

VILNIUS UNIVERSITY

ANDRIUS BLEIZGYS

ASSOCIATIONS BETWEEN SEASONAL CHANGES IN SERUM LEVELS OF
VITAMIN D AND SOLUBLE ENDOTHELIAL CELL ADHESION MOLECULES IN
YOUNG MEN

Summary of doctoral dissertation
Biomedical Sciences, Medicine (06 B)

Vilnius, 2014

The dissertation was prepared at the Clinic of Internal Diseases, Family Medicine and Oncology, Faculty of Medicine, Vilnius University in the period of 2010–2014.

Research supervisor:

Prof. Dr. Virginijus Šapoka (Vilnius University, Biomedical Sciences, Medicine – 06 B)

The dissertation will be defended at the Medical Research Council of Vilnius University:

Chairman:

Prof. Dr. Janina Tutkuvienė (Vilnius University, Biomedical Sciences, Medicine – 06 B)

Members:

Prof. Dr. Janina Didžiapetrienė (Vilnius University, Biomedical Sciences, Medicine – 06 B)

Prof. Dr. Žaneta Petrulionienė (Vilnius University, Biomedical Sciences, Medicine – 06 B)

Assoc. Prof. Dr. Olivija Gustienė (Lithuanian University of Health Sciences, Biomedical Sciences, Medicine – 06 B)

Prof. Dr. Eliyah Stoupel (Tel Aviv University, Israel, Biomedical Sciences, Medicine – 06 B)

The public defense of the dissertation will take place at the open session of the Medical Research Council at 12:00 on September 10, 2014 in the Red audience of Vilnius University Hospital Santariškių Clinics.

Address: Santariškių St. 2, LT-08661, Vilnius, Lithuania.

The summary of the doctoral dissertation was sent on August 12, 2014

The dissertation in the full text is available at the library of Vilnius University (Universiteto str. 3, LT-01122 Vilnius, Lithuania) and online at Vilnius University

Website: www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius

VILNIAUS UNIVERSITETAS

ANDRIUS BLEIZGYS

JAUNŲ VYRŲ VITAMINO D KONCENTRACIJOS KRAUJYJE SEZONINIŲ
KITIMŲ SAŠAJOS SU TIRPIOSIOMIS ENDOTELIO LĄSTELIŲ ADHEZIJOS
MOLEKULĖMIS

Daktaro disertacijos santrauka
Biomedicinos mokslai, medicina (06 B)

Vilnius, 2014

Disertacija rengta 2010–2014 metais Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Vidaus ligų, šeimos medicinos ir onkologijos klinikoje.

Mokslinis vadovas:

Prof. dr. Virginijus Šapoka (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B)

Disertacija ginama Vilniaus universiteto Medicinos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkas:

Prof. dr. Janina Tutkuvienė (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B)

Nariai:

Prof. dr. Janina Didžiapetrienė (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B)

Prof. dr. Žaneta Petrulionienė (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B)

Doc. dr. Olivija Gustienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B)

Prof. dr. Elijah Stoupel (Tel Avivo universitetas, Izraelis, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B)

Disertacija bus ginama viešame Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje 2014 m. rugsėjo 10 dieną 12 val. Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų Raudonojoje auditorijoje.

Adresas: Santariškių g. 2, LT-08661, Vilnius, Lietuva.

Disertacijos santrauka išsiuntinėta 2014 m. rugpjūčio mėn. 12 d.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje (Universiteto g. 3, LT-01122, Vilnius) ir VU internetinėje svetainėje adresu: www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius

ABBREVIATIONS

1,25(OH) ₂ D	– 1,25-dihydroxyvitamin D
25(OH)D	– 25-hydroxyvitamin D
adjR ²	– adjusted coefficient of determination
β	– standardized regression coefficient
B	– unstandardized regression coefficient
BAI	– body adiposity index
CAM	– cell adhesion molecules
CV	– cardiovascular
DBP	– diastolic blood pressure
ED	– endothelial dysfunction
E-SEL	– E-selectin
HC	– hip circumference
HDL-Ch	– high-density lipoprotein cholesterol
ICAM-1	– intercellular adhesion molecule-1
LDL-Ch	– low-density lipoprotein cholesterol
LYM	– lymphocyte count
MBP	– mean arterial blood pressure
MON	– monocyte count
NEU	– neutrophil count
PLT	– platelet count
P-SEL	– P-selectin
SBP	– systolic blood pressure
sE-SEL	– soluble E-selectin
sICAM-1	– soluble intercellular adhesion molecule-1
sP-SEL	– soluble P-selectin
sVCAM-1	– soluble vascular cell adhesion molecule-1
TCh	– total cholesterol
TG	– triglycerides
VCAM-1	– vascular cell adhesion molecule-1
VitD	– vitamin D
WBC	– white blood cell count

WC – waist circumference
WHR – waist-to-hip ratio

1. INTRODUCTION

Cardiovascular (CV) diseases are still the main cause of morbidity and mortality in many developed countries, despite the achievements in modern medicine. However, most of the present measures, developed for prevention and treatment, are generally capable to combat only the established “traditional” cardiovascular risk factors. To date, less is known about other agents, or the “new” risk factors for cardiovascular diseases. Interest in the role of vitamin D (VitD) for cardiovascular health is constantly growing, especially during the last decade.

For humans, the main source of VitD is its synthesis in the skin under the influence of solar ultraviolet radiation. After two hydroxylation steps, VitD is transformed into an active form 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25(OH)₂D], or calcitriol. The first step takes place in the liver and produces 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D]. The second hydroxylation is performed by renal proximal tubular epithelial cells as well as by some extra-renal tissues and cells. Effects of calcitriol on calcium and phosphorus metabolism are well established. However, VitD appears to be essential not only for “healthy bones” but also for the cardiovascular system, as well as for many other organs and tissues. Recently low vitamin D level was named as an independent cardiovascular risk factor. However, many aspects of vitamin’s D role on cardiovascular system, namely, on the endothelium are yet to be fully elucidated.

We tested the associations of serum 25(OH)D – the best marker of VitD status – and four cell adhesion molecules (CAMs), which could serve as biomarkers of endothelial dysfunction (ED). Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), E-selectin (E-SEL) and P-selectin (P-SEL) are CAMs, necessary for migration process of leucocytes, and their soluble forms (named sVCAM-1, sICAM-1, sE-SEL and sP-SEL, respectively) can be quantified in blood serum. E-SEL (CD62E) is expressed only on activated endothelium, while P-SEL (CD62P) can be found both in platelets and endothelial cells. VCAM-1 (CD106) and ICAM-1 (CD54) are expressed in such cells like endothelial, monocytes and vascular smooth muscle cells. Soluble forms of CAMs are likely to be generated during enzymatic cleavage, when the extracellular part of CAM is “cut” at site close to the membrane insertion point. Some data suggest that soluble CAMs might also be products of alternative splicing. Levels of soluble CAMs are

considered to be proportional to the amounts of membrane-bound CAMs on the surface of cells. Various risk factors can contribute to endothelial activation, resulting in increased production of cytokines, reactive oxygen species and reactive nitrogen species. This can impair endothelium's functioning and increase the expression of CAMs. Subsequently, more soluble forms can be released into the blood. Therefore, levels of soluble serum CAMs may represent the degree of systemic activation and dysfunction of endothelium.

Calcitriol can influence endothelial function and CAMs expression via several mechanisms, e.g., direct anti-inflammatory activity or down-regulating the activity of renin-angiotensin-aldosterone system. Endothelial cells have been shown to express not only VitD receptors, but also 1α -hydroxylase, an enzyme that converts 25(OH)D to 1,25(OH)₂D. Thus, endothelial cells are capable to produce calcitriol locally. It was suggested that functioning of endothelium depends more on levels of serum 25(OH)D, rather than on serum levels of 1,25(OH)₂D.

Most studies have shown that VitD status in countries further away from the equator exhibits clear seasonal variation: 25(OH)D level reaches its peak in August – September, and the nadir is observed in February – March. It should be noted that Lithuania belongs to the group of countries, where, because of climate features (few sunny days) and other causes, the problem of VitD deficiency is still an urgent problem for citizens of all ages. To our knowledge, no specific research focused on changes in VitD reserves in the same persons over the year was performed in Lithuania up to now. From the scientific point of view, studies having longitudinal (e.g., serial) types of design are much more valuable and often recommended by various authors. Particularly, such design would be a better choice if the seasonal variations in VitD levels and their possible links to a variety of health problems as well as their associations to the biomarkers of vascular endothelial damage need to be investigated.

