

DOI: <https://doi.org/10.17816/KMJ646022> EDN: HPECJK

# Возможности поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии сыворотки крови в оценке прогноза летальности у пациентов, получающих программный гемодиализ

Д.Ю. Коновалова<sup>1</sup>, М.А. Скуратова<sup>1</sup>, П.А. Лебедев<sup>1</sup>, И.А. Пименова<sup>2</sup>, Р.И. Биктогирова<sup>3</sup><sup>1</sup> Самарский государственный медицинский университет, г. Самара, Россия;<sup>2</sup> Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королёва, г. Самара, Россия;<sup>3</sup> Институт клинической медицины им. Н.В. Склифосовского — Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Актуальность.** Прогнозирование исходов хронической болезни почек представляет собой актуальную задачу современной медицины. Решение этой задачи возможно с помощью систем стратификации, основанных на биомаркерах, к которым относятся метаболические, электролитные, воспалительные и инструментальные показатели.

**Цель.** Определить прогностическую значимость поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии сыворотки крови в оценке общей смертности у пациентов с терминальной хронической болезнью почек, находящихся на программном гемодиализе.

**Материал и методы.** В проспективное наблюдение включены 58 пациентов обоего пола в возрасте 33–73 лет (средний возраст —  $57,0 \pm 12,9$  года), находящиеся на программном гемодиализе. В течение 3 лет наблюдения зарегистрировано 13 летальных исходов. Для идентификации спектральных характеристик, имеющих значение для выделения фенотипа, связанного с летальностью, дополнительно сформирована группа сравнения из 75 обследованных (средний возраст —  $51,33 \pm 13,12$  года,  $p < 0,01$ ) с расчётной скоростью клубочковой фильтрации, соответствующей стадиям хронической болезни почек от I до IIIa включительно. Согласно современным критериям, диагноз хронической болезни почек устанавливается при наличии признаков почечной дисфункции, включая ту или иную расчётную скорость клубочковой фильтрации, сохраняющихся в течение 3 мес и более. Однако точную продолжительность бессимптомных стадий хронической болезни почек определить невозможно. Статистическая зависимость спектральных характеристик сыворотки крови от выживаемости установлена для 26 пациентов на гемодиализе с использованием мультивариативного анализа. Для построения прогностической модели применён дискриминантный анализ методом наименьших квадратов — метод машинного обучения, позволяющий создавать классификации.

**Результаты.** Анализ данных проводили в группе пациентов, получающих программный гемодиализ: 13 пациентов, умерших в течение 3 лет после анализа крови, и пять групп по 13 пациентов, отобранных случайным образом из 45 оставшихся. Каждую группу формировали независимо. Модель тестировали в пяти итерациях, результаты усредняли. Наиболее значимыми частотами спектра для прогноза были: 731, 839, 1240, 1391 и 1578  $\text{см}^{-1}$ . Чувствительность модели прогноза составила 83%; специфичность — 79%, точность — 81%, площадь под кривой ROC (AUC) — 0,86. Во 2-й части исследования установлено, что только две из пяти частот, значимых для прогноза выживаемости, совпадают с частотами, характерными для креатинина и мочевины (637, 724, 1001, 1095, 1238, 1393  $\text{см}^{-1}$ ), которые позволяют различать пациентов с хронической болезнью почек стадий I–IIIa от терминальной стадией с чувствительностью 71%, специфичностью 95% и точностью 83%.

**Заключение.** Поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия сыворотки крови в сочетании с математическим моделированием обладает высокой точностью при минимальных трудозатратах.

**Ключевые слова:** поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия; хроническая болезнь почек; программный гемодиализ; прогноз.

## Как цитировать:

Коновалова Д.Ю., Скуратова М.А., Лебедев П.А., Пименова И.А., Биктогирова Р.И. Возможности поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии сыворотки крови в оценке прогноза летальности у пациентов, получающих программный гемодиализ // Казанский медицинский журнал. 2025. DOI: [10.17816/KMJ646022](https://doi.org/10.17816/KMJ646022) EDN: HPECJK

DOI: <https://doi.org/10.17816/KMJ646022> EDN: HPECJK

# Potential of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Blood Serum in Predicting Mortality in Patients Undergoing Maintenance Hemodialysis

Daria Yu. Konovalova<sup>1</sup>, Maria A. Skuratova<sup>1</sup>, Petr A. Lebedev<sup>1</sup>,  
Irina A. Pimenova<sup>2</sup>, Regina I. Biktogirova<sup>3</sup><sup>1</sup> Samara State Medical University, Samara, Russia;<sup>2</sup> Samara National Research University, Samara, Russia;<sup>3</sup> N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine — The First Sechenov Moscow State Medical University, Moscow, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Predicting outcomes in chronic kidney disease remains challenging in modern medicine. It may be addressed using stratification systems based on biomarkers, including metabolic, electrolyte, inflammatory, and instrumental indicators.

**AIM:** This study aimed to assess the prognostic value of surface-enhanced Raman spectroscopy of blood serum in evaluating all-cause mortality in hemodialysis patients with end-stage chronic kidney disease.

**METHODS:** This prospective study included 58 patients of both sexes, aged 33–73 years (mean age:  $57.0 \pm 12.9$  years) on maintenance hemodialysis. Over the 3-year follow-up, 13 deaths were recorded. An additional comparison group was formed, comprising 75 individuals (mean age:  $51.33 \pm 13.12$  years;  $p < 0.01$ ) with estimated glomerular filtration rate corresponding to chronic kidney disease stages I–IIIa, to identify spectral characteristics associated with the mortality phenotype. According to current criteria, chronic kidney disease is diagnosed based on persistent signs of renal dysfunction, including a specific estimated glomerular filtration rate level, present for  $\geq 3$  months. However, the duration of asymptomatic stages of chronic kidney disease cannot be determined. Multivariate analysis was used to evaluate the statistical association between serum spectral characteristics and survival in 26 hemodialysis patients. To develop the prognostic model, least squares discriminant analysis was applied, which is a machine learning technique used for classification.

