

OPEN ACCESS

DOI 10.25040/ntsh2021.02.21

For correspondence: Danylo Halytsky
Lviv National Medical University, 69
Pekarska str., Lviv, Ukraine, 79010

E-mail: zimbaolena@gmail.com

Received: Sep, 13, 2021

Accepted: Nov, 23, 2021

Published online: Dec, 29, 2021



© Oleksiy Bashkirtsev,
Vitaliy Sagan, Vira
Gaevska, Olena Zimba,
2021

ORCID iDs

Oleksiy Bashkirtsev:

<https://orcid.org/0000-0002-0558-7555>

Vitaliy Sagan:

<https://orcid.org/0000-0003-0915-3612>

Vira Gaevska:

<https://orcid.org/0000-0002-6861-1970>

Olena Zimba:

<https://orcid.org/0000-0002-4188-8486>

Disclosures: the authors declared no conflict of interest.

Author Contributions

Conceptualization: Oleksiy Bashkirtsev,
Vitaliy Sagan, Vira Gaevska, Olena
Zimba;

Data collection and analysis: Oleksiy
Bashkirtsev, Vitaliy Sagan, Vira Gaevska,
Olena Zimba;

Writing an article: Vitaliy Sagan, Olena
Zimba;

**Editing and approving the final version of
the article:** Oleksiy Bashkirtsev, Vitaliy
Sagan, Vira Gaevska, Olena Zimba.

Ethical approval: This study complies
with the principles of the Declaration
of Helsinki, approved by the Ethics
Committee of the Edem Medical Center
(№3 from 1.08.2020). All participants
gave written informed consent to
participate in the study.

Funding: the authors declared no funding.

Biological age estimation based on heart rate variability: A pilot study

Oleksiy Bashkirtsev¹, Vitaliy Sagan^{2, 3}, Vira Gaevska^{1, 4},
Olena Zimba^{1, 5}

¹Department of Research and Innovation, Edem Medical Center,
Strilky, Ukraine

²National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv
Polytechnic Institute, Kyiv, Ukraine

³Mawi International, Clearwater, Florida, USA

⁴Department of Propedeutics of Internal Medicine N2, Danylo
Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

⁵Department of Internal Medicine N2, Danylo Halytsky Lviv
National Medical University, Lviv, Ukraine

Introduction. Biomarkers of biological age (BA) are essential for anti-aging research and practice because of their prediction of life expectancy, detection of premature aging, and estimation of anti-ageing programs' effectiveness.

The purpose of this study is a clinical validation of the method of biological age estimation based on the analysis of heart rate variability (HRV), artificial intelligence technologies, and biometric monitoring.

Methods. In 51 patients who received wellness and rehabilitation services in the medical center «Edem Medical», biological age was determined based on the analysis of HRV and machine learning algorithms. A comparison was made between the proposed method and other known methods of biological age estimation. Biological age estimation by physicians which is based on the Frailty Index was chosen as a reference method. The second method was DNA methylation age (DNAm PhenoAge). This method predicts biological age based on nine parameters of blood (albumin, creatinine, glucose, C-reactive

protein, lymphocytes [%], mean corpuscular volume [MCV], red cell distribution width [RDW], alkaline phosphatase, WBC count). Using the «leave one out» technique, an additional algorithm was created for approximating biological age in view of blood test parameters and ECG signals as input data. Morning HRV assessment was performed on empty stomach and after 10-minute rest in horizontal position. ECG was recorded using Mawi Vital multisensor device. The following statistical tests were used to reveal associations between different methods of biological age estimation: 1. bivariate correlation, 2. mean absolute error (MAE), 3. qualitative binary age estimation.

Results. All tested methods of BA evaluation were strongly correlated with the reference method (physician-determined age). HRV based approach was superior in comparison with other methods. In 9 out of 10 cases, the qualitative binary age assessment using HRV coincided with the reference method. The HRV method was the most accurate for biological age estimation (3.62 vs 12.62) based on MAE.

Conclusion. The method based on HRV is an affordable and convenient approach to biological age estimation. This method offers opportunities for early stratification of individuals at risk of

Розрахунок біологічного віку людини на основі варіабельності серцевого ритму: пілотне дослідження

Олексій Башкірцев¹, Віталій Саган^{2, 3}, Віра Гаєвська^{1,4}, Олена Зімба^{1, 5}

¹ Відділ науки та інновацій, Медичний центр «Едем Медікал», м. Стрілки, Україна

² Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», м. Київ, Україна

³ Mawi International, м. Кліруотер, Флорида, США

⁴ Кафедра пропедевтики внутрішньої медицини, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

⁵ Кафедра внутрішньої медицини №2, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

Вступ. Біомаркери біологічного віку (БВ) надзвичайно важливі для антиейджингової та превентивної медицини, бо можуть допомогти у прогнозуванні тривалості життя людини, виявленні ознак передчасного старіння і моніторингу ефективності антивікових програм.

Мета дослідження – клінічна валідація методу визначення біологічного віку людини на основі аналізу варіабельності серцевого ритму (ВСР), технологій штучного інтелекту та біометричного моніторингу.

Методи дослідження. У 51 пацієнта, які перебували на оздоровчих програмах медичного центру «Едем Медікал», було визначено біологічний вік на основі аналізу ВСР за алгоритмами машинного навчання. Проведено його порівняння з іншими відомими методами розрахунку біологічного віку. Референтним методом було обрано визначення біологічного віку лікарями на підставі розрахунку індексу слабкості (Frailty Index). Другим методом було обрано вік метилювання ДНК (DNAm PhenoAge), який прогнозує біологічний вік людини на основі 9 параметрів аналізу крові (альбумін, креатинін, глюкоза, С-реактивний протеїн, лімфоцити (%), середній об'єм еритроцитів, ширина розподілу еритроцитів, лужна фосфатаза, кількість лейкоцитів). Крім того, з використанням «leave one out» методики було створено додатковий алгоритм апроксимації оцінки біологічного віку людини за параметрами аналізів крові, що використовував сигнали ЕКГ як вхідні дані. Дослідження ВСР проводили в ранкові години, натще, після 10 хвилинного відпочинку в горизонтальному положенні згідно з загальноприйнятими рекомендаціями. Запис ЕКГ виконували за допомогою мультисенсорного приладу Mawi Vital. Для виявлення асоціацій між різними методами розрахунку біологічного віку були використані такі статистичні тести: 1) біваріальна кореляція; 2) середня арифметична помилка (САП); 3) якісна бінарна оцінка віку.

Результати. Усі перевірені методи визначення БВ у значній мірі корелювали з референтним методом (БВ визначеним лікарями). Проте метод визначення БВ на основі ВСР виявився кращим порівняно з іншими. У 9 з 10 випадків якісна бінарна оцінка віку за допомогою ВСР збігалася з еталоном порівняння (БВ визначений лікарями). На основі обчислення САП, оцінка

OPEN ACCESS

DOI 10.25040/ntsh2021.02.21

Адреса для листування: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, вул. Пекарська 69, Україна, 79010

І-пошта: zimbaolena@gmail.com

Надійшла до редакції: 13.09.2021

Прийнята до друку: 23.11.2021

Опублікована онлайн: 29.12.2021



© Олексій Башкірцев,
Віталій Саган, Віра
Гаєвська, Олена Зімба,
2021

ORCID iDs

Олексій Башкірцев:

<https://orcid.org/0000-0002-0558-7555>

Віталій Саган:

<https://orcid.org/0000-0003-0915-3612>

Віра Гаєвська:

<https://orcid.org/0000-0002-6861-1970>

Олена Зімба:

<https://orcid.org/0000-0002-4188-8486>

Конфлікт інтересів: автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

Особистий внесок авторів

Концепція: Олексій Башкірцев, Віталій Саган, Віра Гаєвська, Олена Зімба;

Збирання й аналізування даних: Олексій Башкірцев, Віталій Саган, Віра Гаєвська, Олена Зімба;

Написання статті: Віталій Саган, Олена Зімба;

Редагування та затвердження остаточного варіанту статті: Олексій Башкірцев, Віталій Саган, Віра Гаєвська, Олена Зімба.

Дозвіл комісії з біоетики щодо

проведення досліджень: Дане дослідження відповідає принципам Гельсінської декларації, схвалене Комітетом з етики Медичного центру «Едем Медікал» (протокол №3 від 1.08.2020). Усі учасники надали письмову інформовану згоду на участь в дослідженні.

Фінансування: автори декларують відсутність фінансування.

accelerated aging. It combines well with the paradigm of 3 P medicine which is based on Prevention, Prediction, and Personalized approach to each patient.

Keywords: biological age, chronological age, aging, heart rate variability, wearable electronic devices.

Introduction

The concept of biological age is extensively discussed in studies related to preventive and anti-aging medicine. Determining biological age allows detecting accelerated aging and comparing individuals' physiological reserve and functional status with their chronological age which is merely a time period. The assessment of biological age is essential for predicting life expectancy and coping with various stressors. Its dynamic estimation allows evaluating the efficiency of different anti-aging treatments.

To date, there are no universally applicable biomarkers of biological age. There are various approaches to its determination, including telomere length measurements [1], DNA methylation (DNAmAge) [2, 3], microbiome clock [4], and markers of cellular aging such as p16INK4a [5]. However, it is unknown which methods are the most accurate and relevant for clinical practice.

Li X et al. compared nine different methods of biological age estimation from molecular to functional level of the whole organism, and followed the lives of study participants over 20 years. It was found that all methods except telomere length may predict mortality risk independently of chronological age. The Frailty Index and one of the methylation clocks (GrimAge) were the most accurate mortality predictors. In joint models, two methods for estimating biological age by DNA methylation (Horvath and GrimAge) and the Frailty Index proved prognostic, reflecting their complementarity [6]. According to this study, the most promising approaches to the assessment of biological age were age estimation by DNA methylation and the Frailty Index.

In the era of digitization and digital transformation of the society, fundamentally new approaches to health monitoring are proposed. Artificial intelligence (AI), big data science, and processing of personal mobile devices (smartphones, smart watches,

smart glasses, medical devices) facilitate clinical thinking and improved decision making. Numerous accurate tests are now available to monitor human bioparameters (ECG, heart rate and respiration, oxygen saturation, temperature, blood glucose levels, etc.).

Combining the use of mobile devices for reading human biodata with artificial intelligence and neural network models with machine learning algorithms may open new avenues for exploring biomarkers of biological age.

ECG parameters, particularly HRV indices such as SDNN and RMSSD, differ across different age groups by revealing various aging patterns. The HRV indices are corrected for intervals between normal heartbeats (NN). HRV patterns reflect autonomous regulation of the cardiovascular system and the whole body. HRV decreases with age independently of established cardiovascular disease. According to Russoniello C.V. et al., maximal variation in heart rate is negatively correlated with age ($r = -0.67$) [7]. Importantly, discrepancies between ECG-based and chronological age estimates may independently predict enhanced risk of all-cause and cardiovascular mortality [8].

Based on available data, it is hypothesized that HRV parameters in an individual may point to characteristic age-related features and discrepancies between HRV and chronological age estimates.