We hypothesized that there could also be a reciprocal seasonal variation in levels of soluble CAMs. Interestingly, some seasonality of CV diseases was observed, e.g., during winter the incidence of acute myocardial infarction is increased, and blood pressure tends to be higher in the winter than in the summer, particularly at middle latitudes. Mortality from heart failure was showed to be higher in January in comparison to that in August. ED plays a key role in the development of many CV diseases. In addition, during the development of acute cardiovascular syndromes, an increased expression of CAMs,

reflecting up-regulated activity of the endothelium, platelets and leucocytes, plays an important role. It is worth to investigate whether 25(OH)D levels and their seasonal changes have associations with levels of CAMs (and their seasonality). If discovered, such inverse associations between VitD and soluble CAMs levels might contribute to the present evidence that VitD may play a role in diminishing endothelial dysfunction and activation.

Prior to us, associations between 25(OH)D levels and levels of soluble CAMs have been detected in studies of patients suffering from certain illnesses or the elderly. However, there is lack of data for healthy young men, who have few, if any, CV risk factors, who usually have no need to take remedies constantly, and the structural changes of their vessels are mostly likely to be minimal.

1.1. The aim of the research

The aim of the research was to evaluate the seasonal changes in vitamin D blood levels and to analyze their relationship with levels of soluble vascular endothelial cell adhesion molecules in young men.

1.2. The objectives of the research

The following research objectives were set:

1. To investigate the 25-hydroxyvitamin D serum levels in young men at both the warm and the cold season.
2. To investigate the serum levels of soluble forms of cell adhesion molecules – vascular cell adhesion molecule-1, intercellular adhesion molecule-1, E-selectin and P-selectin – at both the warm and the cold season.
3. To evaluate the associations of 25-hydroxyvitamin D serum levels with the levels of soluble cell adhesion molecules in a separate season.
4. To analyze the associations between seasonal changes in levels of soluble cell adhesion molecules and seasonal changes in 25-hydroxyvitamin D levels.
5. To evaluate the relations of both soluble cell adhesion molecules and 25-hydroxyvitamin D levels to some traditional cardiovascular risk factors, e.g., adiposity indices, smoking, levels of serum lipids and C-reactive protein, etc.

1.3. Defensive statements

1. Serum 25-hydroxyvitamin D levels, being considered the marker of vitamin D status, demonstrate clear seasonal variations.
2. Seasonal changes in serum 25-hydroxyvitamin D levels are associated with changes in levels of soluble endothelial cell adhesion molecules.
3. Serum levels of soluble endothelial cell adhesion molecules are associated with clinical parameters routinely used for the assessment of cardiovascular risk.

1.4. Scientific novelty of the research

Firstly, the novelty of this research lies in the choice of repeated measures design for the investigation of 25-hydroxyvitamin D serum levels in young Lithuanian men (aged 20–39 yrs.). The study showed the existence of the remarkable seasonality of vitamin D status in this group of men, as well as high prevalence of low vitamin D status, particularly at the cold season.

Secondly, a complex evaluation of associations of 25-hydroxyvitamin D serum levels with serum endothelial cell adhesion molecules, as well as with their changes was performed. In contrast to the initial assumptions, some of the associations were showed to be of direct rather than reciprocal character. Such findings suggest that vitamin D might influence not only the expression of some cell adhesion molecules but also the release of their soluble forms into the blood. In addition, it could be speculated that the seasonal increases in levels of some soluble cell adhesion molecules might not necessarily serve as biomarkers of endothelial dysfunction, but contrariwise, they possibly represent the decreased cardiovascular risk. On the other hand, unexpected seasonal changes in levels of some soluble cell adhesion molecules, namely, the “opposite” direction of those changes by separate study year, could not be clearly explained by seasonal changes in 25-hydroxyvitamin D serum levels or in other clinical parameters. This has encouraged us to seek an alternative possible explanations, namely, those concerning the impact of geomagnetic activity. Prior to us, many studies investigating associations between “space weather” factors and human health were performed. However, to our knowledge, no specific research focused on influence of “space weather” factors, e.g., geomagnetic activity, on levels of serum cell adhesion molecules in humans was performed until today.

Therefore, in this context, the novelty of this study is also that some independent associations of levels of soluble cell adhesion molecules with the geomagnetic activity were detected. If confirmed in future studies, this would indicate that geomagnetic activity should be taken into account during the research process as an important confounder for soluble cell adhesion molecules levels.

2. SUBJECTS AND METHODS

The research was commenced on February 1st, 2012 and completed on September 30th, 2013. The research was carried out under permit No. 158200-10-403-107 obtained from the Vilnius Regional Biomedical Research Ethics Committee. The study protocol conforms to the ethical guidelines of the Declaration of Helsinki.

The examination of participants took place in the Vytenis Primary Health Care Center (a filial of Public institution Central policlinic of Vilnius). All laboratory analyses were performed at the Laboratory Diagnostic Centre of Vilnius University Hospital Santariskiu Clinics. Indices of the geomagnetic activity (*Ap* indices), used in the statistical analysis, were obtained from the freely available online database of the German Research Centre for Geosciences (*Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum*). *Ap* indices represent the global daily geomagnetic activity; they are among the indices that are widely used in cosmobiology research.

The study was supported by the project “Development of Training of Highly Qualified Professionals Satisfying the Requirements of the State and Society in the Field of Biomedicine (BIOMEDOKT)”, project no. VP1-3.1-ŠMM-01-V-03-002.

2.1. Sample size and selection of participants

Sample size was calculated using conventional formula suitable for studies where correlations are being investigated. Presupposing correlation coefficient between CAMs and 25(OH)D might be at least -0.25 (inverse correlation), at significance level 0.05 and statistical power 0.80, calculated sample size was 98. Presuming that up to 15 % of participants might not be available for the second examination, the final sample size was $116 \approx 120$.

Men (all whites) were selected from the list of registered patients (aged 20–39 yrs.) of Public institution Central policlinic of Vilnius by using a PC application for randomization, and after the examination of available medical records persons meeting the inclusion criteria were invited to participate by email or phone. The exclusion criteria were as follows: history of stroke, myocardial infarction or thrombosis; any known chronic illness including cardiovascular, endocrine, metabolic, neurologic, hematologic, psychiatric, connective tissue disease or cancer; morbid obesity; taking regular medication

or any food supplement; underwent surgical intervention less than 3 months ago. No participant presented with a cold, fever, or other common illness; if such a condition occurred, the examination was delayed at least 1 week after complete clinical remission. Written Informed consent was obtained from each participating subject.

2.2. Study design, participants' questionnaire survey and measurements

The type of the research was longitudinal serial (or panel) study. The same participants were examined twice according to the same protocol. The first examination was performed in February or March ("cold season") after at least 10 hour overnight fast. Anthropometry, including weight, height, waist (WC) and hip (HC) circumferences, was performed in light indoor clothing after removal of shoes. Body mass index (BMI) was calculated as weight [in kg]/squared height [in meters]. Men with BMI of less than 25 kg/m² were qualified as "normal weight". Those having BMI of 25 kg/m² or greater but less than 30 kg/m² were considered "overweight", and all other men – "obese". The waist-to-hip ratio (WHR) and waist-to-height ratio were calculated. Body adiposity index (BAI) was calculated by the formula $BAI = WC [in cm] / height [in meters]^{1.5} - 18$. Systolic (SBP) and diastolic (DBP) blood pressures were recorded as averages of respective pressures taken in both arms using a standard sphygmomanometer. Mean arterial blood pressure (MBP) was calculated by the formula $MBP = 1/3 * SBP + 2/3 * DBP$.