**RESULTS:** Data of the cohort of patients undergoing maintenance hemodialysis was analyzed: 13 individuals who died within 3 years following blood sampling and 5 groups of 13 individuals each, randomly selected from the remaining 45. Each group was formed independently. The model was tested over five iterations and the results averaged. The most prognostically significant spectral peaks were 731, 839, 1240, 1391, and  $1578 \text{ cm}^{-1}$ . The model demonstrated an 83% sensitivity, 79% specificity, and 81% accuracy and an area under the ROC curve of 0.86. Notably, two of the five frequencies significant for survival prediction overlapped with those characteristic of creatinine and urea (637, 724, 1001, 1095, 1238, and  $1393 \text{ cm}^{-1}$ ), which enable differentiation between stages I–IIIa of chronic kidney disease and end-stage renal disease, yielding a 71% sensitivity, 95% specificity, and 83% overall accuracy.

**CONCLUSION:** Combined surface-enhanced Raman spectroscopy of blood serum and mathematical modeling presents high predictive accuracy with minimal labor input.

**Keywords:** surface-enhanced Raman spectroscopy; chronic kidney disease; maintenance hemodialysis; prognosis.

### To cite this article:

Konovalova DYu, Skuratova MA, Lebedev PA, Pimenova IA, Biktogirova RI. Potential of surface-enhanced raman spectroscopy of blood serum in predicting mortality in patients undergoing maintenance hemodialysis. *Kazan Medical Journal*. 2025. DOI: 10.17816/KMJ646022 EDN: HPECJK

## АКТУАЛЬНОСТЬ

Хроническая болезнь почек (ХБП) — клиническое состояние, определяемое структурными и функциональными нарушениями почек различной этиологии. Хотя глобальная стандартизированная по возрасту смертность от большинства других форм хронических заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) и рак, за последние несколько 10-летий снизилась, ХБП остаётся 3-й по темпам роста причиной смерти во всём мире и по прогнозам станет 5-й по распространённости причиной ограничения продолжительности жизни к 2040 году [1, 2]. У пациентов с поздней стадией ХБП риск смерти повышен в 3,6 раза по сравнению с общей популяцией, при этом риск увеличивается в 9–12 раз для пациентов, получающих лечение диализом [3]. Средняя продолжительность жизни 55-летнего пациента с терминальной хронической болезнью почек (ТХБП) V стадии составляет всего 5,6 года, что хуже, чем при некоторых формах рака [4].

Существенная роль в прогрессировании ХБП и ССЗ — как наиболее частой причины летальности — отводится аккумуляции уремических токсинов, которые не удаляются полностью даже при регулярных сеансах лечения гемодиализом [5]. На сегодняшний день более 100 токсинов были установлены Европейской рабочей группой по уремическим токсинам (EUTOX) [6].

Высокая летальность у пациентов на заместительной почечной терапии актуализирует поиск технологических решений, направленных на распознавание метаболического фенотипа, ассоциированного с негативным прогнозом для коррекции его компонентов [7]. Современная нефрология и кардиология располагают обширным материалом в отношении использования различных параметров для предсказания исходов у пациентов с ТХБП, известных как биомаркеры [8]. Очевидно, что такие биомаркеры должны обладать связями с параметрами системной воспалительной реакции, ремоделирования ССС, метаболическими и электролитными нарушениями. Совершенно различные подходы — эпигенетические, биофизические, биохимические — могут быть основой для получения таких параметров [9].

В данной статье представлена мультимодальная технология, основанная на методе поверхностно усиленной рамановской спектроскопии (Surface-enhanced Raman Spectroscopy — SERS), с целью определения профиля биологических молекул в циркуляции, соответствующего негативному прогнозу для жизни у пациентов, получающих программный гемодиализ. Этот метод привлекателен для клинического использования в связи с низкой трудоёмкостью, высокой чувствительностью, быстротой получения результата. SERS основана на эффекте неэластического рассеивания электромагнитного излучения молекулами исследуемой субстанции. Различие частот иницирующего излучения и рассеянного представляет собой полезный сигнал, обладающий различной частотно-амплитудной

характеристикой, по сути представляющей «портрет» химической структуры или их множества.

Следует отметить, что при анализе многокомпонентных биологических тканей методами РС и SERS полученные спектральные характеристики являются суперпозицией спектрального вклада всех компонентов, входящих в состав исследуемого образца. Анализ и интерпретация спектральных характеристик биологических тканей связаны с проблемой мультиколлинеарности и множественного перекрытия спектров [10, 11]. Мультимодальность методики SERS обусловлена необходимостью использования многомерного анализа для выявления специфических спектральных особенностей сыворотки крови человека [12], в данном случае связанных с негативным прогнозом при ТХБП, с привлечением технологий машинного обучения и искусственных нейронных сетей [13].

**Цель исследования** — определить прогностическую значимость поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии сыворотки крови в оценке общей смертности у пациентов с терминальной хронической болезнью почек, находящихся на программном гемодиализе.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

**Клиническая характеристика групп.** Исследование проведено на базе Самарского областного центра нефрологии и диализа — Самарской областной клинической больницы им. В.Д. Середавина с 2019 по 2022 год.

В одномоментном исследовании участвовали две группы пациентов. Основную группу составили 58 пациентов с терминальной ХБП, находящихся на программном гемодиализе в возрасте 33–73 лет обоего пола. Группу сравнения составили 75 пациентов обоего пола в возрасте 30–73 лет (табл. 1, 2).

**Критериями включения** в основную группу были: программный гемодиализ в течение не менее года; допускалось наличие хронической артериальной гипертензии (АГ), хронических форм ишемической болезни сердца, фибрилляции/трепетания предсердий, сахарного диабета 2-го типа, любой статус курения.

**Критерии включения** в группу сравнения: ХБП I–IIIa стадии; допускалось наличие хронической артериальной гипертензии, приём гипотензивных препаратов, сахарный диабет 2-го типа, любой статус курения. Формирование данной группы решало вопросы аналитического подхода для верификации участков спектра, определяющих принадлежность к почечной недостаточности, т. е. для решения задачи, не связанной с непосредственной целью данного исследования — определения прогноза.

