 1743-4440 [Google Scholar](#)
194.
D. P. Lau et al., "**Raman spectroscopy for optical diagnosis in normal and cancerous tissue of the nasopharynx—preliminary findings**," *Lasers Surg. Med.*, 32 (3), 210–214 (2003). <https://doi.org/10.1002/lsm.10084> LSMEDI 0196-8092 [Google Scholar](#)
195.
S. Devpura et al., "**Diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma using Raman spectroscopy: tongue tissues**," *J. Raman Spectrosc.*, 43 (4), 490–496 (2012). <https://doi.org/10.1002/jrs.3070> JRSPAF 0377-0486 [Google Scholar](#)
196.
E. M. Barroso et al., "**Discrimination between oral cancer and healthy tissue based on water content determined by Raman spectroscopy**," *Anal. Chem.*, 87 (4), 2419–2426 (2015). <https://doi.org/10.1021/ac504362y> ANCHAM 0003-2700 [Google Scholar](#)
197.
H. Krishna et al., "**Anatomical variability of in vivo Raman spectra of normal oral cavity and its effect on oral tissue classification**," *Biomed. Spectrosc. Imaging*, 2 (3), 199–217 (2013). <https://doi.org/10.3233/BSI-130042> [Google Scholar](#)
198.
K. Lin et al., "**Real-time in vivo diagnosis of laryngeal carcinoma with rapid fiber-optic Raman spectroscopy**," *Biomed. Opt. Express*, 7 (9), 3705–3715 (2016). <https://doi.org/10.1364/BOE.7.003705> BOEICL 2156-7085 [Google Scholar](#)
199.
Z. Huang et al., "**Raman spectroscopy in combination with background near-infrared autofluorescence enhances the in vivo assessment of malignant tissues**," *Photochem. Photobiol.*, 81 (5), 1219–1226 (2005). <https://doi.org/10.1562/2005-02-24-RA-449> PHCBAP 0031-8655 [Google Scholar](#)
200.
G. A. Alexiou et al., "**Management of meningiomas**," *Clin. Neurol. Neurosurg.*, 112 (3), 177–182 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2009.12.011> [Google Scholar](#)
201.
O. Schillaci et al., "**Single-photon emission computed tomography/computed tomography in brain tumors**," *Semin. Nucl. Med.*, 37 (1), 34–47 (2007). <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2006.08.003> [Google Scholar](#)
202.
S. M. K. Belhawi et al., "**Early postoperative MRI overestimates residual tumour after resection of gliomas with no or minimal enhancement**," *Eur. Radiol.*, 21 (7), 1526–1534 (2011). <https://doi.org/10.1007/s00330-011-2081-y> [Google Scholar](#)
203.
T. W. Vitaz, "**Techniques to improve the extent of brain tumor resection—awake speech and motor mapping, and intraoperative MRI**," *Molecular Considerations and Evolving Surgical Management Issues in the Treatment of Patients with a Brain Tumor*, IntechOpen Limited, London, United Kingdom (2015). <https://doi.org/10.5772/58977> [Google Scholar](#)
204.
T. B. Belsuzarri, R. A. Sangenis and J. M. Araujo, "**Brain tumor surgery: supplemental intra-operative imaging techniques and future challenges**," *J. Cancer Metastasis Treat.*, 2 70–79 (2016). <https://doi.org/10.4103/2394-4722.172249> [Google Scholar](#)
- 205.