Using datasets of tens of thousands of daily ECGs of all subject age and gender groups, the Mawi Band team (<https://mawi.band/>) that is specialized in the development of medical devices with artificial intelligence conducted a study of the relationship between ECG and human age and created a number of algorithms for estimating human biological age. Several potential aging (bio)markers were tested, including untreated ECG fiducial markers (QT variability), HRV-related parameters such as standard deviation of NN (SDNN) intervals,

біологічного віку пацієнтів за VCP алгоритмами машинного навчання виявилась найточнішою з усіх алгоритмів обчислення біологічного віку (3.62 проти 12.62).

Висновок. Метод визначення біологічного віку на основі VCP – доступний і зручний підхід до біологічного оцінювання віку. Цей метод відкриває можливості для своєчасного виявлення осіб з високим ризиком прискороеного старіння і добре поєднується з парадигмою 3 П медицини, яка охоплює превенцію, предикцію та персоніфікований підхід до кожного пацієнта.

Ключові слова: біологічний вік, хронологічний вік, старіння, варіабельність серцевого ритму.

Концепція біологічного віку людини широко дискутується у дослідженнях, які пов'язані з превентивною та антивейджинг медициною. Визначення біологічного віку дає змогу виміряти прискорене біологічне старіння організму, вказує на його фізіологічний резерв і функціональний статус на відміну від хронологічного віку, який зумовлений лише плином часу. Оцінка біологічного віку важлива для прогнозування тривалості життя, стійкості до різноманітних стресових чинників. А його визначення у динаміці допомагає об'єктивно оцінити ефективність різних програм антивейджингової медицини.

Сьогодні немає єдиного загально визнаного універсального біомаркера біологічного віку людини. Існують різні підходи до його визначення, серед яких оцінка змін довжини теломер хромосом [1], метилювання ДНК (DNAmAge) [2, 3], мікробіомний годинник [4], маркери клітинного старіння, зокрема p16INK4a [5] та багато інших. Проте невідомо, який з методів визначення біологічного віку найточніший і релевантний для клінічної практики.

Li X et al порівнювали дев'ять різних методів визначення біологічного віку людини, від молекулярного до оцінки функціонального рівня цілого організму, з відстежуванням життя учасників дослідження протягом 20 років, що дало їм змогу вивчити характеристики біологічного віку на рівні молекулярних і функціональних аспектів. Було з'ясовано, що всі методи, крім довжини теломер, можуть слугувати предикторами ризику смерті незалежно від хронологічного віку. У цьому випадку Frailty Index (Індекс слабкості) та один із годинників метилювання (GrimAge) були найточнішими предикторами смерті. У спільних моделях два методи оцінки біологічного віку за метилюванням ДНК (Horvath та GrimAge) та Frailty Index залишалися прогностични-

ми, що свідчить про їх взаємодоповнення у прогнозуванні смерті [6]. Відповідно до отриманих результатів у цьому дослідженні найбільш перспективними підходами до оцінки біологічного віку виявились визначення віку метилювання ДНК та Frailty Index.

В епоху діджиталізації та цифрової трансформації суспільства сформувалися принципово нові підходи до моніторингу здоров'я. На поміч мисленню лікарю прийшов штучний інтелект (AI, artificial intelligence), наука про дані (data science), яка оперує великими даними (big data), які можна отримати від різних персональних мобільних пристроїв (смартфонів, смарт-годинників, смарт-окулярів, медичних приладів), що здатні відстежувати різні біопараметри людини (ЕКГ, частоту серцевих скорочень і дихання, кисневу сатурацію, температуру, рівень глюкози крові тощо).

Поєднання потенціалу мобільних приладів щодо зчитування різних біоданих людини з технологіями штучного інтелекту, застосуванням моделей нейронних мереж та алгоритмів машинного навчання, може дати змогу створити принципово нові біомаркери біологічного віку.

Добре відомо, що параметри ЕКГ людини, зокрема індекси VCP, такі як SDNN та RMSSD, відрізняються між різними віковими групами і мають чіткі патерни змін пов'язаних зі старінням. Індекси варіабельності серцевого ритму підраховують за даними про NN-інтервали електрокардіограми людини – інтервалами між нормальними серцевими скороченнями. Аналіз характеру VCP дає важливу інформацію про стан автономної регуляції серцево-судинної системи й організму в цілому. З віком, навіть без серцево-судинних захворювань, спостерігається зниження VCP. За даними Russoniello C.V. і співавторів, максимальна варіація часто-

low-frequency (LF), and high-frequency (HF) components of the heart rate spectrum. The analytical validation of these markers was performed using long-term ECG recordings by medical cardiographs and wearable devices [9]. The resultant machine learning algorithms which rely on large ECG data of diverse age groups can be employed to non-invasively estimate biological age of an individual recorded as a convenient aggregate metric of body aging.

Any new biometric monitoring technology undergoes three-component-phased examination that includes verification and analytical and clinical validation [9]. The aims of this study were: 1. clinical validation of an algorithm for determining biological age by ECG signals as input data; 2. comparing it with existing methods, namely the calculation of biological age by physicians based on the weakness index (Frailty Index; reference method) and the biomarker of DNA methylation (DNAm PhenoAge).

Material and Methods

We enrolled 51 patients who were on health programs at the Medical Center «Edem Medical» in September-October 2020. The inclusion criteria were age above 18 years and availability of informed consent. The exclusion criteria included established coronary heart disease, arrhythmias

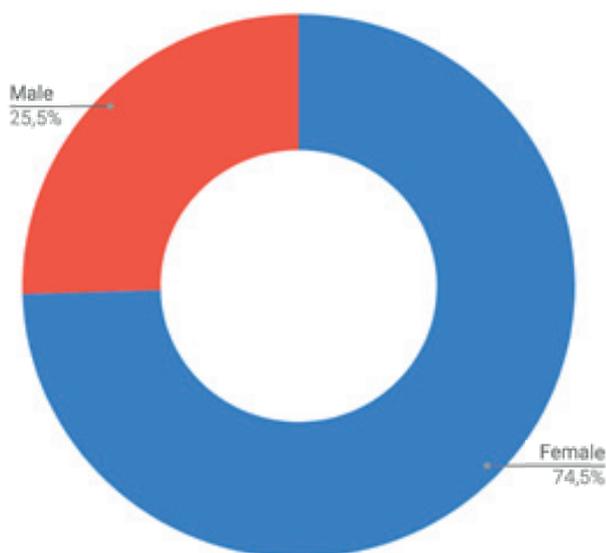


Figure 1. Distribution of patients by sex

and conduction disturbances, heart failure, pregnancy, β -blocker therapy. The enrolled subjects age and gender distribution is presented

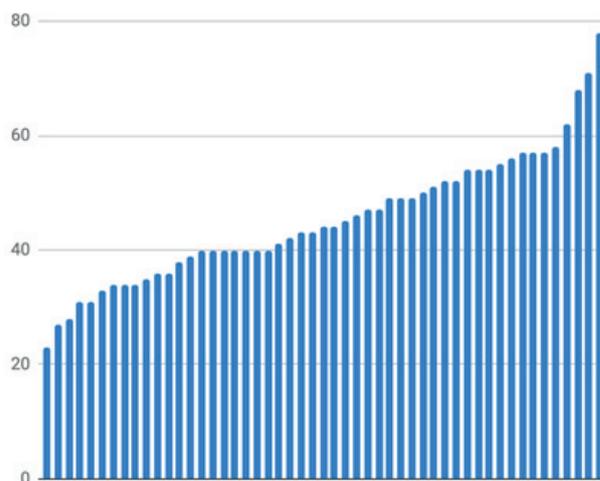


Figure 2. Distribution of the patient by age

in fig. 1 and fig. 2. ECG signals were recorded using multisensory medical Mawi Vital device (<https://mawi.band/vital>), European Medical Device (CE) Conformity Assessment, with simultaneous measurement of blood saturation by oxygen, blood pressure and temperature by means of this device. The HRV recording was performed in the morning on an empty stomach after 10-minute rest in horizontal position.

Bood sampling was performed to determine albumin, creatinine, glucose, C-reactive protein, lymphocytes (%), mean erythrocyte volume, erythrocyte distribution width, alkaline phosphatase, leukocyte count. These 9 laboratory parameters along with chronological age were used to calculate the biomarker DNAm PhenoAge which predicts the phenotypic age of an individual. PhenoAge DNAm was calculated according to a widely employed method [2].

The assessment of biological age by doctor was based on the calculation of the weakness index (42-item Rockwood-based frailty index) [11].

The following methods of biological age estimation were compared:

1. The Frailty Index by doctors [11];
2. Machine learning algorithms by ECG signals [9];
3. DNAm PhenoAge by blood analyses [2];
4. Approximation of DNAm PhenoAge algorithm by ECG signals by leave one out method.

The following variables were used to compare the above-listed algorithms:

ти серцевих скорочень має найвищу негативну кореляцію ($r = -0,67$) з віком [7].

Ба більше, за даними деяких досліджень, різниця між ЕКГ-віком і хронологічним віком є незалежним предиктором зростання ризику смерті від усіх причин та серцево-судинної смерті [8].

На підставі існуючих досліджень була сформована гіпотеза, що за параметрами ВСП конкретної людини можна оцінити два важливі моменти: 1) для людей якого віку ця ВСП найбільш характерна; 2) чи відповідає визначений вік на основі ВСП людини її хронологічному віку чи навпаки – старший або молодший за нього.

З використанням великого датасету з десятків тисяч добових кардіограм людей різного віку та статі, команда компанії Mawi Band <https://mawi.band/>, яка спеціалізується на розробці медичних приладів на основі штучного інтелекту, провела дослідження взаємозв'язків між ЕКГ і віком людини, створила низку алгоритмів для оцінки біологічного віку людини. Було верифіковано кілька потенційних біомаркерів старіння, враховуючи фідуціарні маркери необробленого сигналу ЕКГ (мінливість QT), характеристики варіабельності серцевого ритму, а саме стандартні відхилення інтервалів NN (SDNN), низькочастотні (LF) та високочастотні (HF) компоненти спектра серцевого ритму, які продемонстрували високі кореляції з хронологічним віком. Була проведена аналітична валідація зазначених маркерів для довготривалих записів ЕКГ за допомогою медичних кардіографів і короткотривалих записів з використанням переносних пристроїв [9]. Ці алгоритми машинного навчання треновані на даних сигналів ЕКГ великої кількості різних людей можна використовувати для визначення біологічного віку людини як зручної агрегованої метрики оцінки старіння організму. Створений метод оцінки біологічного віку неінвазійний, безпечний, доступний і зручний у виконанні.