**К критериям исключения** в обеих группах относились:

- известные острые инфекционные, онкологические заболевания в активной фазе;
- цирроз печени;
- тяжёлая сердечная и лёгочная недостаточность;
- неспособность к самообслуживанию;

**Таблица 1.** Клиническая характеристика группы сравнения (n=75)  
**Table 1.** Clinical characteristics of the comparison group (n = 75)

Параметр	n	Частота
Мужской пол	33	0,44
Курящие	10	0,13
<b>Стадия ХБП</b>		
I	32	0,42
II	39	0,52
IIIa	4	0,05
<b>Сопутствующие заболевания</b>		
Общая численность	21	0,28
Гипертоническая болезнь	16	0,21
Хроническая обструктивная болезнь легких	3	0,04
Хронический бронхит	5	0,07
Бронхиальная астма	2	0,03
Ишемическая болезнь сердца	2	0,03
ОНМК в анамнезе	0	0
Инфаркт миокарда	0	0

Примечание. ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения; ХБП — хроническая болезнь почек.

- деменция;
- острые сердечно-сосудистые состояния;
- сахарный диабет 1-го типа;
- сахарный диабет 2-го типа;
- беременность;
- кормление грудью;
- отсутствие информированного согласия.

Пациенты основной группы были несколько старше (табл. 3), но сопоставимы по полу. Курение, анемический синдром, артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, фибрилляция предсердий, язвенная болезнь желудка, дисциркуляторная энцефалопатия и хроническая обструктивная болезнь лёгких преобладали в основной группе ( $p < 0,05$ ).

Наиболее частыми причинами ТХБП были хронический гломерулонефрит (22%) и тубулоинтерстициальный нефрит (15%) (см. табл. 2). Из коморбидных состояний наиболее частыми был анемический синдром, дисциркуляторная энцефалопатия, артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца (см. табл. 2).

Существенными были отличия по большинству из приведённых в табл. 3 параметров, включая больший возраст, индекс массы тела, артериальное давление, лейкоцитоз, общий холестерин, С-реактивный белок, многократно повышенные параметры креатинина, мочевины в группе ТХБП. В этой же группе отмечались более низкие концентрации эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов, альбумина, что с клинической точки зрения характеризует анемию в сочетании с воспалительной активностью, синдромом АГ. Ожидаемо, средняя концентрация креатини-

**Таблица 2.** Клиническая характеристика основной группы (n=58)  
**Table 2.** Clinical characteristics of the main group (n = 58)

Параметры	n	Частота
Мужской пол	35	0,60
Курящие	32	0,55
<b>Длительность диализа</b>		
1–10 лет	44	0,76
11–20 лет	12	0,21
21–30 лет	2	0,03
<b>Основные заболевания, ассоциированные с ТХБП</b>		
Хронический гломерулонефрит	22	0,38
Хронический тубулоинтерстициальный нефрит	15	0,26
Мочекаменная болезнь	9	0,15
Сахарный диабет	6	0,10
Удвоение почки	3	0,05
Поликистоз	2	0,03
Миеломная болезнь	1	0,02
<b>Сопутствующие заболевания</b>		
Анемия хронических состояний	50	0,86
Дисциркуляторная энцефалопатия	40	0,69
Хроническая артериальная гипертензия	36	0,62
Хроническая ишемическая болезнь сердца	22	0,38
Хроническая обструктивная болезнь легких	10	0,17
Сахарный диабет	6	0,10
Фибрилляция предсердий постоянная форма	4	0,07
Язвенная болезнь желудка	6	0,10
Подагрический артрит	3	0,05

Примечание. ТХБП — терминальная стадия хронической болезни почек.

на в основной группе была в 10 раз выше, а мочевины — в 3 раза выше, чем в группе сравнения. Кровь пациентов из группы, получающей программный гемодиализ, забирала до проведения сеанса гемодиализа.

**Методика SERS сывотки крови.** При анализе биологического образца для достижения поверхностного усиления комбинационного рассеяния в ближнем инфракрасном диапазоне использовали коллоидный раствор наночастиц серебра в качестве подложки, нанесённой на алюминиевую фольгу [14]. Приготовленный материал обеспечивал стабильный коэффициент усиления на уровне  $4 \times 10^5$ . Далее каждый образец сывотки в объёме 1,5 мкл наносили на алюминиевую фольгу со слоем наносеребра и высушивали в течение 30 мин.

**Таблица 3.** Сравнительная характеристика основных параметров в группах  
**Table 3.** Comparative analysis of key parameters between the groups

Параметры	Контроль (n=75) M±SD	ПГД (n=58) M±SD	p
Возраст	51,33±13,12	57,04±12,86	0,001
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	24,18±2,96	24,33±3,12	0,003
Вес, кг	68,99±9,01	73,46±9,56	<0,001
САД, мм рт. ст.	128,39±9,94	134,09±13,16	<0,001
ДАД, мм рт. ст.	76,13±8,91	81,34±10,76	<0,001
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	5,57±1,11	6,56±1,50	<0,001
Эритроциты, ×10 <sup>12</sup> /л	4,66±0,51	3,44±0,45	<0,001
Гемоглобин, г/л	143,25±11,25	104,77±16,15	<0,001
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	243,73±52,98	191,76±47,67	<0,001
Гематокрит	0,42±0,04	0,29±0,04	<0,001
Общий белок, г/л	74,33±4,99	64,52±7,32	<0,001
Альбумин, г/л	—	37,43±4,89	—
Холестерин, ммоль/л	4,63±0,56	5,12±1,10	<0,001
СРБ, мг/л	2,65±1,54	12,20±15,28	<0,001
Глюкоза, ммоль/л	5,26±0,85	5,02±2,10	0,491
Креатинин, мкмоль/л	77,91±9,90	710,34±236,13	<0,001
Мочевина, ммоль/л	6,73±1,10	19,45±5,74	<0,001
Фосфор, ммоль/л	—	1,32±0,30	—
Натрий, ммоль/л	—	130,38±6,30	—
Калий, ммоль/л	—	5,09±0,31	—
СКФ по CKD-EPI мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	79,56±16,33	—	—

Примечание. САД — систолическое, ДАД — диастолическое артериальное давление; СРБ — С-реактивный белок; СКФ — скорость клубочковой фильтрации; ПГД — пациенты, получающие программный гемодиализ; CKD-EPI — Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration.