Demographic data and some data on nutrition, smoking and physical activity habits were collected using simply questionnaires. Men who reported eating less than 3 servings of vegetables or fruits per day were classified as having unbalanced nutrition. All men were also asked whether they had a habit to add salt to prepared food and how many times per week they were physically active for at least 30 min., e.g., attending sport-club, jogging, skiing or swimming, or performing physical labor. According to the WHO guidelines, the participant was classified as being "inadequately physically active" if he usually has less than 7 times of such physical activity per week; or, alternatively, if the total weekly activity lasts less than $7 * 30 = 210$ min., if man reported usually having short but frequent physical activities. Smoking status was defined as follows: "nonsmoker" if the participant denied ever smoking, "ex-smoker" if the participant claimed he had smoked in the past but was not currently smoking (and stopped smoking at least 1 year ago); and

“current smoker” if he reported currently smoking. The second examination was performed in August or September (“warm season”).

2.3. Blood samples collection and laboratory analysis

Blood samples were obtained by venipuncture at the antecubital region and collected in vacuum tubes (BD, NJ, USA) after at least 10 hour overnight fast. Tubes for glucose analysis were centrifuged immediately at 1300 RCM for 10 min. Serum separator tubes were stored upright at room temperature for 30–60 min. and allowed to clot prior to centrifugation at 1300 RCM for 10 min. All tubes were stored in a cool dry place and within 4 hours were transported to the Laboratory Diagnostic Centre of Vilnius University Hospital Santariskiu Clinics, where the entire laboratory tests were performed immediately, except for 25(OH)D and the analyses of soluble cell adhesion molecules. For the latter tests, sera were stored in aliquots at -20°C until the date of assay.

Automated blood count analysis was performed using “Sysmex XE-5000” hematology analyzer (Sysmex Corporation, Japan). Biochemical analyses were performed using „Architect ci8200” analyzer (Abbott Laboratories, IL, USA) and the following methods:

- for serum 25(OH)D – chemiluminescent microparticle immunoassay;
- for serum high-sensitivity CRP – immunoturbidimetric assay;
- for total serum cholesterol (TCh) – enzymatic (cholesterol esterase /oxidase/peroxidase) assay;
- for serum triglycerides (TG) – enzymatic (glycerol phosphate oxidase) method;
- for serum low-density lipoprotein cholesterol (LDL-Ch) – direct measured liquid selective detergent method;
- for serum high-density lipoprotein cholesterol (HDL-Ch) – accelerator/selective detergent method;
- for plasma glucose – hexokinase/glucose-6-phosphate dehydrogenase method.

CRP levels less than 0.2 mg/L (lower detection limit) were set 0.1 mg/L. According to current recommendations (see “Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline”, 2011), VitD deficiency

was defined as a 25(OH)D level less than 50 nmol/L. Those having 25(OH)D levels of 50 nmol/l or greater, but less than 75 nmol/l were considered insufficient of VitD.

Serum levels of sICAM-1, sVCAM-1, sP-SEL and sE-SEL were determined by Quantikine ELISA (R&D Systems, MN, USA). The Intra- and Inter-assay CVs for all CAMs tests reported by the manufacturer are <7% and <10%, respectively. The plates were read in an “Epoch™” microplate spectrophotometer (Biotek, VT, USA).

2.4. Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the SPSS software package (version 22.0 for Windows, SPSS Inc., IL, USA). Nominal data are presented as frequency (percentage), continuous data – as mean \pm standard deviation (SD). Continuous variables were tested for normality using the Shapiro-Wilk test. Multivariate stepwise regression analyses for the each cell adhesion molecule were performed, seeking independent predictors among continuous variables and some indicator variables: smoking status (current smoking was encoded as 1, non-smoking – 0), nutrition (1 – unbalanced, 0 – balanced), habit to add salt to prepared food (yes – 1, not – 0), and physical activity (inadequate – 1, adequate – 0). Differences of the variables between two independent groups were analyzed using Student’s t-test for variables that were normally distributed, and Mann-Whitney U test – for variables with non-normal distributions. Differences of the variables between three independent groups were analyzed using ANOVA (followed by Bonferroni *post-hoc* correction) or Kruskal-Wallis test where appropriate. Differences of the variables of the same group between two seasons were examined using paired samples t-test or the non-parametric Wilcoxon rank sum test. Changes of nominal data frequencies were examined using McNemar test. A p-value <0.05 was considered as significant.

3. RESULTS

64 men were examined in 2012 on February or March. All of them but 2 were reexamined in August or September. In 2013, 66 other men were examined on February or March, and 63 of them were reexamined in August or September. Therefore, 130 men in total were included in the study, and 125 of them were examined for the second time. Mean age of the participants at the day of inclusion (i.e., the day of the first examination) was 30.0 ± 4.6 yrs.

The majority of men were currently non-smokers: 58 (44.61 %) have never smoked, 41 (31.54 %) were ex-smokers, and 31 (23.85 %) – current smokers. 107 (82.3 %) participants reported as having higher education. Almost all men (125, or 96.2 %) were working in non-manual labor (managers, IT specialists, chiefs, jurists, lecturers, etc.).

3.1. Vitamin D statuses

At the cold season, almost all men were VitD insufficient or deficient (Fig. 1, a), but only 2 men had severe VitD deficiency (25(OH)D levels less than 25 nmol/l). During the warm season, all men ameliorated their VitD statuses, but more than one-third of the participants remained VitD insufficient or deficient (Fig. 1, b).

After grouping all men by body mass index category (normal weight, overweight, obese), it was observed that in both seasons all the groups (BMI categories) included Vit. D deficient and Vit. D insufficient cases (Fig. 2).

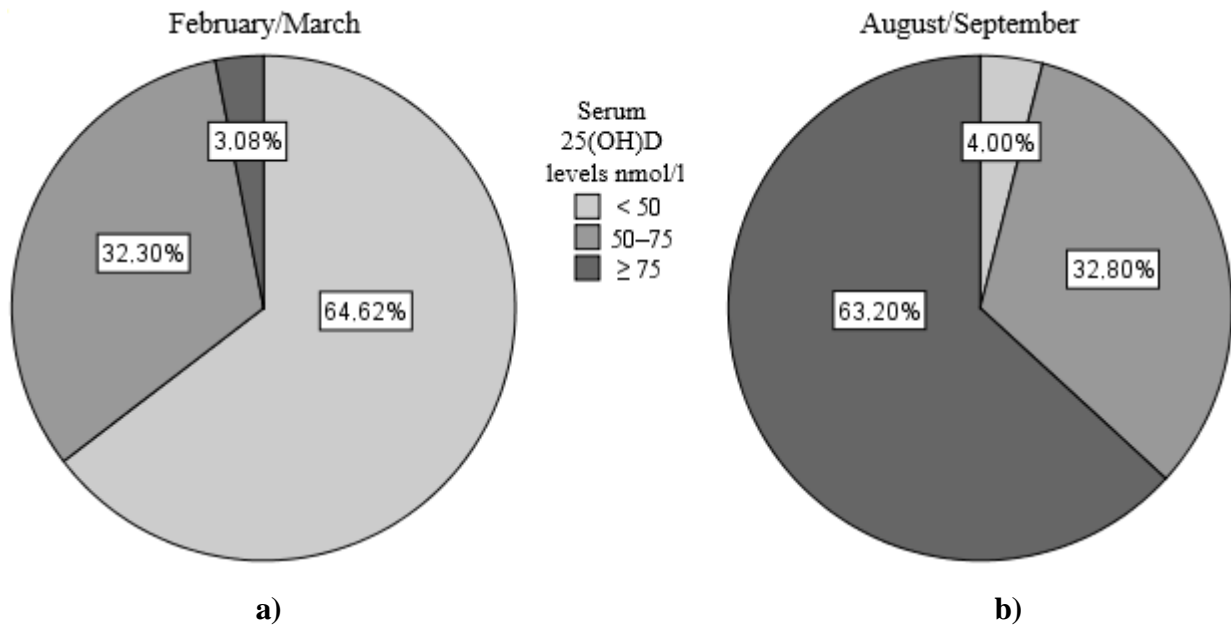


Fig. 1. Prevalence of vitamin D deficiency/insufficiency/normal levels in generally healthy men aged 20–39 years: a – in cold season (n=130), b – in warm season (n=125)