Будь-яка нова технологія біометричного моніторингу має пройти трикомпонентну етапну експертизу, яка охоплює верифікацію, аналітичну валідацію, і нарешті, клінічну валідацію [9]. Отже, мета цього дослідження:

1) клінічна валідація алгоритму визначення біологічного віку людини, який використовує сигнали ЕКГ як вхідні дані; 2) порівняння його з іншими існуючими методами, а саме з розрахунком біологічного віку лі-

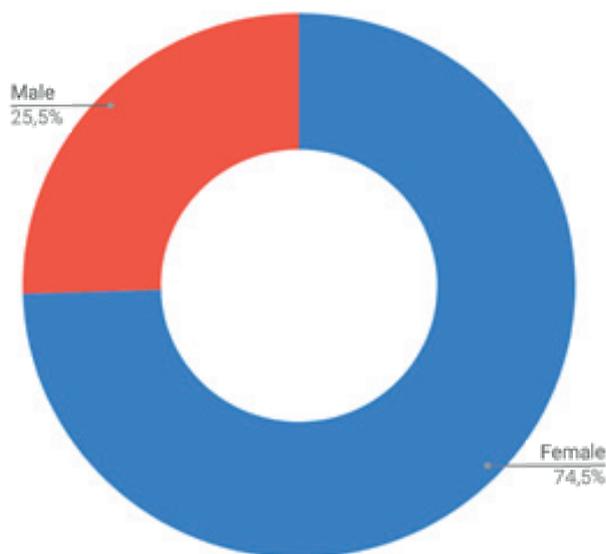


Рисунок 1. Розподіл пацієнтів за статтю

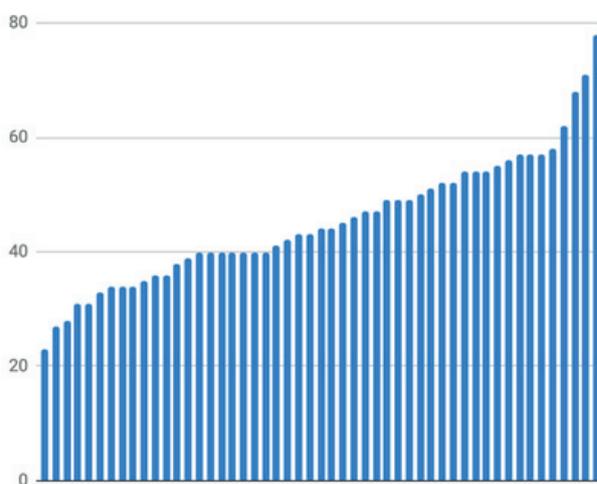


Рисунок 2. Розподіл пацієнтів за віком

карями на основі індексу слабкості (Frailty Index), який був вибраний як еталон порівняння (референтний метод), та біомаркером метилювання ДНК (DNAm PhenoAge).

Матеріал та методи дослідження

У цьому дослідженні взяли участь 51 пацієнт, що перебували на оздоровчих програмах у медичному центрі «Едем Медікал» у вересні-жовтні 2020 року. Критеріями вклю-

1. Bivariate correlation;
2. Mean absolute error (MAE);
3. Qualitative binary assessment of age.

This study complies with the principles of the Declaration of Helsinki, and it is approved by the Ethics Committee of the Medical Center «Edem Medical» (Minutes №3 from 1.08.2020). All subjects gave written informed consent to participate in the study.

Results

A set of parameters for assessing biological age was formed for each participant:

1. Assessment of biological age by a doctor based on the calculation of the weakness index - ARef
2. Estimation of biological age by an algorithm using blood tests - ABlood
3. Estimation of biological age of the person on an ECG - aECG
4. Estimation of biological age by an algorithm that approximates an algorithm that uses blood tests - aECGBlood
5. Two additional methods for assessing biological age by ECG - aECG2 and aECG3

1. Analysis of the indicator using blood tests, creating an indicator aECGBlood

The PhenoAge DNAm index from the well-known study An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan was selected for the analysis of biological age by blood parameters [2]. It was chosen for use because of the significant scientific impact of this article and its relative simplicity in calculation. For ease of comparison, the value of this indicator for this article will be called ABlood. The formula for calculating the indicator can be represented as a linear combination of values of blood indicators and chronological age of the person:

$$ABlood = F (A * Blood + B * Age + C)$$

where A and Blood are the vectors of the values of regression coefficients and values of blood tests.

The components were labeled as follows:

$$ABlood = F (PC + AC)$$

where PC = A * Blood, Physical Condition, and AC = B * Age + C, Age Coefficient

When analyzing the data obtained in this study, we concluded that the PC contains information about an individual's body, and one of the methods for assessing biological age may be the assessment of PC by ECG and subsequent use of PCE (Physical Condition) ECG) to obtain the AEB (Age ECG - Blood Estimation):

$$aECGBlood = F (PCE + AC)$$

A prototype of this indicator was proposed using the collected subjects' data. The possibility of using different types of algorithms was tested. In order to avoid retraining the model on the data, the calculation of PCE scores was performed according to the method of Leave one out:

- Some of the participants in the experiment were recorded;
- The fixed structure model was studied on the data of other people;
- The trained model was used to estimate the value of PCE for a fixed person;
- The data of the examined individual were not used in training, and at the same time, the use of all other data allowed to maximize the accuracy of the algorithm.

The algorithm described above was applied to each participant. The value of the indicator aECGBlood was formed.

According to the comparison of reference age and age of the indicators, it is obvious that the indicator ABlood is lower than the value of Aref in all cases.

We analyzed how strongly the variability of this indicator is influenced by blood tests. For each subject, value of this indicator was calculated, provided blood test parameters cease to be personalized and are replaced by an average value of these parameters for the entire test group. The purpose of this experiment is to create a method for evaluating the aECGBlood method as an approximation of ABlood. In the absence of a reference (ABlood without blood tests), the results of comparing aECGBlood and ABlood would be extremely difficult to evaluate qualitatively.

The indices were compared in more detail by correlating them (Table 1). ABlood has been found to have a number of disadvantages. It is highly dependent on chronological age and always results in biological age values lower than chrono-

чення в дослідження були вік > 18 років та інформована згода пацієнта. Критеріями виключення були ішемічна хвороба серця, порушення серцевого ритму та провідності, серцева недостатність, вагітність, прийом β-блокаторів. Розподіл пацієнтів за статтю і віком зображений на рис. 1 і 2.

Сигнали ЕКГ були записані за допомогою мультисенсорного медичного девайсу Mawi Vital <https://mawi.band/vital>, що пройшов оцінку відповідності до стандартів медичних пристроїв Європи (Medical CE), з одночасним вимірюванням сатурації крові киснем, кров'яного тиску та температури за допомогою цього приладу. Дослідження BCP проводили в ранкові години, натще, після 10 хвилинного відпочинку в горизонтальному положенні згідно з загальноприйнятими рекомендаціями.

У кожного пацієнта під час поступлення проведений забір крові для визначення альбуміну, креатиніну, глюкози, С-реактивного протеїну, лімфоцитів (%), середнього об'єму еритроцитів, ширини розподілу еритроцитів, лужної фосфатази, кількості лейкоцитів. Ці 9 лабораторних показників, а також десятий – хронологічний вік були використані для розрахунку біомаркеру DNAm PhenoAge, який прогнозує фенотиповий вік людини. Обчислення DNAm PhenoAge проводили згідно з загальновідомою методикою [2].

Оцінка біологічного віку лікарем була проведена на основі розрахунку індексу слабкості (42-item Rockwood-based frailty index) [11].

В основі дизайну цього дослідження було порівняння таких методів визначення біологічного віку.

1. Оцінка біологічного віку лікарями за допомогою індексу слабкості (frailty index) [11].
2. Оцінка біологічного віку пацієнтів за сигналом ЕКГ алгоритмами машинного навчання [9].
3. Алгоритм для оцінки біологічного віку за аналізом крові DNAm PhenoAge [2].
4. Апроксимацію алгоритму DNAm PhenoAge за сигналом ЕКГ за leave one out методикою.

Для порівняння вищезазначених алгоритмів були використані такі метрики.

1. Біваріальна кореляція.

2. Середня арифметична помилка (САП).
3. Якісна бінарна оцінка віку.

Таке дослідження відповідає принципам Гельсінської декларації, схвалене Комітетом з етики медичного центру «Едем Медікал» (протокол №3 від 01.08.2020). Усі учасники надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

Результати

В результаті дослідження для кожного учасника було сформовано набір параметрів оцінки біологічного віку, а саме:

1. оцінка біологічного віку лікарем на основі розрахунку індексу слабкості – ARef;
2. оцінка біологічного віку алгоритмом, що використовує аналізи крові – ABlood;
3. оцінка біологічного віку людини за ЕКГ – aECG;
4. оцінка біологічного віку алгоритмом, що апроксимує алгоритм, який використовує аналізи крові – aECGBlood;
5. два додаткових методи оцінки біологічного віку за ЕКГ – aECG2 та aECG3.

1. Аналіз показника, що використовує аналізи крові, створення показника aECGBlood

Для аналізу біологічного віку за параметрами крові було обрано індекс DNAm PhenoAge з відомого дослідження An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan [2]. Він був обраний для використання через значний науковий вплив цієї статті та відносну простоту в обчисленні. Для зручності порівняння, значення цього показника для цієї статті називатимемо ABlood. Формулу обчислення показника можна зобразити як лінійну комбінацію значень показників крові та хронологічного віку людини:

$$ABlood = F(A * Blood + B * Age + C),$$

де A та Blood – вектори значень коефіцієнтів регресії та значень аналізів крові.

Компоненти були позначені так:

$$ABlood = F(PC + AC).$$

Тут PC = A * Blood, значення Physical Condition, а AC = B * Age + C, значення Age Coefficient.

Під час аналізу даних, отриманих у цьому дослідженні, дійшли висновку про те, що саме PC містить інформацію про стан ор-

Table 1

Correlation analysis of ABlood

Correlation between different methods	Value	Comment
ABlood and chronological age	0.93	Quite a high value
ABlood without blood tests and chronological age	0.96	High value, which, however, is not equal to 1 due to the peculiarities of the calculation formula and is extremely close to ABlood
ABlood and ABlood without blood tests	0.93	Very high value, taking into account that one of the indicators takes into account only the chronological age
ABlood and aECGBlood	0.95	Accordingly, our approximation is correct - it correlates much more strongly with ABlood than ABlood without blood tests, and therefore reflects the real relationship between ECG parameters and blood tests

Reference Age & Blood Age

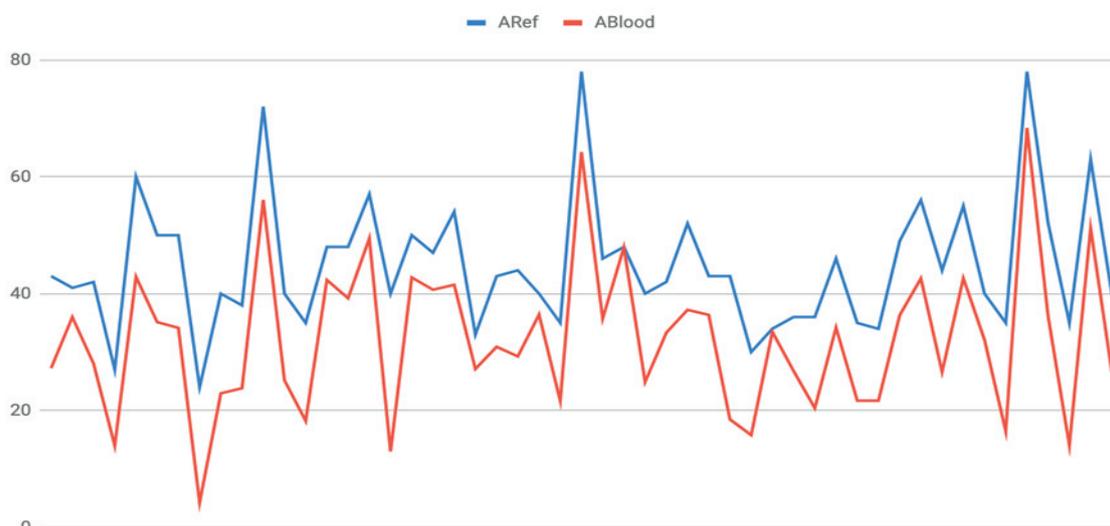


Figure 4. Comparison of aECGBlood and ABlood. Different participants of the study are placed on the horizontal axis. Vertically - the corresponding values obtained for them in years