- M. Kirsch et al., "**Raman spectroscopic imaging for in vivo detection of cerebral brain metastases**," Anal. Bioanal. Chem., 398 (4), 1707–1713 (2010). <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4116-7> ABCNBP 1618-2642 [Google Scholar](#)
206.
- J. Zhang et al., "**Accuracy of Raman spectroscopy in differentiating brain tumor from normal brain tissue**," Oncotarget, 8 (22), 36824–36831 (2017). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15975> [Google Scholar](#)
207.
- D. G. Leslie et al., "**Identification of pediatric brain neoplasms using Raman spectroscopy**," Pediatr. Neurosurg., 48 (2), 109–117 (2012). <https://doi.org/10.1159/000343285> PDNEEV [Google Scholar](#)
208.
- F. Leblond et al., "**Intraoperative detection of cancerous brain tissue using Raman spectroscopy**," SPIE Newsroom, 4–6 (2015). <https://doi.org/10.1117/2.1201504.005903> [Google Scholar](#)
209.
- A. Beljebbar et al., "**Ex vivo and in vivo diagnosis of C6 glioblastoma development by Raman spectroscopy coupled to a microprobe**," Anal. Bioanal. Chem., 398 (1), 477–487 (2010). <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3910-6> ABCNBP 1618-2642 [Google Scholar](#)
210.
- T. Liu et al., "**Evaluation of Raman spectra of human brain tumor tissue using the learning vector quantization neural network**," Laser Phys., 26 (5), 55606 (2016). <https://doi.org/10.1088/1054-660X/26/5/055606> [Google Scholar](#)
211.
- S.-L. Chen et al., "**Prostate cancer mortality-to-incidence ratios are associated with cancer care disparities in 35 countries**," Sci. Rep., 7 40003 (2017). <https://doi.org/10.1038/srep40003> SRCEC3 2045-2322 [Google Scholar](#)
212.
- "**GLOBOCAN cancer fact sheets: cervical cancer**," [Google Scholar](#)
213.
- L. Rotter et al., "**Dysplasia and cervical cancer: current diagnostic possibilities**," Ces. Gynecol., 79 (4), 314–320 (2014). [Google Scholar](#)
214.
- A. J. Blatt et al., "**Comparison of cervical cancer screening results among 256, 648 women in multiple clinical practices**," Cancer Cytopathol., 123 (5), 282–288 (2015). <https://doi.org/10.1002/cncy.21544> [Google Scholar](#)
215.
- R. S. DaCosta, B. C. Wilson and N. E. Marcon, "**Fluorescence and spectral imaging**," Sci. World J., 7 2046–2071 (2007). <https://doi.org/10.1100/tsw.2007.308> [Google Scholar](#)
216.
- Y. N. Mirabal et al., "**Reflectance spectroscopy for in vivo detection of cervical precancer**," J. Biomed. Opt., 7 (4), 587–594 (2002). <https://doi.org/10.1117/1.1502675> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
217.
- S. Duraipandian et al., "**Integrated fingerprint and high wavenumber confocal Raman spectroscopy for in vivo diagnosis of cervical precancer**," Proc. SPIE, 8572 85720Z (2013). <https://doi.org/10.1117/12.2003058> PSISDG 0277-786X [Google Scholar](#)
218.
- A. Robichaux-Viehoever et al., "**Characterization of Raman spectra measured in vivo for the detection of cervical dysplasia**," Appl. Spectrosc., 61 (9), 986–993 (2007). <https://doi.org/10.1366/000370207781746053> APSPA4 0003-7028 [Google Scholar](#)
219.
- J. T. Marquês et al., "**Biomembrane organization and function: the decisive role of ordered lipid domains**," Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes, 22 65–96 Academic Press, London, United Kingdom (2015). [Google Scholar](#)
220.
- E. Vargis et al., "**Sensitivity of Raman spectroscopy to normal patient variability**," J. Biomed. Opt., 16 (11), 117004 (2011). <https://doi.org/10.1117/1.3646210> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)

221. S. Duraipandian et al., “**Effect of hormonal variation on in vivo high wavenumber Raman spectra improves cervical precancer detection**,” Proc. SPIE, 8214 82140A (2012). <https://doi.org/10.1117/12.906399> PSISDG 0277-786X [Google Scholar](#)
222. S. Duraipandian et al., “**Near-infrared-excited confocal Raman spectroscopy advances in vivo diagnosis of cervical precancer**,” J. Biomed. Opt., 18 (6), 067007 (2013). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.6.067007> JBOPFO 1083-3668 [Google Scholar](#)
223. S. Duraipandian et al., “**Near-infrared Raman spectroscopy for assessing biochemical changes of cervical tissue associated with precarcinogenic transformation**,” Analyst, 139 (21), 5379–5386 (2014). <https://doi.org/10.1039/C4AN00795F> ANLYAG 0365-4885 [Google Scholar](#)
224. P. Crow et al., “**The use of Raman spectroscopy to identify and grade prostatic adenocarcinoma in vitro**,” Br. J. Cancer, 89 (1), 106 (2003). <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601059> BJCAAI 0007-0920 [Google Scholar](#)
225. S. Devpura et al., “**Detection of benign epithelia, prostatic intraepithelial neoplasia, and cancer regions in radical prostatectomy tissues using Raman spectroscopy**,” Vib. Spectrosc., 53 (2), 227–232 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2010.03.009> VISPEK 0924-2031 [Google Scholar](#)
226. N. Kourkoumelis et al., “**Advances in the in vivo Raman spectroscopy of malignant skin tumors using portable instrumentation**,” Int. J. Mol. Sci., 16 (7), 14554–14570 (2015). <https://doi.org/10.3390/ijms160714554> [Google Scholar](#)
227. J. Zhao et al., “**Using Raman spectroscopy to detect and diagnose skin cancer in vivo**,” Dermatol. Clin., 35 495–504 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.det.2017.06.010> [Google Scholar](#)
228. G. Monheit et al., “**The performance of MelaFind: a prospective multicenter study**,” Arch. Dermatol., 147 (2), 188–194 (2010). <https://doi.org/10.1001/archdermatol.2010.302> [Google Scholar](#)
229. X. Feng et al., “**Raman active components of skin cancer**,” Biomed. Opt. Express., 8 (6), 2835–2850 (2017). <https://doi.org/10.1364/BOE.8.002835> [Google Scholar](#)
230. M. Jermyn et al., “**Neural networks improve brain cancer detection with Raman spectroscopy in the presence of light artifacts**,” Proc. SPIE, 9690 96900B (2016). <https://doi.org/10.1117/12.2208892> PSISDG 0277-786X [Google Scholar](#)