Анализ спектральных характеристик сыворотки проводили с помощью экспериментального стенда, состоящего из спектрометрической системы (ЭнСпектр Р785, Спектр-М, Черноголовка, Россия) и микроскопа (ADF U300, ADF, Китай). Спектры возбуждались в ближнем инфракрасном диапазоне с помощью лазерного модуля с центральной длиной волны 785 нм. Сыворотку крови подвергали облучению лазерным лучом мощностью 10 мВт. Спектры регистрировали с помощью программы EnSpectr (Спектр-М, Черноголовка, Россия) четырёхкратно при времени экспозиции 4 с. После предварительной регистрации фонового сигнала его составляющая автоматически вычиталась из последующих регистрируемых спектров сыворотки крови с помощью алгоритма, встроенного в программное обеспечение EnSpectr. Каждый из полученных SERS-спектров одного образца сыворотки представлял собой дискретный набор из 1700 параметров. Исходные SERS-спектры сыворотки подвергали сглаживанию шумов с помощью фильтра Савицкого–Голея. Удаление автофлуоресцентного фона осуществляли полиномиальным методом [15]. Спектральные характеристики сыворотки нормализовали с помощью метода стандартного отклонения по методу нормальных переменных.

**Построение моделей классификации.** Базовое решение реализовано с использованием дискриминантного анализа с проекцией на латентные структуры (PLS-DA) для задачи классификации и метода проекции на латентные структуры (PLS) — для задач регрессии. Метод PLS-DA применяется для уменьшения размерности многомерных данных и позволяет выявлять взаимосвязи между предикторами (участками спектра) и переменными отклика (принадлежностью к группе выживших или умерших). PLS-DA продемонстрировал стабильность и потенциал для анализа спектральных характеристик крови [16]. Для реализации алгоритма SIMPLS в частях, касающихся PLS и метода PLS-DA, мы провели многомерный анализ с помощью пакета MDAtools [17]. Распределения VIP для моделей PLS и PLS-DA рассчитывали по стандартному алгоритму как взвешенную сумму квадратов корреляций между компонентами PLS-DA и переменными [18, 19].

**Статистический анализ данных** выполняли в среде пакета SPSS 25.0 (IBM Corporation, США, лицензия № 5725-A54). Для сравнения групп применяли критерий Манна–Уитни.

Описательные статистики представлены в виде среднего и стандартного отклонения: M±SD. Результаты считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

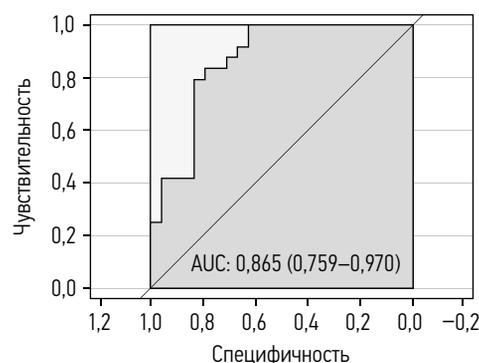
## РЕЗУЛЬТАТЫ

В течение 3 лет наблюдения в основной группе с ТХБП произошло 13 (частота — 0,22 случая на пациента в год) летальных исходов, подтверждённых данными ЕМИАС. Наиболее частой причиной смерти оказались ССЗ — 8 случаев (0,61); COVID-19 — 4 случая (0,31), сепсис — 1 случай (0,08). Полученные данные соответствуют сведениям литературы, согласно которым ССЗ поражают более двух третей людей, получающих программный гемодиализ, и являются основной причиной заболеваемости и смертности почти в 50% случаев [20]. Второй по частоте причиной госпитализации и летальности выступают инфекции [21].

С целью достижения наивысшего качества модели машинного обучения мы применили метод кросс-валидации, заключающийся в случайном разделении группы выживших на пять разных по составу групп (фолдов) по 13 пациентов. Этот метод позволяет максимально эффективно использовать доступные данные. Каждая подгруппа один раз используется в качестве тестовой, в то время как оставшиеся сравниваются с группой умерших (13 пациентов за три года наблюдения). Модель обучается на 1-й группе и тестируется на оставшихся четырёх. Итоговая оценка модели определяется как среднее значение метрики (легитимный термин, означающий точность модели классификации) по всем фолдам. Этот способ позволяет выявлять истинные закономерности, отделяя их от случайных факторов.

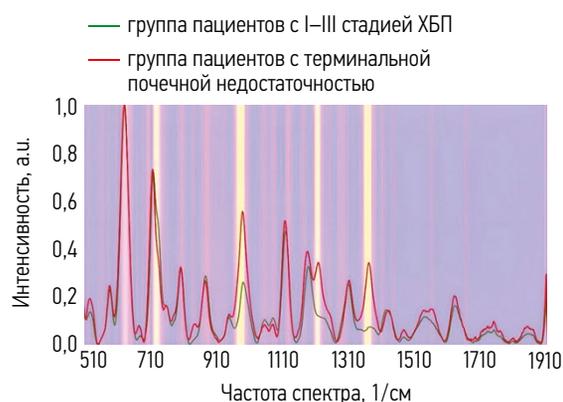
Мультивариативный анализ проведён с использованием PLS-DA на основе алгоритма SIMPLS. Полученные характеристики прогностической модели: чувствительность — 83%, специфичность — 79%, точность — 81%. Площадь под ROC-кривой — 0,86 (рис. 1). Наиболее значимыми частотами спектра для модели прогноза оказались: 731, 839, 1240, 1391 и 1578  $\text{см}^{-1}$ .