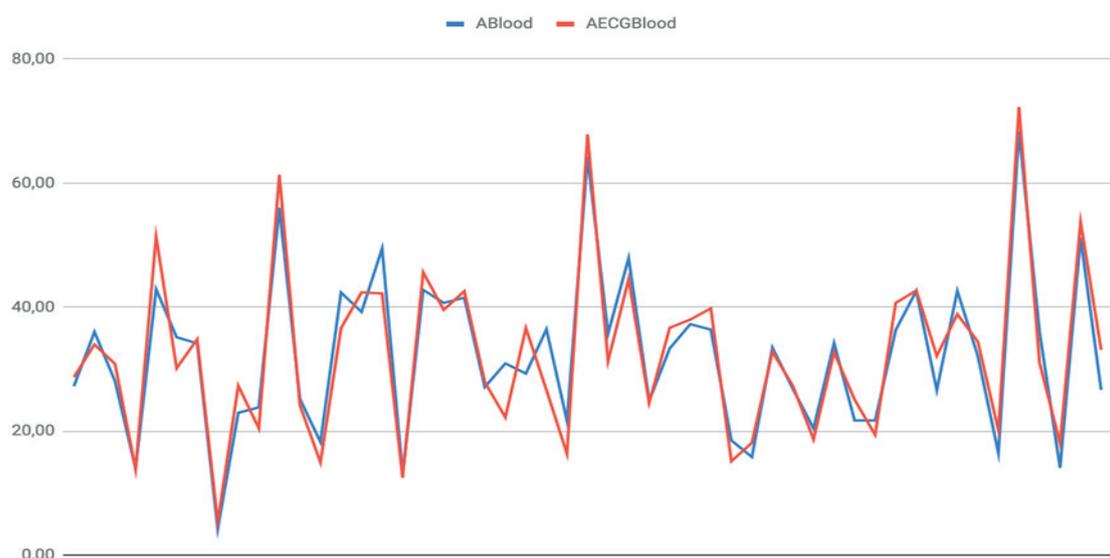


Figure 5. Comparison of the reference age and the ABlood indicator. Different participants of the study are placed on the horizontal axis. Vertically - the corresponding values obtained for them in years

ганізму пацієнта, а отже, одним із методів оцінки біологічного віку людини може бути оцінка PC через ЕКГ і подальше використання отриманого показника PCE (Physical Condition ECG) для отримання показника АЕВ (Age ECG – Blood Estimation):

$$aECGBlood = F(PCE + AC)$$

Прототип цього показника було створено з використанням зібраних даних пацієнтів. Було перевірено можливість використання алгоритмів різних типів для вирішення цієї задачі. Задля виключення перенавчання моделі на даних підрахунок оцінок PCE виконувався за методикою Leave one out:

- фіксувався деякий з учасників експерименту;
- модель фіксованої структури навчалася на даних решти людей;
- навчена модель використовувалася для оцінки значення PCE для зафіксованої особи.

Отже, дані зафіксованої особи не були використані у навчанні, проте використання всіх інших даних допомагало максимізувати точність роботи алгоритму.

Алгоритм, описаний вище, було застосовано для кожного учасника. Отож було сформовано значення показника aECGBlood.

Відповідно до порівняння референтного віку та віку за показниками очевидно, що показник ABlood у всіх випадках нижчий за значення ARef.

Ми провели аналіз, наскільки сильно на варіативність цього показника впливають аналізи крові пацієнтів. Для цього для кожного пацієнта було підраховано, яким було

б значення цього показника за умови, що його параметри аналізів крові перестають бути персоніфікованими й замінюються на середнє значення цих параметрів для усієї тестової групи.

Мета цього експерименту – створити методологію для оцінки методу aECGBlood як апроксимації ABlood. За відсутності референсу (ABlood без аналізів крові) отримані результати порівняння aECGBlood та ABlood було б вкрай важко оцінити якісно.

Індекси було порівняно детальніше, шляхом підрахунку кореляції між показниками (табл. 1).

Було з'ясовано, що показник ABlood має низку недоліків. Він дуже сильно залежить від хронологічного віку людини та завжди прогнозує, що біологічний вік нижчий за хронологічний, на відміну від усіх інших методів та оцінки BRef.

Показники ABlood та aECGBlood дуже близькі, тож показник aECGBlood є вкрай успішним методом неінвазивної апроксимації ABlood.

Отже, було виявлено такі закономірності (рис. 4-6):

- А) Алгоритм ABlood оцінив біологічний вік всіх учасників експерименту як нижчий за реальний.
- Б) Апроксимація алгоритму ABlood з використанням ЕКГ (aECGBlood) значно сильніше позитивно корелює з ABlood, ніж ABlood без аналізів крові. Це свідчить про те, що така апроксимація є коректною.

Таблиця 1

Кореляційний аналіз ABlood

Кореляція між різними методами	Значення	Коментар
ABlood та хронологічним віком	0,93	Досить високе значення
ABlood без аналізів крові та хронологічним віком	0,96	Високе значення, яке проте не дорівнює 1 через особливості формули підрахунку та є вкрай близьким до ABlood
ABlood та ABlood без аналізів крові	0,93	Дуже високе значення, беручи до уваги, що в одному з показників враховано лише хронологічний вік
ABlood та aECGBlood	0,95	Відповідно до цього, наша апроксимація є коректною – вона значно сильніше корелює з ABlood, ніж ABlood без аналізів крові, а отже, відображає реальний взаємозв'язок між параметрами ЕКГ та аналізів крові

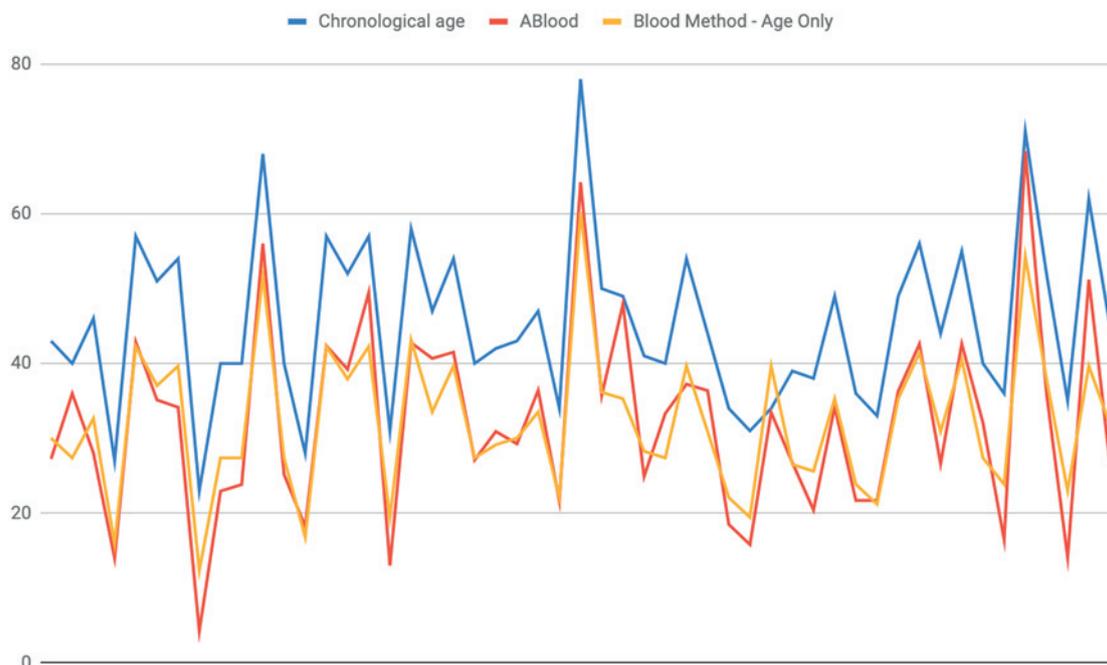


Figure 6. Comparison of chronological age, ABlood index and modified ABlood index, which does not take into account blood counts. Different participants of the study are placed on the horizontal axis. Vertically - the corresponding values obtained for them in years

logical ones, unlike all other methods and estimation of BRef. ABlood and aECGBlood are very close, so aECGBlood is a very successful method of non-invasive approximation of ABlood.

To sum up, the following patterns were identified (fig. 4-6):

- A) The ABlood algorithm estimated the biological age of all participants in the experiment as lower than the real one.
- B) Approximation of the ABlood algorithm using ECG (aECGBlood) is more positively correlated with ABlood than ABlood without blood tests. This indicates that this approximation is correct.

2. Analysis of ECG-based biological age indices not related to ABlood

The three previously developed models of estimating biological age by ECG signal were tested on the data collected in this study. For convenience, they were named aECG, aECG2 and aECG3.

Analysis of the graphs shown in Figures 7-9 suggests that they are quite close to the assessment of biological age by physician. Also, after a visual comparison, we can assume that the first method is more accurate than the others.

3. Comparison of biological age indices

This section is the most important for the interpretation of the results of the study, because it compares different methods of assessing biological age. In all cases, the results for ABlood and its evaluation of aECGBlood were very close, so aECGBlood was not singled out in the comparisons.

Biological age assessment methods were compared by constructing correlations between them and the target value of ARef. According to it, we see that all algorithms are quite close in terms of the values of this indicator, but the leaders are still the evaluation of blood tests ABlood and the method of evaluation by ECG aECG (Table 2).