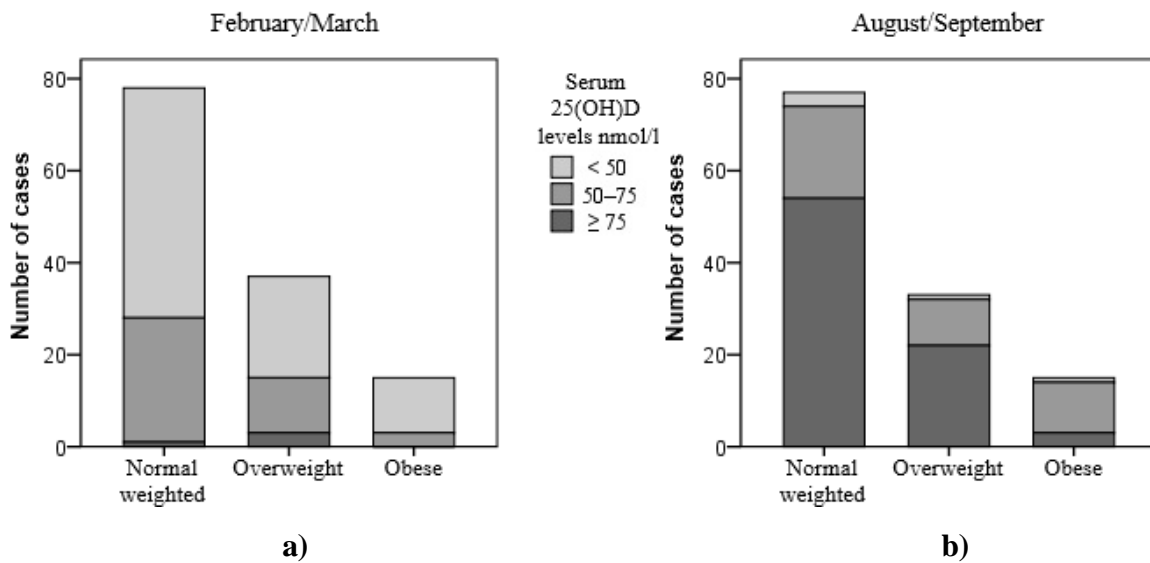


Fig. 2. Frequency (number of cases) of different vitamin D statuses among the weight groups of generally healthy men aged 20–39 years: a – in cold season (n=130), b – in warm season (n=125)

3.2. Comparison of the parameters by year and season

In order to detect possible seasonal differences, a comparison of the lifestyle, anthropometric and laboratory parameters of all men examined twice (n=125) by season was made. The results are presented in Table 1 and Table 2.

Table 1. Characteristics of all men aged 20–39 yrs. examined in two opposite seasons: lifestyle and anthropometrical data (merged data from 2012 and 2013, n=125)

Variable	February/March	August/September	p-value
Adds salt to food	47 (37.6 %)	48 (38.4 %)	1.000
Unbalanced nutrition	71 (56.8 %)	57 (45.6 %)	0.011*
Inadequate physical activity	55 (44.0 %)	40 (32.0 %)	0.040*
BMI, kg/m ²	24.64±3.99	24.59±3.94	0.636
Waist circumference, cm	87.30±9.54	85.55±9.87	<0.00001*
Hip circumference, cm	100.67±7.02	99.52±7.00	<0.0001*
WHR	0.87±0.05	0.86±0.06	0.020*
Waist-to-height ratio	0.48±0.05	0.47±0.06	<0.0001*
BAI	17.50±4.20	16.79±4.29	<0.0001*
SBP, mmHg	117.28±10.67	114.50±11.04	0.005*
DBP, mmHg	77.10±7.12	76.36±6.56	0.373
MBP, mmHg	90.45±7.62	89.07±7.50	0.020*

Nominal data are presented as frequency (percentage), continuous data – as mean±SD

* – indicates a significant difference.

BMI, body mass index; WHR, waist-to-hip ratio; BAI, body adiposity index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; MBP, mean blood pressure

Table 2. Characteristics of all men aged 20–39 yrs. examined in two opposite seasons: laboratory data (merged data from 2012 and 2013, n=125)

Variable	February/March	August/September	p-value
WBC (x 10 ⁹ /l)	6.50±1.42	6.76±1.39	0.015*
NEU (x 10 ⁹ /l)	2.99±0.90	3.03±0.95	0.604
LYM (x 10 ⁹ /l)	2.55±0.68	2.69±0.75	0.011*
MON (x 10 ⁹ /l)	0.63±0.22	0.73±0.19	<0.00001*
EOS (x 10 ⁹ /l)	0.23±0.21	0.26±0.18	<0.00001*
PLT (x 10 ⁹ /l)	226.96±52.56	212.04±51.33	<0.00001*
TCh, mmol/l	5.00±1.01	4.95±0.98	0.290
LDL-Ch, mmol/l	3.19±0.83	3.11±0.80	0.110
HDL-Ch, mmol/l	1.23±0.26	1.19±0.24	0.032
TG, mmol/l	1.29±0.83	1.44±1.02	0.035*
TCh / HDL-Ch ratio	4.27±1.32	4.34±1.41	0.258
LDL-Ch / HDL-Ch ratio	2.72±0.98	2.73±0.99	0.801
TG / HDL-Ch ratio	1.17±0.98	1.36±1.26	0.039*
CRP, mg/ml	0.90±0.99	1.27±2.14	0.038*
Glucose, mmol/l	5.23±0.39	5.23±0.44	0.881
25(OH)-D, nmol/l	46.90±15.31	82.46±22.09	<0.00001*
sVCAM-1, ng/ml	462.58±123.11	496.85±192.74	0.055
sICAM-1, ng/ml	230.93±90.69	246.43±60.68	0.092
sE-SEL, ng/ml	33.19±12.88	34.41±12.10	0.036*
sP-SEL, ng/ml	89.23±28.37	157.45±59.32	<0.0001*

Nominal data are presented as frequency (percentage), continuous data - as mean±SD

* – indicates a significant difference.

WBC, white blood cell count; NEU, neutrophil count; LYM, lymphocyte count; MON, monocyte count; PLT, platelet count; TCh, total serum cholesterol; LDL-Ch, serum low-density lipoprotein cholesterol; HDL-Ch, serum high-density lipoprotein cholesterol; TG, serum triglycerides; CRP, C reactive protein; 25(OH)D, serum 25-hydroxyvitamin D; sVCAM-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; sE-SEL, soluble E-selectin; sP-SEL, soluble P-selectin

Noteworthy, in the whole sample, serum 25(OH)D levels have increased almost two-fold. Levels of sP-SEL and sE-SEL were larger in warm season, and those differences

were statistically significant. Increase in levels of sICAM-1 and sVCAM-1 were only nearly significant. In addition, there were changes in leucograms, platelet count, TG, CRP and PLT, as well as in some anthropometrical data; however, the absolutely numerical values of such changes were small. Of note, the mean values were within normal ranges.

In addition, some changes in lifestyle habits were detected. The level (i.e., category) of the physical activity remained the same in 78 men; however, 31 men increased their physical activity (i.e., from inadequate to adequate), and 16 decreased it (from adequate to insufficient). 99 participants reported that their nutrition habits remained quite the same; the nutrition of 20 men changed from imbalanced to balanced, and the nutrition of only 6 men became imbalanced at the warm season.

Of note, despite the insignificant changes in sVCAM-1 and sICAM-1 levels in the whole group, significant differences in levels of soluble CAMs between the same seasons of different year were detected. Therefore, a decision to compare the group of 2012 with the group of 2013 was made in order to search for other possible clinical dissimilarities between those groups (Table 3 and Table 4). Note the significant differences in levels of sVCAM-1, sICAM-1 and sP-SEL between the groups in February/March, and in levels of sVCAM-1 only – in August/September. Serum 25(OH)D levels were significantly lower in 2013 during the warm season in comparison to those in 2012. In addition, one could note some other statistically significant differences, e.g., in leucograms of cold seasons, and in blood pressures of warm seasons. However, despite those dissimilarities, group of 2012 and group of 2013 could be considered being relatively homogenous.