Патофизиология ССЗ, быстро развивающихся на фоне ХБП, тесно связана с метаболическим профилем крови. База данных метаболома человека содержит список из 220 845 метаболитов — молекул с массой менее 1,5 кДа (включая углеводы, липиды, аминокислоты, кетоны) [22]. Огромное количество химических соединений, масса и концентрация которых в сыворотке крови различаются в сотни раз, затрудняет их комплексную оценку каким-либо методом, в т. ч. и методом РС. Необходимо отметить, что одно химическое вещество имеет много центров колебаний и, соответственно, пиков на РС. Пространственная конфигурация молекул также влияет на РС. Существуют определённые трудности с точным определением химических структур, вызывающих колебания на определённых частотах. Созданные для этой цели библиотеки данных достаточно велики и активно пополняются в последнее время, однако их точность далека от абсолютной. Хотя РС является аналитическим методом, на данном этапе развития методологии SERS уместнее



**Рис. 1.** ROC-кривая модели классификации пациентов по выживаемости на основе спектральных характеристик сыворотки крови.

**Fig. 1.** ROC curve of the classification model for patient survival based on blood serum spectral characteristics.



**Рис. 2.** Наиболее значимые спектральные параметры для дифференцировки пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек (ХБП) и стадиями I–IIIa.

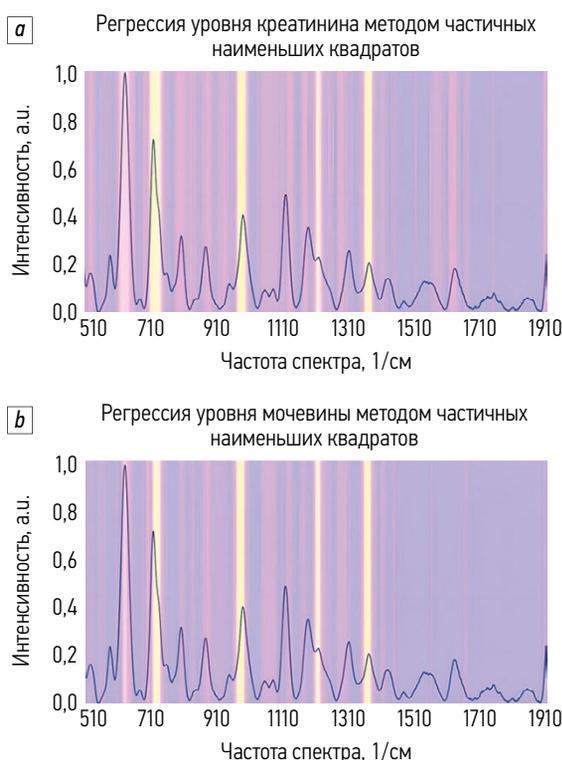
**Fig. 2.** Most significant spectral parameters for differentiating patients with end-stage chronic kidney disease and stages I–IIIa.

говорить о спектральном «портрете» — характерной конфигурации спектра, соответствующей тому или иному заболеванию или его фенотипу. Для оценки того, насколько спектральные особенности, определяющие прогноз, объясняются молекулярным составом в циркуляции, специфичным для ТХБП, мы провели сопоставление со спектрами сыворотки крови группы сравнения.

На рис. 2 показано, что наиболее информативные спектральные полосы при построении моделей совпадают с видимыми различиями в средних спектрах дискриминируемых групп.

Каждый из выделенных пиков представляет количественную и качественную характеристики биоорганических веществ в соответствии с работами [23–25].

Следует отметить, что отнесение полос SERS в спектре сыворотки крови с конкретными биоорганическими веществами характеризуется сложностью из-за мультиколлинеарности и возможного спектрального вклада нескольких веществ в определённую полосу. Таким образом, спектральный вклад в конкретную полосу может быть обусловлен указанным веществом, но не ограничивается им.



**Рис. 3.** Наиболее важные параметры распределения матрицы SERS-спектров сыворотки крови при построении PLS-регрессии: *a* — для уровня креатинина ( $R^2=0,74$ ); *b* — для уровня мочевины ( $R^2=0,76$ ).

**Fig. 3.** Most significant parameters describing the distribution of SERS spectra of blood serum in PLS regression: *a*, creatinine level ( $R^2 = 0.74$ ); *b*, urea level ( $R^2 = 0.76$ ).

Модель, основанная на базовом решении, позволила выделить следующие спектральные полосы как наиболее информативные:

- полоса  $718\text{--}726\text{ см}^{-1}$  с максимумом при  $724\text{ см}^{-1}$  — соответствует колебаниям пуринового кольца в гипоксантине;
- полоса  $990\text{--}1030\text{ см}^{-1}$  с максимумом при  $1001\text{ см}^{-1}$  — связана с вибрацией белков симметричного кольца фенилаланина,  $\nu(\text{CO})$ ,  $\nu(\text{CC})$ ,  $\delta(\text{OCH})$ ;
- полоса  $1089\text{--}1110\text{ см}^{-1}$  с максимумом при  $1095\text{ см}^{-1}$  — отражает колебания C–N в углеводах;
- полоса  $1220\text{--}1255\text{ см}^{-1}$  с максимумом при  $1238\text{ см}^{-1}$  — соответствует липидам и CN-группам на концах цепей;
- полоса  $1380\text{--}1415\text{ см}^{-1}$  с максимумом при  $1393\text{ см}^{-1}$  — соответствует симметричным деформационным колебаниям  $\delta\text{CH}_3$  [23–25].

Полоса  $630\text{--}650\text{ см}^{-1}$  с максимумом при  $637\text{ см}^{-1}$  (мочевая кислота) характеризуется значительной информативностью при построении PLS-DA-модели.

Дифференциальная спектральная характеристика, полученная нами (рис. 3), в значительной степени совпала с подобной характеристикой SERS мочи от пациентов с трансплантированной почкой. Частоты  $1004$ ,  $1083\text{ см}^{-1}$  авторы относят к мочевины, а  $1383\text{ см}^{-1}$  — к цитозину [26].