Table 2

Correlation analysis of different methods of determining the biological age of a person with the assessment of biological age by a doctor

Method	Correlation
ABlood	0.911
aECGBlood	0.906
aECG	0.902
aECG2	0.877
aECG3	0.885

Reference Age & Blood Age

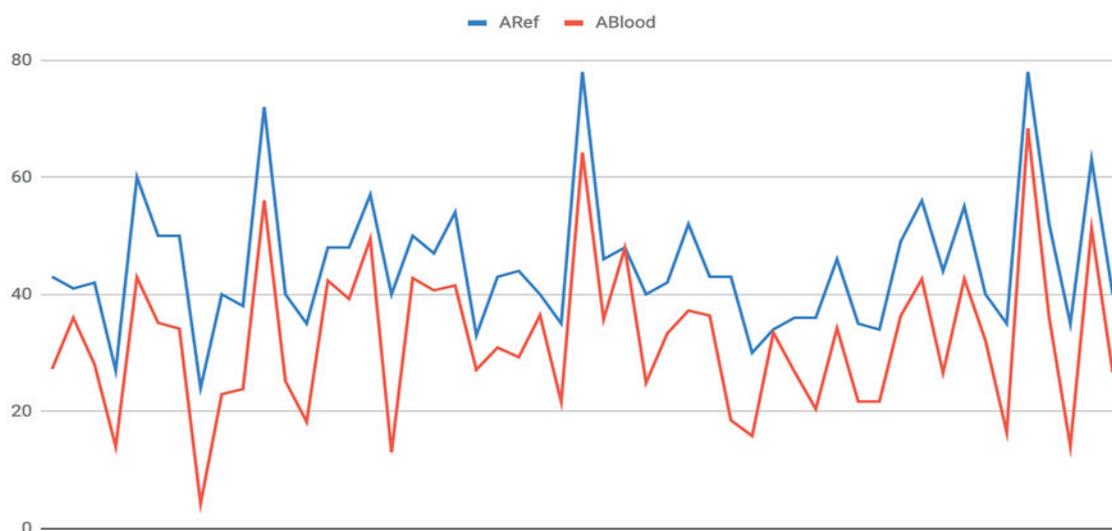


Рисунок4. Порівняння показника аECGBlood та показника ABlood. За горизонтальною віссю розміщені різні учасники дослідження. За вертикальною – відповідні отримані для них значення в роках

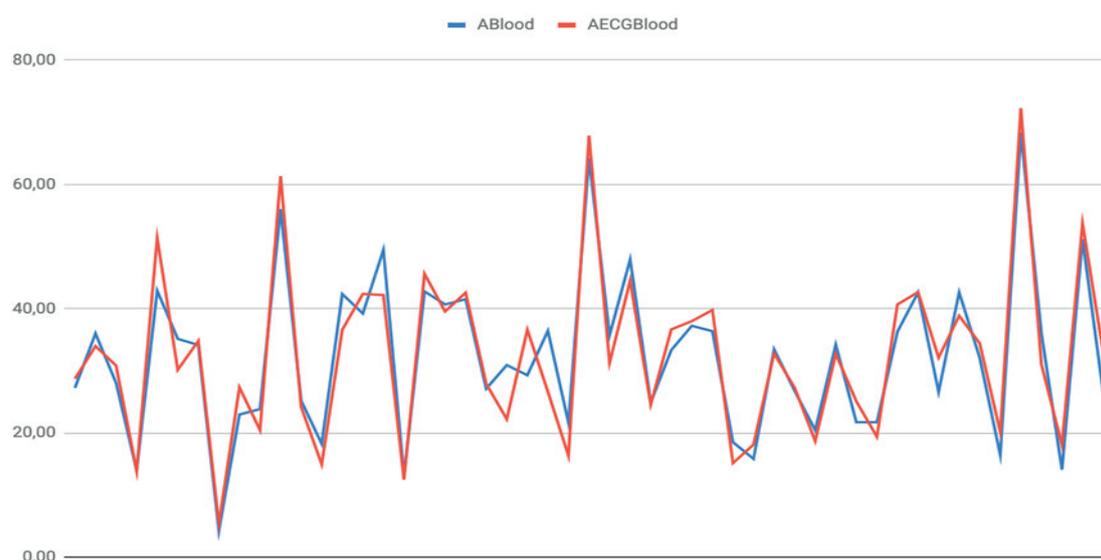


Рисунок5. Порівняння референсного віку та показника ABlood. За горизонтальною віссю розміщені різні учасники дослідження. За вертикальною – відповідні отримані для них значення в роках

2. Аналіз індексів біологічного віку, заснованих на ЕКГ, що не пов'язані з ABlood

Три найкращі створені раніше моделі оцінки біологічного віку за сигналом ЕКГ було перевірено на даних, зібраних у цьому дослідженні. Для зручності їх назвали аECG, аECG2 та аECG3.

Аналіз графіків, зображених на рис. 7-9, дає підстави припустити, що вони досить близькі до оцінки біологічного віку ліка-

рями. Також після візуального порівняння можна припустити, що перший метод точніший за інші.

3. Порівняння індексів біологічного віку

Цей розділ найважливіший для інтерпретації результатів дослідження, адже в ньому наведено порівняння різних методів оцінки біологічного віку. В усіх випадках результати для показника ABlood та його оцінки аECGBlood виявились дуже близькими, тому

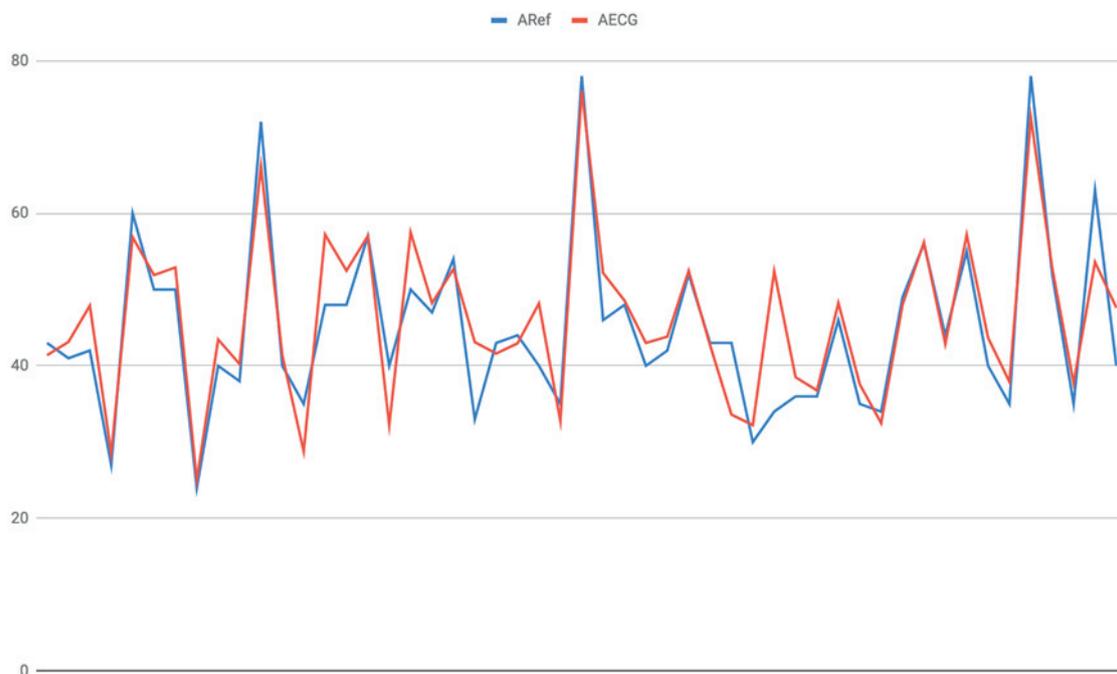


Figure 7. Comparison of the operation of the aECG method with Reference data ARef. Different participants of the study are placed on the horizontal axis. Vertically - the corresponding values obtained for them in years

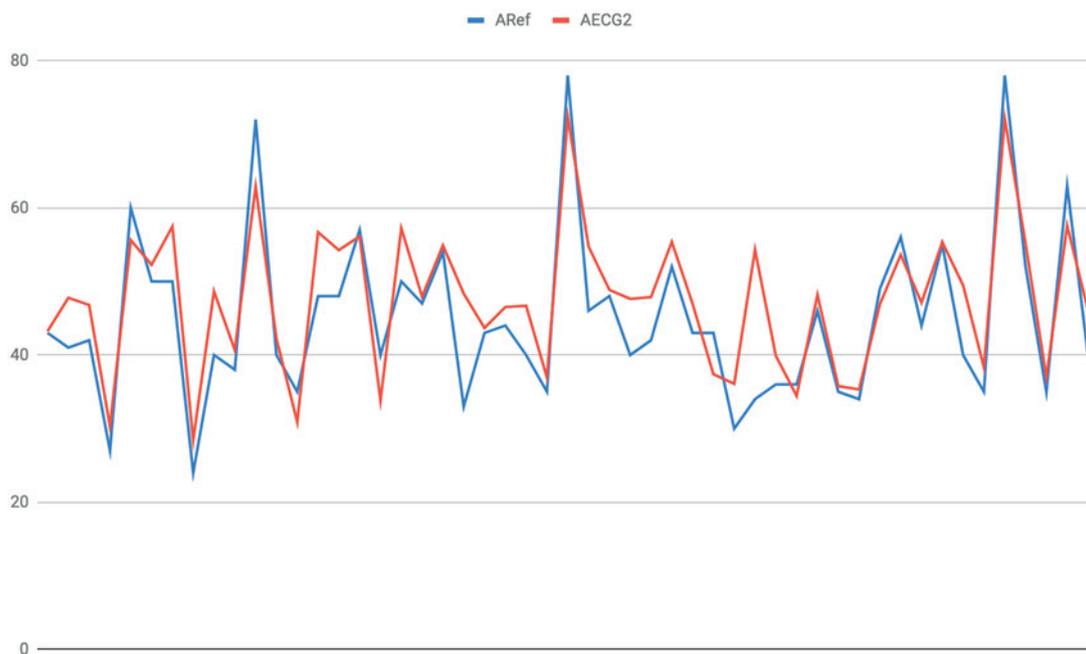


Figure 8. Comparison of the aECG2 method with Reference data ARef. Different participants of the study are placed on the horizontal axis. Vertically - the corresponding values obtained for them in years

However, correlation cannot be used as the main quantitative metric in this analysis. Instead, the most common average error used to analyze the regression (approximation) of medical indicators was chosen as the main metric. It helps to understand how strong the

discrepancy between the estimate and the actual value is without taking into account the direction of the discrepancy. It is calculated as the average value of the deviation of the parameter estimate and its real value taken modulo.

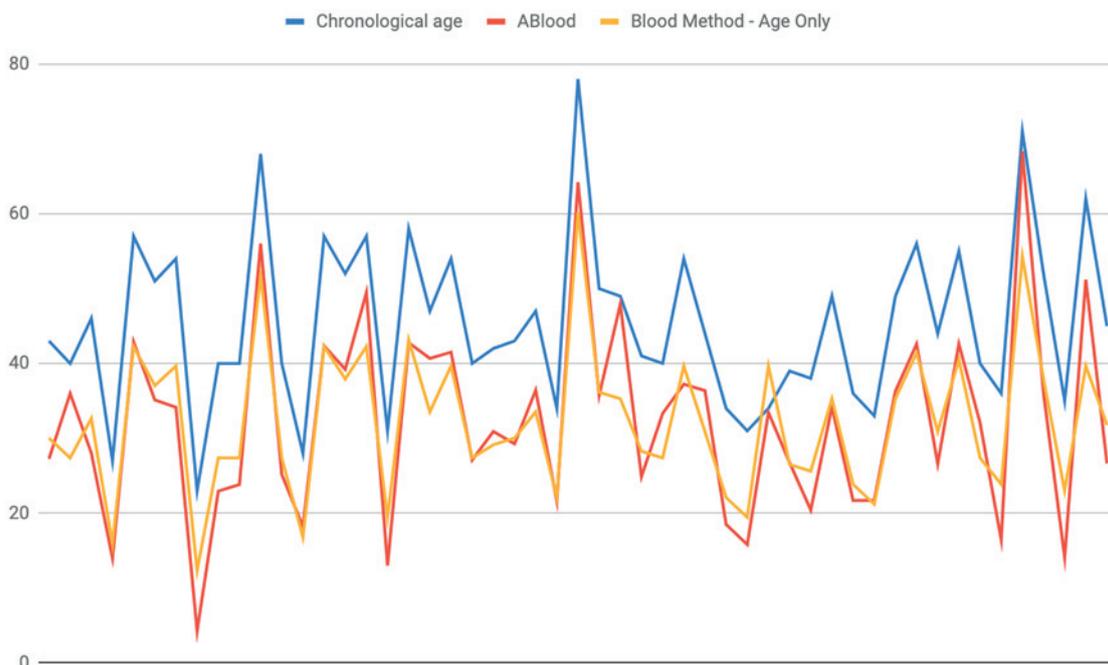


Рисунок 6. Порівняння хронологічного віку, показника ABlood та модифікованого показника Ablood, що не бере до уваги показники крові. За горизонтальною віссю розміщені різні учасники дослідження. За вертикальною – відповідні отримані для них значення в роках

aECGBlood не був окремо виділений у порівняннях.