Table 3. Comparison of men aged 20–39 yrs. in the same seasons but different year: lifestyle and anthropometrical data

Variable	February/March			August/September		
	2012 (n=64)	2013 (n=66)	p-value	2012 (n=62)	2013 (n=63)	p-value
Adds salt to food	29 (45.3 %)	21 (31.8 %)	0.114	23 (37.1 %)	20 (31.7 %)	0.766
Unbalanced nutrition	31 (48.4 %)	44 (66.7 %)	0.050	27 (43.5 %)	30 (47.6 %)	0.721
Inadequate physical activity	33 (51.6 %)	25 (37.9 %)	0.158	16 (25.8 %)	24 (38.1 %)	0.180
Smokers†	17 (26.6 %)	14 (21.2 %)	0.474	16 (25.8 %)	13 (20.6 %)	0.493
BMI, kg/m ²	25.24±4.47	24.13±3.45	0.379	25.03±4.38	24.16±3.44	0.379
Waist circumference, cm	88.73±10.11	85.87±8.98	0.091	86.29±10.16	84.82±9.59	0.337
Hip circumference, cm	101.88±7.13	99.67±6.89	0.075	99.22±7.28	99.83±6.76	0.629
WHR	0.87±0.05	0.86±0.05	0.344	0.87±0.06	0.85±0.06	0.022*
Waist-to-height-ratio	0.49±0.06	0.47±0.04	0.144	0.48±0.06	0.46±0.05	0.195
BAI	18.29±4.86	16.70±3.31	0.153	17.30±4.90	16.27±3.55	0.188
SBP, mmHg	117.85±10.34	116.63±10.86	0.609	111.98±11.83	116.98±9.65	0.013*
DBP, mmHg	77.15±6.65	77.20±7.54	0.893	74.92±6.07	77.78±6.75	0.031*
MBP, mmHg	90.72±7.21	90.34±7.91	0.788	87.27±7.31	90.85±7.31	0.012*

Nominal data are presented as frequency (percentage), continuous data – as mean±SD

† – frequency of smokers among men examined in the specified season of that year

* – indicates a significant difference

BMI, body mass index; WHR, waist-to-hip ratio; BAI, body adiposity index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; MBP, mean blood pressure

Table 4. Comparison of men aged 20–39 yrs. in the same seasons but different year: laboratory data

Variable	February/March			August/September		
	2012 (n=64)	2013 (n=66)	p-value	2012 (n=62)	2013 (n=63)	p-value
WBC (x 10 ⁹ /l)	6.17±1.12	6.79±1.59	0.022*	6.51±1.17	7.01±1.54	0.051
NEU (x 10 ⁹ /l)	2.85±0.73	3.09±1.00	0.121	2.96±0.81	3.10±1.07	0.61
LYM (x 10 ⁹ /l)	2.42±0.60	2.68±0.71	0.026*	2.59±0.70	2.79±0.79	0.121
MON (x 10 ⁹ /l)	0.57±0.24	0.71±0.19	<0.00001*	0.71±0.18	0.75±0.19	0.174
EOS (x 10 ⁹ /l)	0.18±0.10	0.26±0.32	0.045*	0.21±0.11	0.31±0.22	0.019*
PLT (x 10 ⁹ /l)	233.44±55.34	219.82±48.18	0.212	205.75±51.49	218.24±50.81	0.068
TCh, mmol/l	5.08±1.03	4.94±0.97	0.715	4.98±1.01	4.92±0.96	0.950
LDL-Ch, mmol/l	3.28±0.82	3.11±0.82	0.353	3.19±0.81	3.03±0.78	0.286
HDL-Ch, mmol/l	1.21±0.25	1.24±0.26	0.545	1.14±0.23	1.24±0.24	0.046*
TG, mmol/l	1.27±0.86	1.28±0.78	0.410	1.45±1.15	1.43±0.90	0.211
TCh / HDL-Ch ratio	4.41±1.43	4.15±1.15	0.432	4.60±1.65	4.08±1.06	0.242
LDL-Ch / HDL-Ch	2.87±1.04	2.62±0.89	0.260	2.94±1.11	2.52±0.81	0.044*
TG / HDL-Ch ratio	1.18±1.05	1.14±0.86	0.615	1.48±1.55	1.24±0.89	0.584
CRP, mg/ml	0.85±0.75	0.96±1.17	0.790	1.02±1.29	1.52±2.71	0.489
Glucose, mmol/l	5.23±0.40	5.22±0.40	0.886	5.21±0.43	5.25±0.45	0.609

Table 4. (continued)

25(OH)D, nmol/l	46.96±13.74	46.02±16.53	0.374	89.38±21.15	75.66±20.99	<0.001*
sVCAM-1, ng/ml	505.05±142.05	417.98±76.62	<0.0001*	413.30±138.68	579.07±203.77	<0.0001*
sICAM-1, ng/ml	162.40±29.40	302.30±78.09	<0.0001*	248.03±66.31	244.85±55.07	0.657
sE-SEL, ng/ml	34.51±13.78	32.58±11.98	0.429	33.20±12.82	35.61±11.32	0.267
sP-SEL, ng/ml	98.12±25.90	80.43±27.65	<0.001*	149.76±62.26	165.01±55.73	0.151

Nominal data are presented as frequency (percentage), continuous data - as mean±SD

* – indicates a significant difference.

WBC, white blood cell count; NEU, neutrophil count; LYM, lymphocyte count; MON, monocyte count; PLT, platelet count; TCh, total serum cholesterol; LDL-Ch, serum low-density lipoprotein cholesterol; HDL-Ch, serum high-density lipoprotein cholesterol; TG, serum triglycerides; CRP, C reactive protein; 25(OH)D, serum 25-hydroxyvitamin D; sVCAM-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; sE-SEL, soluble E-selectin; sP-SEL, soluble P-selectin.

Interestingly, levels of sVCAM-1 have decreased in 2012, but increased inter seasons in 2013 ($p < 0.00001$ for both years). In contrast, changes were vice versa for sICAM-1 ($p < 0.00001$ for both years). Levels of sE-SEL decreased not significantly in 2012 ($p=0.475$), but their increase in 2013 was significant ($p < 0.001$). Only levels of sP-SEL demonstrated an increase from warm to cold season in both years ($p < 0.00001$).

The mean values of all other parameters have changed in the same direction in both years (i.e., either increased or decreased). Changes of opposite direction were observed for BMI, SBP, DBP, MBP and HDL-Ch: for the participants in 2012, the mean values of those parameters were slightly lower at warm season in comparison to cold season; and for the participants in 2013 – contrariwise or remained almost the same. Interestingly, mean neutrophil count has changed in a reciprocal manner: in men in 2012 it was higher in warm season, but in men in 2013 – was lower in comparison to the cold season of the respective year. However, despite the opposite direction of alterations, no statistically significant differences were found when the seasonal changes of all the aforementioned parameters in 2012 were compared to those in 2013.

Such unexpected seasonal changes of some soluble CAMs, namely, the “opposite” direction of changes between years, could not be clearly explained only via the clinical data, if the possibility of laboratory bias is rejected. Therefore, we attempted to seek an acceptable explanation. We presumed that influence of environmental factors, directly not measured by us, e.g., the geomagnetic activity (GMA), might play a role in CAMs metabolism. Indeed, we found in databases that significant differences of GMA were detected in 2012 and 2013. Therefore, we tried to compare changes in levels of CAMs and changes of GMA. Fig. 3 shows the daily GMA, i.e., the A_p indices of the day when at least one participant was examined. One could note in Fig. 3 that the GMA of the cold season in 2012 and of the warm season in 2013 tended to be “larger” in comparison to that of the warm season in 2012 or the cold season in 2013. Statistical analysis of those A_p indices helped to elucidate these tendencies (Fig. 4).