В другом исследовании получены доказательства принадлежности наиболее выраженного пика на  $1006\text{ см}^{-1}$  и пика меньшей амплитуды на  $1095\text{ см}^{-1}$  к мочевины. Пики, характерные для креатинина, находились в диапазоне  $650\text{--}940\text{ см}^{-1}$  [27]. Учитывая, что концентрация креатинина в 10 раз выше в группе с ТХБП, с высокой вероятностью частота  $1001\text{--}1006\text{ см}^{-1}$  отражает концентрацию как мочевины, так и креатинина, что подтверждает кардинальное значение этой части спектра для разделения групп пациентов. Другой информативный пик для креатинина может располагаться в диапазоне  $637\text{--}678\text{ см}^{-1}$  [28].

Поскольку к основным маркерам снижения почечного клиренса относится увеличение концентрации креатинина и мочевины крови, следующим этапом нашего исследования стала идентификация полос SERS, коррелирующих с креатинином и мочевиной. Были построены регрессионные модели для корреляции SERS-характеристик сыворотки крови с уровнем креатинина и мочевины, определёнными стандартным биохимическим анализом. Коэффициент детерминации  $R^2$  составил  $0,74$  для уровня креатинина и  $0,76$  для мочевины в моделях PLS (см. рис. 3).

В целом полученные характеристики регрессионных моделей креатинина и мочевины сопоставимы с результатами других авторов. Так, M. Zong и соавт. исследовали SERS-характеристики сыворотки и мочи у пациентов с ХБП II–V стадий и показали, что в PLS-анализе SERS-характеристик сыворотки крови коэффициент детерминации для мочевины и креатинина составил  $0,94$  и  $0,85$  соответственно [29].

Результаты, представленные на рис. 3, показывают, что при построении регрессии уровней креатинина и мочевины на основе PLS-модели наиболее информативными полосами являются  $637\text{--}724\text{ см}^{-1}$ ,  $990\text{--}1030\text{ см}^{-1}$ ,  $1220\text{--}1255\text{ см}^{-1}$ ,  $1380\text{--}1415\text{ см}^{-1}$ , что совпадает с наиболее информативными спектральными полосами модели PLS-DA для диализных пациентов.

## ОБСУЖДЕНИЕ

На основании полученных нами результатов при построении моделей идентификация диализных пациентов и регрессия уровней креатинина и мочевины осуществляются с использованием одного и того же набора диапазонов, а относительная степень информативности выделенных полос для этих моделей одинакова.

Итак, в первой части работы показано, что наиболее значимыми частотами спектра для модели прогноза ТХБП были:  $731$ ,  $839$ ,  $1240$ ,  $1391$ ,  $1578\text{ см}^{-1}$ . Необходимо отметить, что выявлено совпадение двух из пяти частотных параметров из этого списка ( $1240\text{--}1238$ ;  $1391\text{--}1393\text{ см}^{-1}$ ) с частотами в модели, дискриминирующей начальные стадии ХБП от ТХБП. Это является свидетельством того, что молекулы, важные для прогноза летальности, отличаются от тех, с которыми связана тяжесть самой ХБП. Задача будущих

исследований состоит в идентификации молекулярных соединений, ответственных за участки спектра, ассоциированных с летальностью.

*Ограничения исследования* связаны с небольшим количеством пациентов, принявших участие в проспективном наблюдении. Следует отметить, что группа сравнения была гораздо менее коморбидной, чем основная, отличаясь гораздо меньшим набором сопутствующих заболеваний. Поэтому отличия в спектрах между этими группами могут быть обусловлены метаболитами и субстанциями сыворотки, концентрация которых определяется заболеваниями, отличающимися от терминальной ХБП. Это ограничение могло быть преодолено формированием группы сравнения методом парного дизайна. Однако этот подход значительно осложняет набор материала и относится к решению второстепенной задачи.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной статье нами показана возможность использования SERS-спектроскопии сыворотки крови для прогнозирования кумулятивной летальности у пациентов, получающих программный гемодиализ. В доступной литературе подобных исследований нами не найдено. Существует большое количество биохимических параметров, с которыми связано прогрессирование ХБП, а также неблагоприятный прогноз на стадии заместительной почечной терапии. Использование панели биомаркеров способно дать более точную оценку прогноза, однако потребует существенных затрат. В противоположность этому подходу SERS даёт возможность создать «портрет» патологии, различимый машинными методами анализа, а наиболее значимые участки спектра связать с определёнными маркерами, как это показано в нашей работе.

Разумеется, подтверждение информативности используемой методики необходимо в более крупном исследовании. Относительная простота подготовки проб, небольшая трудоёмкость, быстрота получения результата при доступности необходимой аппаратуры позволяют рассчитывать на клиническое применение методики в будущем. Например, как метода для оптимизации режимов гемодиализа путём сравнения спектральных характеристик сыворотки крови до и после процедуры. Для этих целей могут быть использованы полученные нами характеристики спектра, ассоциированные с конечной стадией ХБП и её актуальными метаболитами — креатинином и мочевиной.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** К.Д.Ю. — проведение исследования, визуализация, формальный анализ, разработка методологии, написание черновика рукописи, курирование данных; С.М.А. — предоставление ресурсов; Л.П.А. — административное руководство исследовательским проектом, разработка концепции, научное руководство, написание рукописи — рецензирование и редактирование; П.И.А. — разработка

программного обеспечения; Б.Р.И. — валидация результатов. Все авторы одобрили версию для публикации, а также согласились нести ответственность за все аспекты работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой её части.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность коллективу центра гемодиализа СОКБ им. В.Д. Середавина, коллективу приёмного отделения Самарской городской больницы № 1 им. Н.И. Пирогова, а также коллективу кафедры лазерных и биотехнических систем Самарского государственного университета под руководством доктора физико-математических наук проф. В.П. Захарова.

**Этическая экспертиза.** Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом при Самарской областной клинической больнице им. В.Д. Середавина (выписка из протокола № 123 от 22 марта 2017 г.). Все участники добровольно подписали форму информированного согласия до включения в исследование. Публичная регистрация исследования не проводилась.

**Согласие на публикацию.** Авторы не получали информированное согласие от пациентов на публикацию результатов исследования. Все представленные сведения обезличены, фотографии не публикуются. **Источники финансирования.** Отсутствуют.