Biography

Eliana Cordero obtained her BSc degree in mechatronic engineering from the University of Pamplona in 2011 and her MSc degree in scientific instrumentation from Ernst Abbe University of Applied Science of Jena. She enrolled PhD studies at the faculty for chemistry and earth sciences, Friedrich Schiller University of Jena in 2016. Since there, she is employed at the Leibniz institute of Photonic Technology, where she works in the development of Raman probes for endoscopic applications.

Ines Latka studied physics at the Technical University Ilmenau and the Friedrich–Schiller University Jena. After her diploma thesis she worked several years on the field of fiber optic sensors, particularly with fiber Bragg gratings. In 2009, she joined the molecular imaging group at IPHT in Jena/Germany, focusing on CARS. Her current interests are focused on the development of fiber optic endoscopes for medical applications, e.g., employing Raman spectroscopy, in conjunction with multimodal instrumentation.

Christian Matthäus is working as a research assistant at Leibniz Institute for Photonic Technology (IPHT), Jena, Germany. His current interests are Raman spectroscopy, nonlinear

imaging techniques, and MALDI-TOF. He received his PhD from City University of New York in 2006 in the field of spectroscopic imaging. After a postdoc position at Northeastern University, Boston, he joined the group of Prof. Jürgen Popp at the IPHT in 2009.

Iwan W. Schie studied medical engineering at Beuth University of Applied Science, Berlin, and received his PhD in biomedical engineering from the University of California, Davis. During his PhD his research focus was on instrument development and medical applications for multiphoton microscopy and spontaneous Raman spectroscopy. Since 2014, he has been working as a postdoctoral researcher at the Leibniz-IPHT and established the group for “Multimodal Instrumentation” at the Leibniz-IPHT in 2017, with the research focus on high-throughput Raman spectroscopy systems for single cell classification, fiber-probe development, and instrumentation for medical in-vivo applications.

Jürgen Popp studied chemistry at the universities of Erlangen and Würzburg. After his PhD in chemistry he joined Yale University for postdoctoral work. He subsequently returned to Würzburg University where he finished his habilitation in 2002. Since 2002, he has held a chair for Physical Chemistry at the Friedrich–Schiller University Jena. Since 2006, he is also the scientific director of the Leibniz Institute of Photonic Technology, Jena. His research interests are mainly concerned with biophotonics. In particular his expertise in the development and application of innovative Raman techniques for biomedical diagnosis should be emphasized.

© The Authors. Published by SPIE under a Creative Commons Attribution 3.0 Unported License. Distribution or reproduction of this work in whole or in part requires full attribution of the original publication, including its DOI.

Citation Download Citation

[Eliana Cordero](#), [Ines Latka](#), [Christian Matthäus](#), [Iwan W. Schie](#), and [Jürgen Popp](#) "*In-vivo* Raman spectroscopy: from basics to applications," *Journal of Biomedical Optics* 23(7), 071210 (28 June 2018). <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.7.071210>

Received: 2 March 2018; Accepted: 23 May 2018; Published: 28 June 2018

JOURNAL ARTICLE