Методи оцінки біологічного віку порівнювали шляхом побудови кореляцій між ними та цільовим значенням ARef. Відповідно до неї ми бачимо, що усі алгоритми досить близькі за значеннями цього показника, однак лідерами все ж є оцінка за аналізами крові ABlood та метод оцінки за ЕКГ aECG (табл. 2).

Таблиця 2

Кореляційний аналіз різних методів визначення біологічного віку людини з оцінкою біологічного віку лікарем

Метод	Кореляція
ABlood	0,911
aECGBlood	0,906
aECG	0,902
aECG2	0,877
aECG3	0,885

Однак кореляція як метрика не є репрезентативною, її не можна використовувати як основну кількісну метрику у цьому аналізі. Замість цього, як основну метрику,

було обрано найбільш часто вживану для аналізу задач регресії (апроксимації) медичних показників середню абсолютну помилку. Вона допомагає зрозуміти, наскільки сильною є розбіжність між оцінкою та реальним значенням без урахування напряму розбіжності та використовується повсюдно. Вона розраховується як середнє значення відхилення оцінки параметра та його реального значення взятого за модулем.

Отримані результати свідчать про те саме, про що й аналіз графіків з попередніх розділів. Методи аналізу даних за ЕКГ демонструють значно нижчі значення середньої помилки, ніж ABlood (табл.3).

Таблиця 3

MAE для оцінок біологічного віку та reference значень

Метод	MAE
ABlood	12,62
aECGBlood	12,43
aECG	3,62
aECG2	4,70
aECG3	3,90

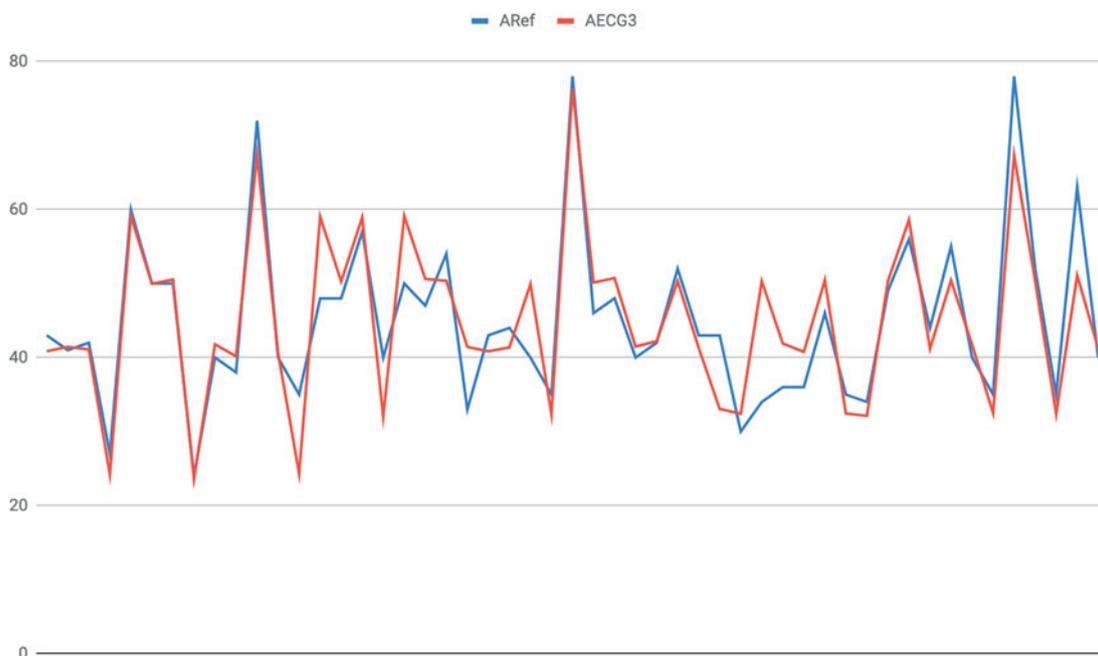


Figure 9. Comparison of the aECG3 method with Reference data ARef. Different participants of the study are placed on the horizontal axis. Vertically - the corresponding values obtained for them in years

The obtained results testify to the same as the analysis of graphs from the previous sections. ECG data analysis methods show significantly lower mean error values than ABlood (Table 3).

It is important to separately analyze not only the magnitude of errors and the correlation (quantitative indicators) but also the Table 3.

MAE for estimates of biological age and reference values

Method	MAE
ABlood	12.62
aECGBlood	12.43
aECG	3.62
aECG2	4.70
aECG3	3.90

«direction» of the deviation between real age and the assessment of biological age. Such a consistency analysis will help to understand how often the algorithm and the doctor agree with each other. For each method, the sign of the deviation between the assessment of the biological age by the doctor and the chronological age was calculated (an individual is biologically older or younger than the chronological age). Similarly, the deviation sign was calculated for each method for assessing biological age. And the following metric was calculated:

$$\text{Consistency} = \frac{\text{TPA} + \text{TNA}}{\text{TPA} + \text{TNA} + \text{FPA} + \text{FNA}}$$

where Consistency is a metric between 0 and 1 and corresponds to complete agreement between the doctor and the algorithm, TPA (TNA) - the number of cases where the algorithm and the doctor simultaneously identified a person as younger (older) than biological age, FPA (FNA) - the number of cases when the algorithm and the doctor evaluated the patient differently, the algorithm defined the individual as younger than the chronological age, and vice versa.

Analysis of the algorithms consistency shows that aECG is better compared to other algorithms (Table 4). This algorithm results in correct values in 9 out of 10 cases.

Table 4

Consistency of biological age estimates and reference values

Method	Consistency
ABlood	40,00%
aECGBlood	40,00%
aECG	88,57%
aECG2	77,14%
aECG3	77,14%

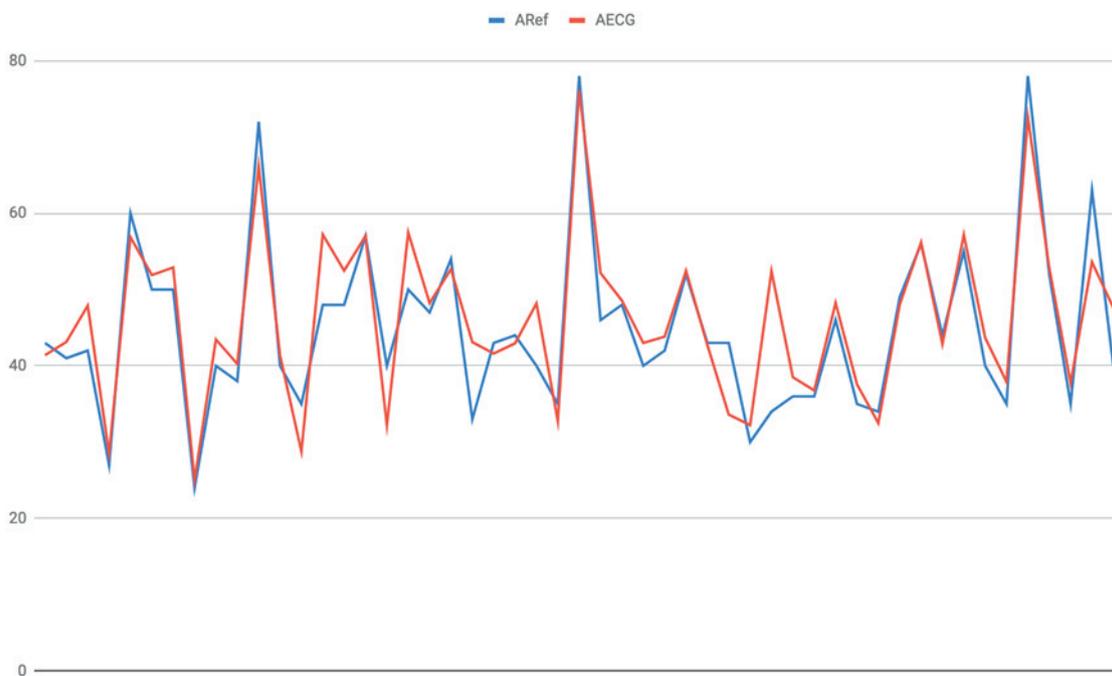


Рисунок 7. Порівняння роботи методу aECG з Reference даними ARef. За горизонтальною віссю розміщені різні учасники дослідження. За вертикальною – відповідні отримані для них значення в роках

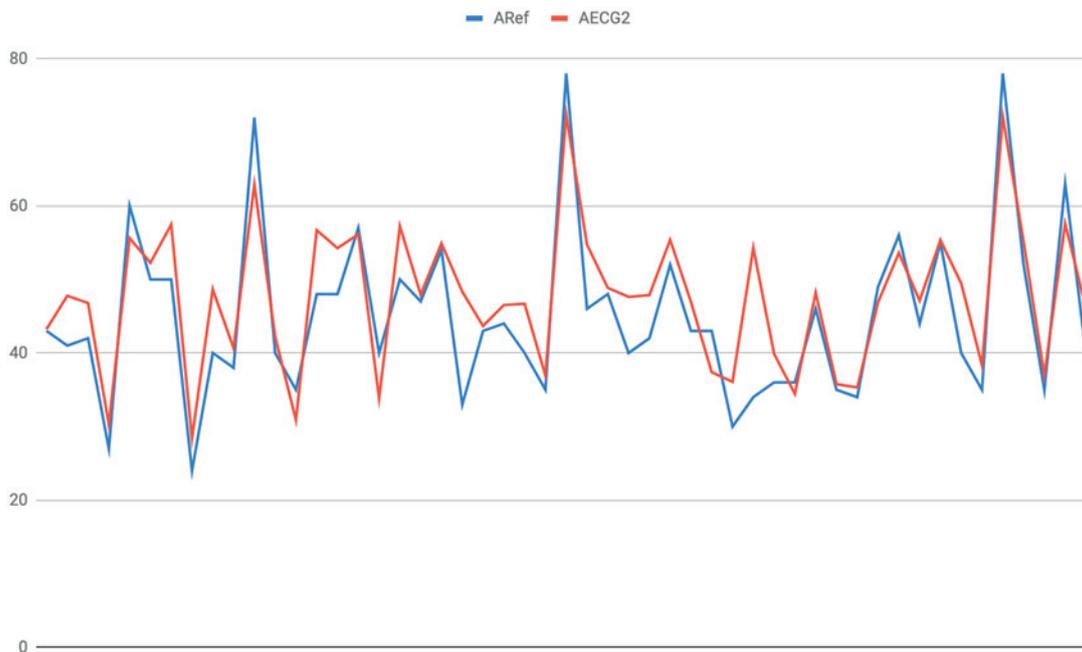


Рисунок 8. Порівняння роботи методу aECG2 з Reference даними ARef. За горизонтальною віссю розміщені різні учасники дослідження. За вертикальною – відповідні отримані для них значення в роках

Важливо окремо проаналізувати не тільки величину помилок і кореляцію (кількісні показники), а й «напрямок» відхилення між реальним віком та оцінкою біологічного віку. Такий аналіз узгодженості допоможе зро-

зуміти, з якою частотою алгоритм і лікар погоджуються один з одним щодо того, що пацієнт є молодшим або старшим за його хронологічний вік. Задля цього для кожного з методів було підраховано знак відхилення

We also compare the operation of the ABlood and aECGBlood algorithms. In accordance with the correlation with the reference values as metrics of the quality of algorithms, these methods are close with a slight advantage (0.005) of the ABlood algorithm. According to the consistency metric, the quality of these two algorithms is the same. According to the MAE metric, the aECGBlood algorithm is 0.19 years more accurate than the ABlood algorithm. However, in all three cases, the aECGBlood algorithm is the closest in metric value to the ABlood algorithm. Given this fact and the strong correlation between them, aECGBlood is an approximation of ABlood.