**Раскрытие интересов.** Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

**Оригинальность.** При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные) **Доступ к данным.** Редакционная политика в отношении совместного использования данных к настоящей работе не применима, новые данные не собирали и не создавали.

**Генеративный искусственный интеллект.** При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

**Рассмотрение и рецензирование.** Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали два внешних рецензента, член редакционной коллегии и научный редактор издания.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Author contributions:** K.D.Yu.: investigation, visualization, formal analysis, methodology, writing—original draft, data curation; S.M.A.: resources; L.P.A.: project administration, conceptualization, supervision, writing—review & editing; P.I.A.: software; B.R.I.: validation. All the authors approved the version of the manuscript to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

**Acknowledgments:** The authors express their gratitude to the staff of the Hemodialysis Center of Samara Regional Clinical Hospital named after V.D. Seredavin; the staff of the Emergency department of Samara City Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov; and the team of the Department of Laser and Biotechnical Systems at Samara State University, headed by Professor V.P. Zakharov, Doctor of Science in Physics and Mathematics.

**Ethics approval:** The study was approved by the Local Ethics Committee of Samara Regional Clinical Hospital named after V.D. Seredavin (extract from Protocol No. 123, dated March 22, 2017). All participants provided written informed consent prior to inclusion in the study. This study was not publicly registered.

**Consent for publication:** Written informed consent for publication was not obtained from the patients. All data presented are anonymized, and no photographs are published.

**Funding sources:** No funding.

**Disclosure of interests:** The authors have no relationships, activities, or interests for the last three years related to for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

**Statement of originality:** No previously published material (text, images, or data) was used in this work.

**Data availability statement:** The editorial policy regarding data sharing does not apply to this work, as no new data was collected or created.

**Generative AI:** No generative artificial intelligence technologies were used to prepare this article.

**Provenance and peer review:** This paper was submitted unsolicited and reviewed following the standard procedure. The peer review process involved two external reviewers, a member of the editorial board, and the in-house scientific editor.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Foreman KJ, Marquez N, Dolgert A, et al. Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause and cause-specific mortality for 250 causes of death: reference and alternative scenarios for 2016–40 for 195 countries and territories. *Lancet*. 2018;392(10159):2052–2090. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31694-5 EDN: RMCZGN
- GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2020;395(10225):709–733. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30045-3 EDN: ORCYWT
- Kovesdy CP. Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. *Kidney Int Suppl* (2011). 2022;12(1):7–11. doi: 10.1016/j.kisu.2021.11.003 EDN: EPJEE5
- Feldreich T, Nowak C, Fall T, et al. Circulating proteins as predictors of cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *J Nephrol*. 2019;32(1):111–119. doi: 10.1007/s40620-018-0556-5 EDN: IFRXVH
- Shilov EM, Shilova MM, Rumyantseva EI, et al. Nephrological service of the Russian federation 2023: part I. Renal replacement therapy. *Clinical Nephrology*. 2024;16(1):5–14. doi: 10.18565/nephrology.2024.15-14 EDN: DAZGYH
- Smirnov AV, Dobronravov VA, Bodur-Oorzhak ASH, et al. Epidemiology and risk factors of chronic renal diseases: a regional level of the problem. *Terapevticheskiy Arkhiv*. 2005;77(6):20–27. EDN: HSHUMP
- Devine PA, Courtney AE, Maxwell AP. Cardiovascular risk in renal transplant recipients. *J Nephrol*. 2019;32(3):389–399. doi: 10.1007/s40620-018-0549-4 EDN: WBLAZH
- Duranton F, Cohen G, De Smet R, et al; European Uremic Toxin Work Group. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(7):1258–1270. doi: 10.1681/ASN.2011121175
- Khristoforova Y, Bratchenko L, Bratchenko I. Raman-Based Techniques in Medical Applications for Diagnostic Tasks: A Review. *Int J Mol Sci*. 2023;24(21):15605. doi: 10.3390/ijms242115605 EDN: TRIXAO
- Khristoforova YA, Bratchenko LA, Skuratova MA, et al. Raman spectroscopy in chronic heart failure diagnosis based on human skin analysis. *J Biophotonics*. 2023;16(7):e202300016. doi: 10.1002/jbio.202300016 EDN: MJLYIO
- Wang P, Guo L, Tian Y, et al. Discrimination of blood species using Raman spectroscopy combined with a recurrent neural network. *OSA Continuum*. 2021;4(2):672–687. doi: 10.1364/OSAC.416351 EDN: VQVFSY
- Liu J, Osadchy M, Ashton L, et al. Deep convolutional neural networks for Raman spectrum recognition: a unified solution. *Analyst*. 2017;142(21):4067–4074. doi: 10.1039/c7an01371j
- Zhang Y, Zhu L, Wang Y, et al. Classification of skin autofluorescence spectrum using support vector machine in type 2 diabetes screening. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. 2013;6(04). doi: 10.1142/S1793545813500363
- Al-Sammarraie SZ, Bratchenko LA, Tupikova EN, et al. Silver nanoparticles-based substrate for blood serum analysis under 785 nm laser excitation. *J of Biomed Phot & Eng*. 2022;8(1):010301. doi: 10.18287/JBPE22.08.010301 EDN: UHRZWG
- Al-Sammarraie SZ, Bratchenko LA, Tupikova EN, et al. Human blood plasma SERS analysis using silver nanoparticles for cardiovascular diseases detection. *J of Biomed Phot & Eng*. 2024;10(1). doi: 10.18287/JBPE24.10.010301 EDN: CVOJRT
- Zhao J, Lui H, McLean DI, Zeng H. Automated autofluorescence background subtraction algorithm for biomedical Raman spectroscopy. *Appl Spectrosc*. 2007;61(11):1225–1232. doi: 10.1366/000370207782597003
- Kucheryavskiy S. Mdatools — R package for chemometrics. *Chemom Intell Lab Syst*. 2020;198:103937. doi: 10.1016/j.chemolab.2020.103937 EDN: SMNQXA
- Bratchenko LA, Bratchenko IA. Avoiding Overestimation and the ‘Black Box’ Problem in Biofluids Multivariate Analysis by Raman Spectroscopy: Interpretation and Transparency With the SP-LIME Algorithm. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2024;56(4). doi: 10.1002/jrs.6764(2024)
- Kvalheim OM, Arneberg R, Bleie O, et al. Variable importance in latent variable regression models. *J Chemometrics*. 2014;28(8):615–622. doi: 10.1002/cem.2626
- Hedegaard MAB, Cloyd KL, Horejsa CM, Stevens MM. Model based variable selection as a tool to highlight biological differences in Raman spectra of cells. *Analyst (Cambridge, U. K.)*. 2014;139:4629–4633. doi: 10.1364/BOE.455549
- Thompson S, James M, Wiebe N, et al; Alberta Kidney Disease Network. Cause of Death in Patients with Reduced Kidney Function. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(10):2504–2511. doi: 10.1681/asn.2014070714 EDN: VFHDFN
- Collins AJ, Foley RN, Gilbertson DT, Chen SC. United States Renal Data System public health surveillance of chronic kidney disease and end-stage renal disease. *Kidney Int Suppl*. 2015;5(1):2–7. doi: 10.1038/kisup.2015.2
- Xie H, Zhang B, Xie M, Li T. Circulating metabolic signatures of heart failure in precision cardiology. *Precis Clin Med*. 2023;6(1):pbad005. doi: 10.1093/pcmedi/pbad005 EDN: RMUNAD
- Guo J, Rong Z, Li Y, et al. Diagnosis of chronic kidney diseases based on surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate analysis. *Laser Phys*. 2018;28(7):075603. doi: 10.1088/1555-6611/aabec5 EDN: YILQBV
- de Almeida ML, Saatkamp CJ, Fernandes AB, et al. Estimating the Concentration of Urea and Creatinine in the Human Serum of Normal and Dialysis Patients through Raman Spectroscopy. *Lasers Med Sci*. 2016;31:1415–1423. doi: 10.1117/1.jbo.21.3.037001 EDN: XZEUHF
- Bratchenko LA, Al-Sammarraie SZ, Tupikova EN, Konovalova DY. Analyzing the serum of hemodialysis patients with end-stage chronic kidney disease by means of the combination of SERS and machine learning. *Bio-medical Optics Express*. 2022;13(9):4926–4938. doi: 10.1364/BOE.455549 EDN: VWIPXC
- Huang Z, Feng S, Guan Q, et al. Correlation of surface-enhanced Raman spectroscopic fingerprints of kidney transplant recipient urine with kidney function parameters. *Sci Rep*. 2021;11(1):2463. doi: 10.1038/s41598-021-82113-7 EDN: TRLXMD
- Su X, Xu Y, Zhao H, et al. Design and preparation of centrifugal microfluidic chip integrated with SERS detection for rapid diagnostics. *Talanta*. 2019;194:903–909. doi: 10.1016/j.talanta.2018.11.014
- Zong M, Zhou L, Guan Q, et al. Comparison of Surface-Enhanced Raman Scattering Properties of Serum and Urine for the Detection of Chronic Kidney Disease in Patients. *Appl Spectrosc*. 2021;75(4):412–421. doi: 10.1177/0003702820966322 EDN: ZKKJUA