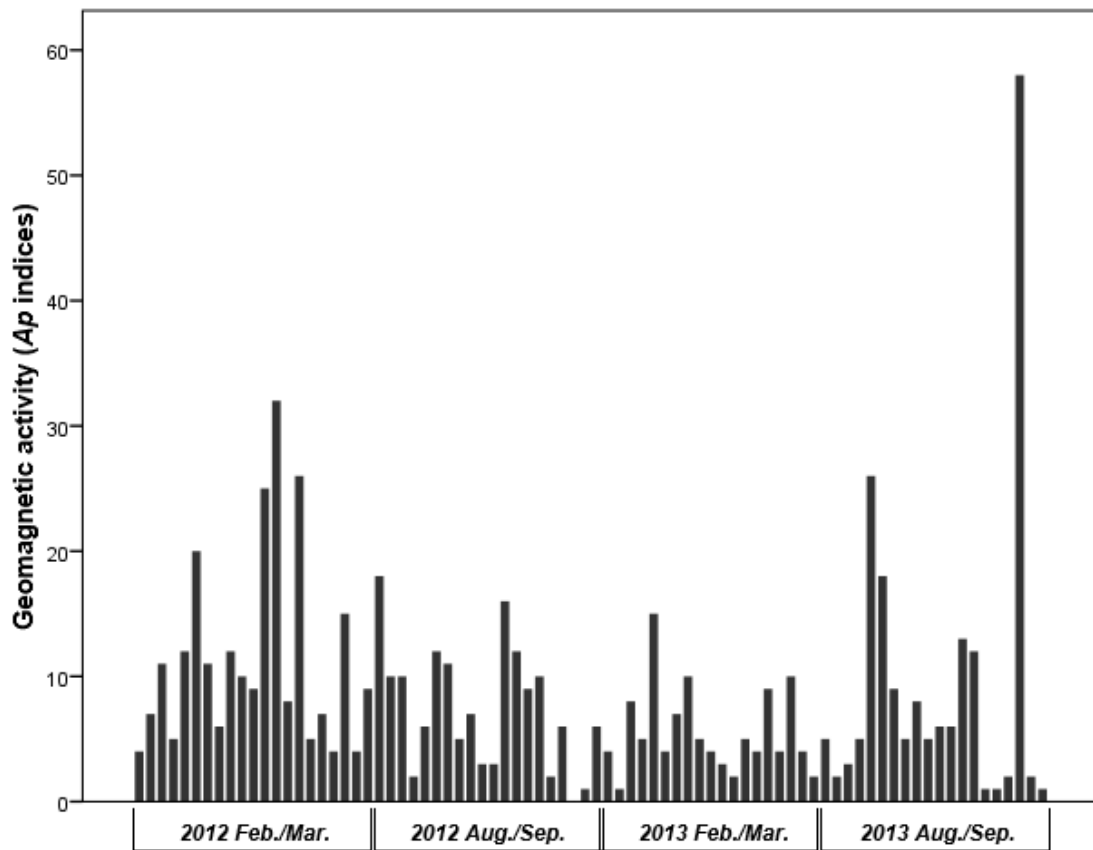


Fig. 3. Geomagnetic activity at the days of examination. Feb./Mar., February and March; Aug./Sep., August and September

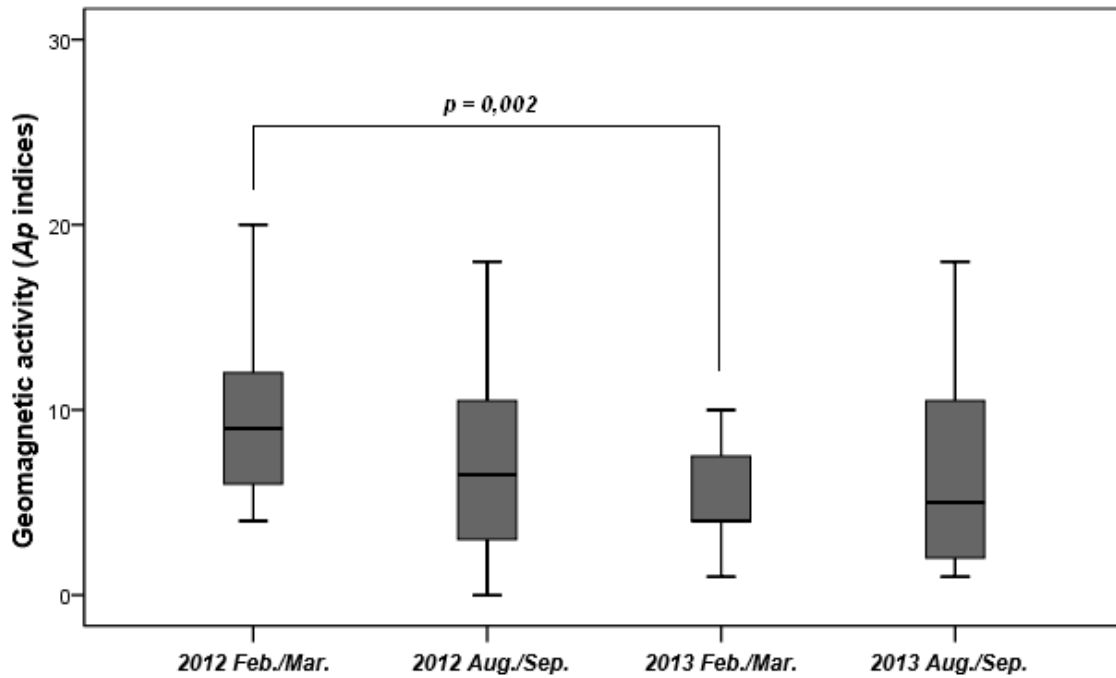


Fig. 4. Comparison of mean geomagnetic activity between periods of examination. Feb./Mar., February and March; Aug./Sep., August and September

Interestingly, changes in mean sVCAM-1 levels (Fig. 5) partly “correspond” to the changes of GMA, and changes in mean sICAM-1 levels are somehow “reciprocal” to GMA changes (Fig. 6). Changes of mean sE-SEL levels are slightly similar to those of GMA, while no such similarity or reciprocity could be seen for sP-SEL (Fig. 7 and Fig. 8, respectively).

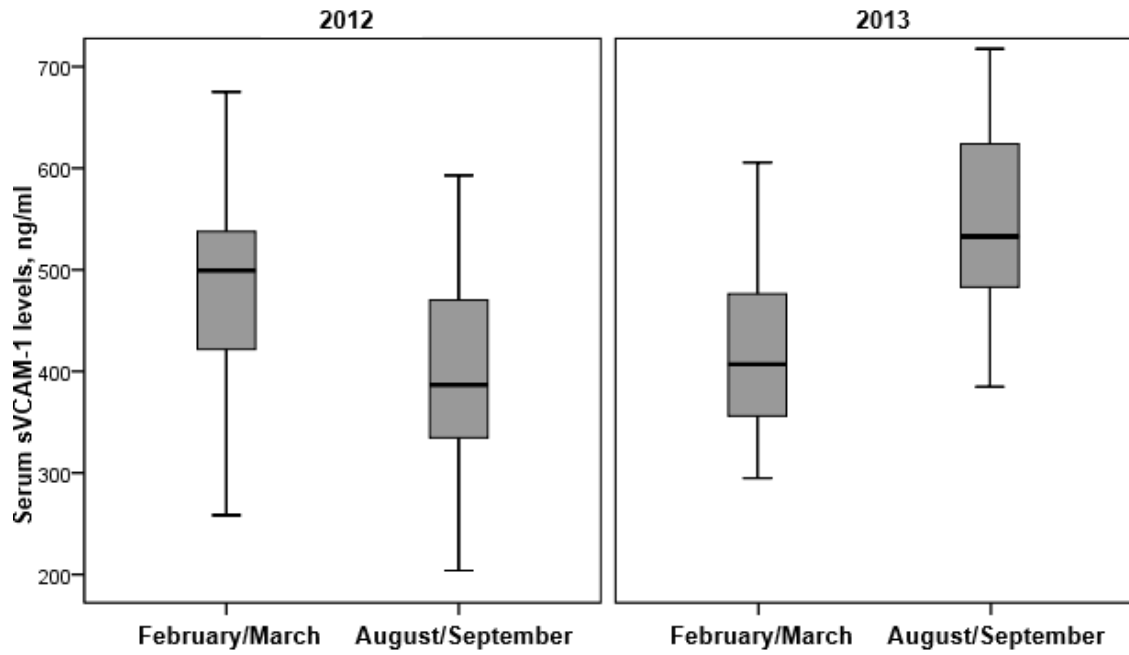


Fig. 5. Levels of serum soluble vascular cell adhesion molecule-1 among seasons in men aged 20–39 yrs.