Discussion

Chronological age is a common indicator of aging. However, there are significant differences in the life expectancy of people of the same age due to the diversity of their genotypes and lifestyles. A 50-year-old individual may have functional reserves similar to those of a 60-year-old one and vice versa. Many subjects look older or younger than those of the same age (even twins). Apparently, chronological age is not an optimal and objective indicator for assessing the course of aging and for searching reliable markers of biological age.

The optimal methods for determining biological age should focus on early signs of aging, distinguishing healthy and unhealthy aging independently of background diseases. Reproducibility, safety, technical simplicity, and availability are other features of these methods [12]. The assessment of cognitive aspects of maintaining functional independence for socially active life could also be an important feature [12].

Since aging is a multidirectional process, markers that characterize its separate mechanisms such as telomere length of leukocytes and marker of cellular aging p16 cannot reflect on the complexity [13].

In the era of personalized medicine, individual health assessments and risk predictions are important and should be based on comprehensive assessment of molecular, cellular, and functional indicators of an individual's health [6].

A valuable addition to existing methods of determining biological age can be a method based on HRV which allows not only assessing the state of sympathetic, parasympathetic, and humoral regulation of human body, but also its quality. The HRV spectrum is a reflection of human regulatory systems, and HRV technology is a «window» into the world of human regulatory systems. With age, HRV decreases along with disturbances in autonomic regulation with sympathetic activation. One of the possible mechanisms of the HRV decline with age is cellular aging across the autonomic nervous system, namely in the hypothalamus, brainstem, autonomic ganglia, and receptors of the cardiovascular system. The telomere length, which is a marker of human biological age, has a significant relationship with HRV parameters, namely the standard deviation of the mean values for all selected RR intervals for every 5 minutes of 24-hour recording (SDANN), the power of the high-frequency component of the spectrum (HF), the ratio of low- and high-frequency waves (L / H) waves ($\beta = 0.36$, $p = 0.006$; $\beta = 0.39$, $p = 0.004$; $\beta = -0.32$, $p = 0.02$, respectively) [14].

The HRV method for determining biological age was proposed using machine-learning algorithms based on a dataset of tens of thousands of daily cardiograms of subjects of different age and gender [9]. The method was also based on the results of studies pointing to the presence of specific patterns of ECG changes associated with aging. The machine-learning algorithms relying on ECG data of a large number of different individuals may determine biological age and serve as a convenient aggregate metric for assessing body aging.

The current study provided preliminary evidence on the reliability of biological age assessment using HRV compared to other methods (Table 5). The study suggested the feasibility of the method for calculating biological age and combining ECG signals with DNA methylation DNAm PhenoAge to predict biological age in view of blood albumin, creatinine, glucose, C-reactive protein, lymphocytes (%), average volume of erythrocytes, width of erythrocytes distribution, alkaline phosphatase, and number of leukocytes. The

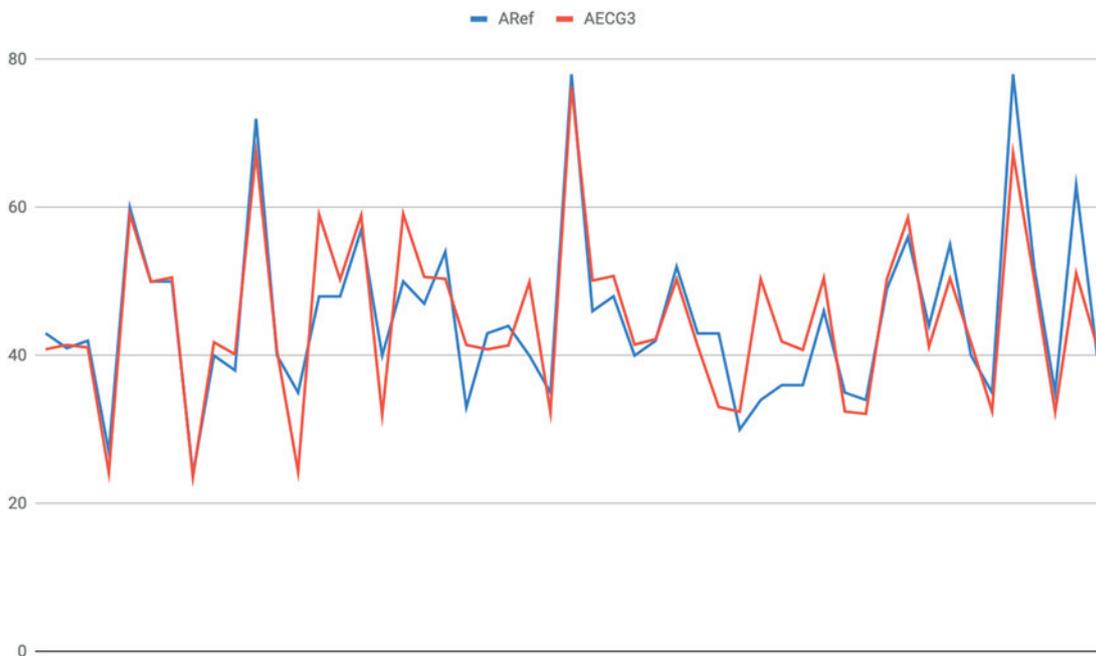


Рисунок 9. Порівняння роботи методу aECG3 з Reference даними ARef. За горизонтальною віссю розміщені різні учасники дослідження. За вертикальною – відповідні отримані для них значення в роках

між оцінкою біологічного віку лікарем і хронологічним віком (людина є біологічно старшою чи молодшою за хронологічний вік). Аналогічно знак відхилення було підраховано для кожного з методів оцінки біологічного віку. Після цього для кожного методу підраховували таку метрику:

$$\text{узгодженість (Consistency)} = \frac{(TPA+TNA)}{(TPA+TNA+FPA+FNA)},$$

де Consistency – метрика, яка набуває значень між 0 та 1, й відповідає повній узгодженості між лікарем та алгоритмом; TPA (TNA) – кількість випадків, коли алгоритм і лікар одночасно визначили людину як молодшу (старшу) за біологічний вік; FPA (FNA) – кількість випадків, коли алгоритм і лікар по-різному оцінили пацієнта, алгоритм визначив людину як молодшу за хронологічний вік, а лікар – навпаки (і навпаки).

Аналіз узгодженості алгоритмів свідчить про те, що aECG значно кращий за решту алгоритмів (табл. 4). Якщо розцінювати висновки про те, що людина є молодшою або старшою за хронологічний вік як «діагноз», то такий алгоритм ставить цей діагноз правильно у 9 випадках із 10.

Таблиця 4

Узгодженість оцінок біологічного віку та reference значень

Метод	Узгодженість
ABlood	40,00%
aECGBlood	40,00%
aECG	88,57%
aECG2	77,14%
aECG3	77,14%

Порівняємо також роботу алгоритмів ABlood та aECGBlood. Відповідно до кореляції з референс значеннями як метрики якості роботи алгоритмів, ці методи близькі з невеликою перевагою (0,005) алгоритму ABlood. За метрикою узгодженості, якість роботи цих двох алгоритмів однакова. За метрикою MAE, алгоритм aECGBlood є точнішим за алгоритм ABlood на 0,19 року. Однак в усіх трьох випадках алгоритм aECGBlood найближчий за значенням метрик до алгоритму ABlood. Тому, враховуючи цей факт та високу кореляцію між ними, ми дійшли висновку про те, що aECGBlood справді є апроксимацією ABlood, та що подальша робота над показником доцільна. Крім того, вважаємо, що показник aECGBlood доцільно використовувати для аналізу даних реальних пацієнтів у тестовому режимі.

algorithm of approximating biological age by blood tests (ABlood) only resulted in much lower values than the assessment of biological age by doctor, and also strongly correlated with chronological age.

Table 5

Comparison of methods for determining biological age by different metrics

	Correlation	MAE	Consistency
ABlood	0.911	12.62	40,00%
aECGBlood	0.906	12.43	40,00%
aECG	0.902	3.62	88,57%
aECG2	0.877	4.70	77,14%
aECG3	0.885	3.90	77,14%

The HRV method is non-invasive, safe, easy to perform, and convenient for subjects. It uses mobile medical devices with smart sensors that can measure the ECG on demand (in the form of bracelets or smart watches), or long-term patch monitor in the form of a patch that is fixed to the skin of the chest and allows ECG monitoring for 72 -120 hours). The mobile application that an individual can download from the App Store or Google Play allows recording ECG data and transferring via the Internet for uploading in a cloud-based platform monitored by IT specialists and doctors.

The current study opens avenues for early detection of preventable aging disorders. This affordable and convenient method of tracking biological age of the heart and the individual

meets the requirements of the modern paradigm of 4 P medicine (personalization, prediction, prevention, and participation).

The study has some limitations. Firstly, due to the lack of a generally accepted method for determining biological age (the «gold» standard), the assessment of biological age by physicians using the «Frailty Index» calculation was chosen as the reference method. This method is more studied in the elderly [15], and its applicability to those under 65 is unclear. However, there are studies that suggest that the weakness index is a powerful predictor of death regardless of chronological age, especially in young subjects [11]. A comparison was also made with another well-known method, namely DNAm PhenoAge, relying on blood tests. Secondly, there was a relatively small number of subjects in the current study; studies with large cohorts are warranted for better implementation of this method in clinical practice. Finally, the lack of coronary angiography data, the main method to detect coronary artery disease and rule out coronary heart disease, could be also viewed as a limitation. In conclusion, the HRV method for determining biological age is an affordable alternative to other methods, and it holds promise for clinical practice. The method can be employed in preventive medicine in view of its ability to distinguish trajectories of healthy and unhealthy aging among individual of the same chronological age.

Обговорення

Хронологічний вік є загальнозживаним показником старіння. Однак існують значні відмінності у тривалості життя людей одного віку у зв'язку з різноманітністю їх генотипів, стилю життя та середовища проживання. У 50-річної особи може бути функціональний стан організму як у 60-річної, і багато людей виглядають старше або молодше порівняно з людьми аналогічного віку (навіть близнюки). Отже, очевидно, що хронологічний вік не є оптимальним і об'єктивним показником оцінки прогресу старіння, а пошук надійних маркерів біологічного віку триває вже більше п'яти десятиліть.