## ОБ АВТОРАХ

\* **Коновалова Дарья Юрьевна**, аспирант, каф. терапии Института профессионального образования с курсом функциональной диагностики;  
адрес: Россия, 443099, Самара, ул. Чапаевская, д. 89;  
ORCID: 0009-0002-2964-2675;  
eLibrary SPIN: 2059-9769;  
e-mail: snowflake0605@mail.ru

**Скуратова Мария Алексеевна**, ассистент, каф. терапии Института профессионального образования с курсом функциональной диагностики;  
ORCID: 0000-0002-0703-2764;  
eLibrary SPIN: 6774-6215;  
e-mail: skuratova\_m@mail.ru

**Лебедев Пётр Алексеевич**, д-р мед. наук, профессор, заведующий, каф. терапии Института профессионального образования с курсом функциональной диагностики;  
ORCID: 0000-0003-3501-2354;  
eLibrary SPIN: 8085-3904;  
e-mail: palebedev@yahoo.com

**Пименова Ирина Александровна**, магистрант, каф. лазерных и биотехнических систем;  
ORCID: 0009-0007-5185-0186;  
e-mail: pimenova.0312@list.ru

**Биктогирова Регина Ильдусовна**, студент;  
ORCID: 0009-0001-3768-9775;  
eLibrary SPIN: 5945-6660;  
e-mail: biktogirovaregina@gmail.com

## AUTHORS INFO

\* **Daria Yu. Konovalova**, postgraduate student, Depart. of Therapy of the Institute of Professional Education with a course of functional diagnostics;  
address: 89 Chapaevskaya st, Samara, Russia, 443099;  
ORCID: 0009-0002-2964-2675;  
eLibrary SPIN: 2059-9769;  
e-mail: snowflake0605@mail.ru

**Maria A. Skuratova**, Assistant Lecturer, Depart. of Therapy of the Institute of Professional Education with a course of functional diagnostics;  
ORCID: 0000-0002-0703-2764;  
eLibrary SPIN: 6774-6215;  
e-mail: skuratova\_m@mail.ru

**Petr A. Lebedev**, Dr. Sci. (Medicine), Professor, Head, Depart. of Therapy of the Institute of Professional Education with a course of functional diagnostics;  
ORCID: 0000-0003-3501-2354;  
eLibrary SPIN: 8085-3904;  
e-mail: palebedev@yahoo.com

**Irina A. Pimenova**, Master's student, Depart. of Laser and Biotechnical Systems;  
ORCID: 0009-0007-5185-0186;  
e-mail: pimenova.0312@list.ru

**Regina I. Biktogirova**, Student;  
ORCID: 0009-0001-3768-9775;  
eLibrary SPIN: 5945-6660;  
e-mail: biktogirovaregina@gmail.com

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author