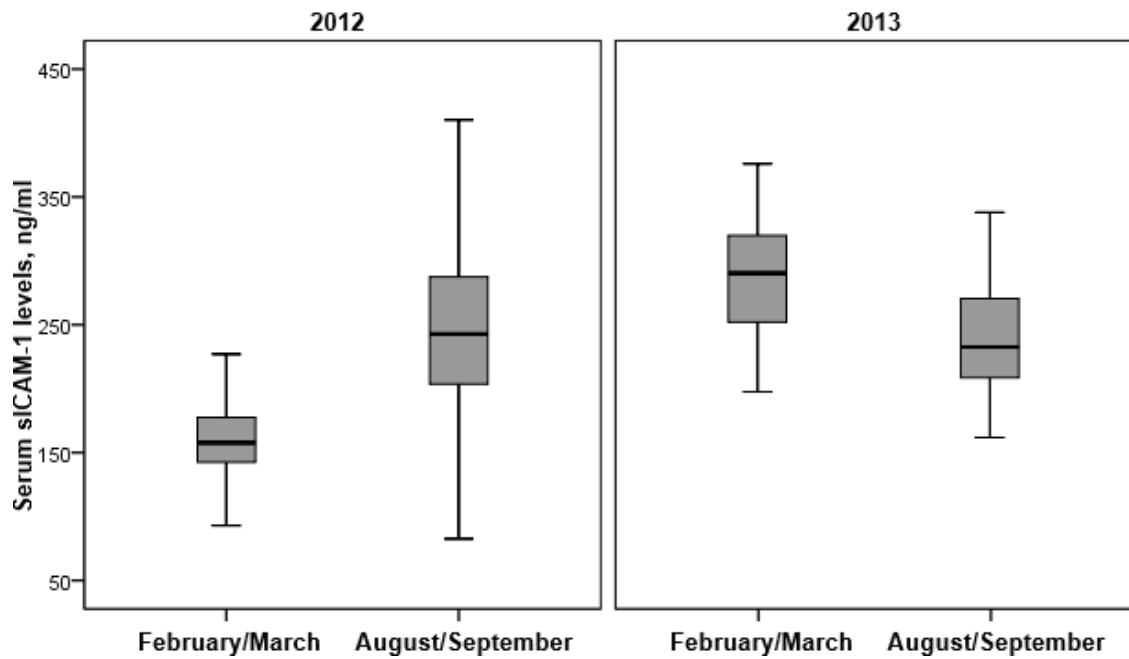


Fig. 6. Levels of serum soluble intercellular adhesion molecule-1 among seasons in men aged 20–39 yrs.

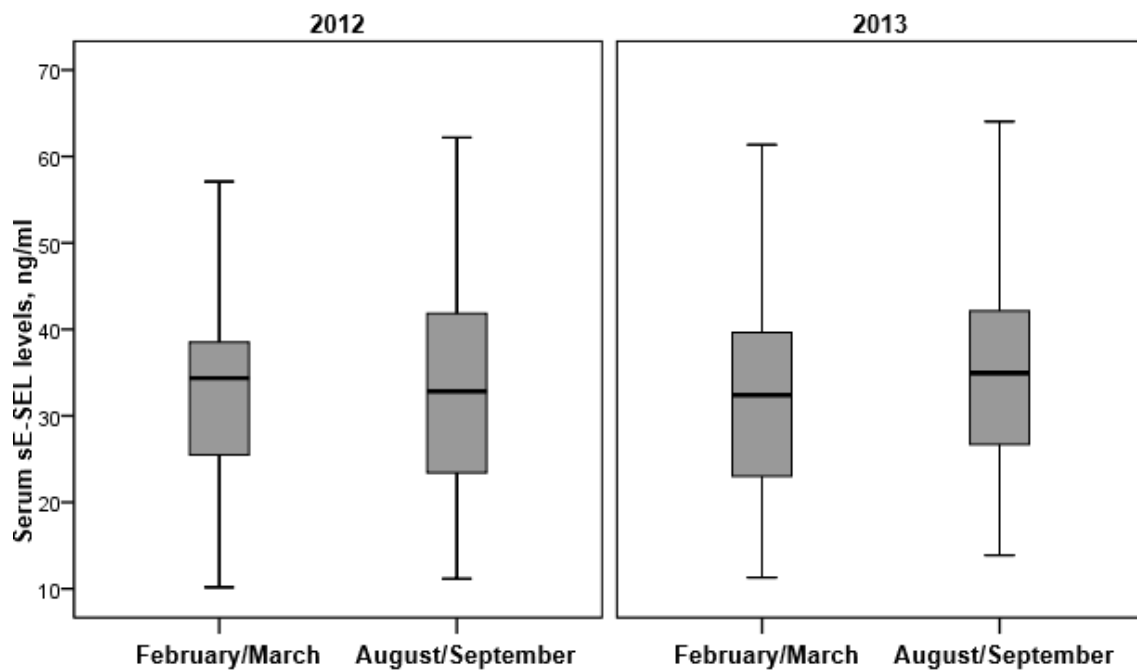


Fig. 7. Levels of serum soluble E-selectin (sE-SEL) among seasons in men aged 20–39 yrs.

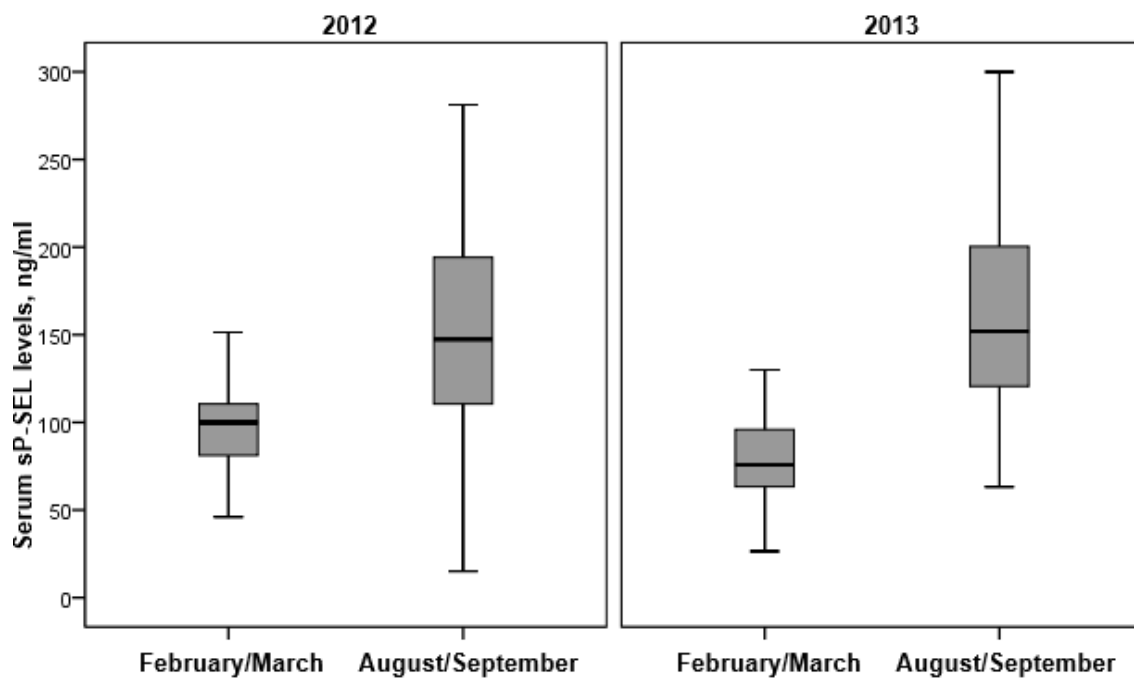


Fig. 8. Levels of serum soluble P-selectin (sP-SEL) among seasons in men aged 20–39 yrs.

Based on these findings and the data from the scientific literature concerning the GMA and its influences on the human health, a decision to consider GMA as possibly an important confounder and to include *Ap* indices in the further statistical analyses was made.

3.3. Associations among soluble cell adhesion molecules, 25-hydroxyvitamin D levels and other parameters during cold season

In the whole sample (n=130) there were no significant correlations between 25(OH)D and soluble CAMs. However, some weak, but significant correlations were found for GMA (Table 5). There were no significant correlations between 25(OH)D and GMA, neither between 25(OH)D and other continuous variables.