В ідеалі, методи визначення біологічного віку мають виявляти ранні ознаки старіння, бути здатними відрізнити здорове та не здорове старіння, відображати стан старіння незалежно від наявності хвороб у людини, мати високу відтворюваність, безпечність, технічну простоту виконання і доступність [12]. Ба більше, оскільки старіння це багаторівневий процес, то маркери, які характеризують його окремі механізми, зокрема визначення довжини теломер лейкоцитів або рівня маркера клітинного старіння p16, не можуть охопити всіх його аспектів [13]. Крім того, метод оцінки біологічного віку також має враховувати оцінку когнітивних аспектів збереження функціональної незалежності для соціально активного життя, що є важливою частиною фенотипу здорового старіння [12].

В епоху персоналізованої медицини важливі індивідуальні оцінки стану здоров'я та прогнозування ризику, вони мають опиратися на найкращі методи, в основі яких є комплексна оцінка молекулярних, клітинних і функціональних показників здоров'я індивіда [6].

Цінним доповненням до існуючих методів визначення біологічного віку може стати метод, в основі якого закладено аналіз варіабельності серцевого ритму (VCP), який дає змогу не просто оцінити стан симпатичної, парасимпатичної та гуморальної регуляції нашого організму, але його якість. Спектр VCP – портрет регуляторних систем людини, а технологія VCP – «вікно» у світ регуляторних систем людини. З віком відбувається зниження варіабельності серцевого ритму, виникає дисбаланс автономної регуляції з відносним

переважанням симпатичного відділу, що призводить до серцево-судинних порушень. На думку Streltsova, L.I. et al., одним з можливих механізмів зниження VCP, асоційованого з віком, може бути клітинне старіння, зокрема в різних відділах автономної нервової системи, а саме в гіпоталамусі, стовбурі мозку, вегетативних гангліях, рецепторах серцево-судинної системи. На підтвердження їхньої гіпотези, дослідники з'ясували, що довжина теломер, яка є відомим маркером біологічного віку людини, має достовірний зв'язок з параметрами VCP, а саме зі стандартним відхиленням середніх значень для всіх обраних RR-інтервалів за кожні 5 хв 24-годинного запису (SDANN), потужністю високочастотного компонента спектра (HF), співвідношенням низько- і високочастотних хвиль (L / H) хвиль ($\beta = 0,36$, $p = 0,006$; $\beta = 0,39$, $p = 0,004$; $\beta = -0,32$, $p = 0,02$, відповідно) [14].

Метод визначення біологічного віку на основі аналізу VCP був створений за допомогою алгоритмів машинного навчання на підставі великого датасету з десятків тисяч добових кардіограм людей різного віку та статі [9]. Основою створення цього методу стали результати досліджень, що свідчать про наявність чітких патернів ЕКГ-змін пов'язаних зі старінням. Алгоритми машинного навчання треновані на даних сигналів ЕКГ великої кількості різних людей можна використовувати для визначення біологічного віку людини як зручної агрегованої метрики оцінки старіння організму.

У цьому дослідженні було проведено клінічну валідацію методу визначення біологічного віку людини на основі аналізу VCP, технологій штучного інтелекту та біометричного моніторингу у когорті пацієнтів, порівнюючи його з іншими методами визначення біологічного віку.

Було з'ясовано, що оцінка біологічного віку пацієнтів за VCP значно переважає за якістю оцінки біологічного віку усі інші алгоритми (табл. 5).

Це свідчить про доцільність використання такого методу розрахунку біологічного віку, а також комбінованого методу з поєднанням ЕКГ-сигналів і метилування ДНК DNAm PhenoAge, який прогнозує біологічний вік людини на основі визначення в крові аль-

буміну, креатиніну, глюкози, С-реактивного протеїну, лімфоцитів (%), середнього об'єму еритроцитів, ширини розподілу еритроцитів, лужної фосфатази, кількості лейкоцитів та обчислюється за формулою. Водночас алгоритм, що апроксимує біологічний вік лише за аналізами крові (ABlood), у всіх випадках наводив апроксимації, що значно нижчі за оцінку біологічного віку людини лікарем, а також сильно корелював з хронологічним віком.

Таблиця 5

Порівняння методів визначення біологічного віку за різними метриками

	Кореляція	MAE	Узгодженість
ABlood	0,911	12,62	40,00%
aECGBlood	0,906	12,43	40,00%
aECG	0,902	3,62	88,57%
aECG2	0,877	4,70	77,14%
aECG3	0,885	3,90	77,14%

Метод визначення біологічного віку на основі аналізу VCP неінвазійний, безпечний, простий у виконанні та зручний для пацієнта. Для його виконання використовуються мобільні медичні девайси зі смарт-сенсорами, які можуть вимірювати ЕКГ на вимогу (у формі браслетів або розумних годинників), або тривало (патч-монітор у вигляді пластира, який фіксується до шкіри грудної клітки і дає змогу виконувати ЕКГ моніторинг протягом 72-120 годин). Через мобільний додаток, який пацієнт може завантажити з App Store або Google Play, записані ЕКГ дані за допомогою Інтернету завантажуються у хмару звідки можуть бути отримані ІТ-спеціалістом і лікарем.

Таке дослідження, що базується на технологіях штучного інтелекту, відкриває низку можливостей для вчасного виявлення тих пацієнтів, хто найбільше потребує профілактичних стратегій у зв'язку з пришвидшеним старінням і ризиком передчасної смерті. Доступний і зручний спосіб відстеження бі-

ологічного віку серця і біологічний вік самої людини з використанням сучасних технологій цифрового здоров'я повністю відповідає вимогам сучасної парадигми 4 П медицини, в основі якої персоналізація, предикція, превентивність і партисипативність.

Проведене дослідження має багато обмежень. По-перше, у зв'язку з відсутністю загальноприйнятого методу визначення біологічного віку («золотого» стандарту), як референтний метод для порівняння було вибрано оцінку біологічного віку лікарями за допомогою розрахунку «Frailty Index» (Індекс слабкості). Цей метод більш вивчений у осіб старшого віку [15], і відповідно можливості його застосування в осіб молодше 65 років менш зрозумілі. Проте є дослідження, які виявили, що індекс слабкості є потужним предиктором смерті, незалежно від хронологічного віку, особливо серед молодих людей [11]. Також порівняння було проведене з іншим добре відомим у світі методом, а саме з DNAm PhenoAge, де розрахунок біологічного віку проводиться на основі даних обстеження крові. Друге обмеження – порівняно невелика кількість пацієнтів, і безумовно дослідження на більших когортах є необхідними для кращої імплементації цього методу у клінічну практику. Також ще одним обмеженням була відсутність даних коронарографії, основного методу, який допомагає виявити ураження коронарних артерій і виключити ішемічну хворобу серця. Підсумовуючи, такий метод визначення біологічного віку людини на основі аналізу VCP та технологій штучного інтелекту є доступною альтернативою іншим методам і потребує активного впровадження в клінічну практику. Він може застосовуватися в превентивній медицині, враховуючи його потенційну здатність розрізнити траєкторії здорового та нездорового старіння серед осіб з однаковим хронологічним віком.

References

1. Epel ES, Merkin SS, Cawthon R, et al. The rate of leukocyte telomere shortening predicts mortality from cardiovascular disease in elderly men. *Aging (Albany NY)*. 2008;1(1):81-88. doi:10.18632/aging.100007
2. Levine ME, Lu AT, Quach A, et al. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging (Albany NY)*. 2018;10(4):573-591. doi:10.18632/aging.101414
3. Bell CG, Lowe R, Adams PD, et al. DNA methylation aging clocks: challenges and recommendations. *Genome Biol*. 2019; 20(1):249. doi:10.1186/s13059-019-1824-y
4. Galkin F, Mamoshina P, Aliper A, et al. Human Gut Microbiome Aging Clock Based on Taxonomic Profiling and Deep Learning. *iScience*. 2020; 23(6):101199. doi:10.1016/j.isci.2020.101199
5. Waaijer ME, Parish WE, Strongitharm BH, van Heemst D, Slagboom PE, de Craen AJ, Sedivy JM, Westendorp RG, Gunn DA, Maier AB. The number of p16INK4a positive cells in human skin reflects biological age. *Aging Cell*. 2012;11:722-725. doi: 10.1111/j.1474-9726.2012.00837.x.
6. Li X, Ploner A, Wang Y, et al. Longitudinal trajectories, correlations and mortality associations of nine biological ages across 20-years follow-up. *Elife*. 2020; 9:e51507. doi:10.7554/eLife.51507
7. Russoniello, C.V., Zhirnov, Y.N., Pougatchev, V.I., Gribkov, E.N. Heart rate variability and biological age: Implications for health and gaming. *Cyberpsychology, Behavior, and Social Networking*. 2013; 16 (4): 302-308. doi: 10.1089/cyber.2013.1505
8. Adetola O Ladejobi, Jose R Medina-Inojosa, Michal Shelly Cohen, Zachi I Attia, Christopher G Scott, Nathan K LeBrasseur, Bernard J Gersh, Peter A Noseworthy, Paul A Friedman, Suraj Kapa, Francisco Lopez-Jimenez, The 12-lead electrocardiogram as a biomarker of biological age, *European Heart Journal - Digital Health*, 2021, <https://doi.org/10.1093/ehjdh/ztab043>
9. Sahan V. Towards the ECG-based biomarkers of human aging. *Deutscher Wissenschaftsherold*. 2020; 2: 15-21. doi:10.19221/202023
10. Goldsack, J.C., Coravos, A., Bakker, J.P. et al. Verification, analytical validation, and clinical validation (V3): the foundation of determining fit-for-purpose for Biometric Monitoring Technologies (BioMeTs). *npj Digit. Med*. 2020; 3: 55. <https://doi.org/10.1038/s41746-020-0260-4>
11. Jiang M, Foebel AD, Kuja-Halkola R, et al. Frailty index as a predictor of all-cause and cause-specific mortality in a Swedish population-based cohort. *Aging (Albany NY)*. 2017;9(12):2629-2646. doi:10.18632/aging.101352
12. Husted KLS, Fogelstrøm M, Hulst P, Brink-Kjær A, Henneberg K, Sorensen HBD, Dela F, Helge JW A Biological Age Model Designed for Health Promotion Interventions: Protocol for an Interdisciplinary Study for Model Development *JMIR Res Protoc* 2020;9(10):e19209 doi: 10.2196/19209
13. Moskalev A. The challenges of estimating biological age. *Elife*. 2020;9:e54969. doi:10.7554/eLife.54969
14. Streltsova, L.I., Tkacheva, O.N., Plokhova, E.V., Akasheva, D.U., Strajesko, I.D., Dudinskaya, E.N., Boytsov, S.A. Age-related changes in heart rate variability and their relation with leucocyte telomere length. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2017; 16 (1):54-60.
15. Searle SD, Mitnitski A, Gahbauer EA, Gill TM, Rockwood K. A standard procedure for creating a frailty index. *BMC Geriatr*. 2008;8:24. doi:10.1186/1471-2318-8-24