Table 5. Correlations of levels of soluble cell adhesion molecules with 25(OH)D levels and geomagnetic activity at cold season in men aged 20–39 yrs. (n=130)

Variable	sVCAM-1		sICAM-1		sE-SEL		sP-SEL	
	r	p	r	p	r	p	r	p
25(OH)D	0.040	0.654	-0.140	0.111	-0.042	0.638	0.017	0.843
GMA	0.176	0.045*	-0.378	<0.00001*	0.072	0.415	0.201	0.022*

* – indicates a significant correlation

r, Spearman correlation coefficient; p, its p value; 25(OH)D, serum 25-hydroxyvitamin D; GMA, geomagnetic activity (in *Ap* indices); sVCAM-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; sE-SEL, soluble E-selectin; sP-SEL, soluble P-selectin

Multivariate linear regression analyses for the each soluble CAM as a dependent variable were performed. Note that GMA was found to be a significant predictor in some regression models (Table 6). 25(OH)D was not included in any of these models. However, separate regression analysis for each year (not including GMA as a potential confounder) was made in order to seek for possible significant associations for 25(OH)D, and 25(OH)D was included in model for sP-

SEL of all men in 2012 (Table 7) and in model for sE-SEL of non-obese men in 2013 (Table 8).

Table 6. Multiple linear regression models predicting levels of soluble adhesion molecules from various parameters during cold season in whole group of men aged 20–39 yrs. (n=130)

Dependent variable	Model adjR² / p	Predictors	B	β	p
sVCAM-1	0.133 / 0.0001	TCh	−40.78	−0.34	<0.0001
		Inadequate physical activity	48.47	0.200	0.017
		GMA	3.19	0.17	0.039
sICAM-1	0.202 / <0.00001	GMA	−4.25	−0.30	<0.001
		MON	109.12	0.27	0.001
		Age	−3.64	−0.18	0.022
sE-SEL	0.126 / <0.0001	BMI	0.97	0.30	<0.001
		NEU	2.46	0.17	0.047
sP-SEL	0.114 / <0.001	PLT	0.14	0.26	0.003
		GMA	0.99	0.23	0.006

adjR², adjusted coefficient of determination; B, unstandardized regression coefficient; β, standardized regression coefficient; sVCAM-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; sE-SEL, soluble E-selectin; sP-SEL, soluble P-selectin; TCh, total serum cholesterol; GMA, geomagnetic activity (in Ap indices); MON, monocyte count (x 10⁹/l); BMI, body mass index; NEU, neutrophil count (x 10⁹/l); PLT, platelet count (x 10⁹/l)

Table 7. Multiple linear regression models predicting levels of soluble adhesion molecules from various parameters during cold season in men aged 20–39 yrs. examined per season

Dependent variable	Year / n	Model adjR² / p	Predictors	B	β	p-value
sVCAM-1	2012 / 64	0.151 / 0.003	LDL-Ch Inadequate physical activity	-60.59 83.20	-0.35 0.30	0.004 0.015
sVCAM-1	2013 / 66	0.240 / <0.0001	TCh	-39.56	-0.50	<0.0001
sICAM-1	2012 / 64		<i>No significant predictors found</i>			
sICAM-1	2013 / 66	0.148 / 0.002	PLT Smoking	0.46 51.62	0.28 0.27	0.017 0.021
sE-SEL	2012 / 64	0.157 / 0.001	DBP	0.86	0.41	0.001
sE-SEL	2013 / 66	0.134 / 0.001	Waist-to-height ratio	102.80	0.38	0.001
sP-SEL	2012 / 64	0.203 / <0.001	CRP 25(OH)D	16.09 0.49	0.47 0.26	<0.001 0.030
sP-SEL	2013 / 66	0.229 / <0.0001	PLT	0.28	0.49	<0.0001

adjR², adjusted determination coefficient; B, unstandardized coefficient; β , standardized coefficient; sVCAM-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; sE-SEL, soluble E-selectin; sP-SEL, soluble P-selectin; LDL-Ch, serum low-density lipoprotein cholesterol; TCh, total serum cholesterol; PLT, platelet count (x 10⁹/l); DBP, diastolic blood pressure; CRP, C reactive protein; 25(OH)D, serum 25-hydroxyvitamin D

Table 8. Multiple linear regression models predicting levels of soluble adhesion molecules from various parameters during cold season in non-obese (BMI less than 30) men aged 20–39 yrs. examined per season

Dependent variable	Year / n	Model adjR² / p	Predictors	B	β	p-value
sVCAM-1	2012 / 54	0.125 / 0.005	Waist circumference	-6.99	-0.38	0.005
sVCAM-1	2013 / 61	0.246 / <0.0001	TCh	-39.52	-0.51	<0.0001
sICAM-1	2012 / 54	0.057 / 0.045	Age	1.96	0.27	0.045
sICAM-1	2013 / 61	0.212 / <0.001	BAI Smoking	9.97 58.69	0.36 0.34	0.003 0.005
sE-SEL	2012 / 54	0.080 / 0.022	HDL-Ch	-16.32	-0.31	0.022
sE-SEL	2013 / 61	0.232 / <0.001	BAI 25(OH)D	1.88 0.18	0.44 0.26	<0.001 0.022
sP-SEL	2012 / 54	0.237 / <0.001	CRP	18.34	0.50	<0.001
sP-SEL	2013 / 61	0.264 / <0.0001	25(OH)D PLT	0.46 0.30	0.26 0.53	0.040 <0.0001

adjR², adjusted determination coefficient; B, unstandardized coefficient; β , standardized coefficient; sVCAM-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; sE-SEL, soluble E-selectin; sP-SEL, soluble P-selectin; TCh, total serum cholesterol; BAI, body adiposity index; HDL-Ch, serum high-density lipoprotein cholesterol; 25(OH)D, serum 25-hydroxyvitamin D; CRP, C reactive protein; PLT, platelet count (x 10⁹/l)

In addition, all the CAMs were compared between VitD deficiency group and VitD insufficiency group; men with normal 25(OH)D levels (n=4) were not included in this analysis due to small size of this group. Mean sVCAM-1 levels were slightly higher in VitD insufficiency group (492.36±143.13 ng/ml vs. 445.28±109.37 ng/ml, respectively, p=0.031), and no significant differences were found for other 3 CAMs. However, it should be pointed out that VitD deficiency group was 2-fold larger (84 vs. 42 persons). In addition, VitD deficiency group had higher mean MON (p=0.037), PLT (p=0.019) and SBP (p=0.021).

3.4. Associations among soluble cell adhesion molecules, 25-hydroxyvitamin D levels and other parameters during warm season

In the group of 125 men examined in the warm season, 25(OH)D correlated significantly with sVCAM-1 levels. GMA had no significant correlations with any soluble CAM (Table 9). 25(OH)D also correlated significantly with TG (r=0.282, p=0.001), LEU (r=0.193, p=0.031), NEU (r=0.223, p=0.012) and glucose (r=0.180, p=0.044), but not with GMA.

Table 9. Correlations of levels of soluble cell adhesion molecules with 25(OH)D levels and geomagnetic activity at warm season in men aged 20–39 yrs. (n=125)

Variable	sVCAM-1		sICAM-1		sE-SEL		sP-SEL	
	r	p	r	p	r	p	r	p
25(OH)D	-0.204	0.023*	-0.037	0.682	-0.055	0.539	-0.019	0.834
GMA	-0.081	0.368	0.042	0.639	0.133	0.138	0.064	0.476

* – indicates a significant correlation

r, Spearman correlation coefficient; p, its p value; 25(OH)D, serum 25-hydroxyvitamin D; GMA, geomagnetic activity (in Ap indices); sVCAM-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; sE-SEL, soluble E-selectin; sP-SEL, soluble P-selectin

Multivariate linear regression models were made for each soluble CAM. 25(OH)D was included in the model for sVCAM-1 (Table 10).

Table 10. Multiple linear regression models predicting levels of soluble adhesion molecules from various parameters during warm season in whole group of men aged 20–39 yrs. (n=125)

Dependent variable	Model adjR ² / p	Predictors	B	β	p
sVCAM-1	0.400 / <0.00001	CRP	42.60	0.47	<0.00001
		WHR	−1306.28	−0.40	<0.00001
		Smoking	−80.74	−0.18	0.013
		PLT	−0.56	−0.15	0.037
		25(OH)D	−1.27	−0.15	0.043
sICAM-1	0.132 / <0.0001	HDL-Ch	−70.53	−0.28	0.001
		MON	76.49	0.24	0.006
sE-SEL	0.155 / <0.0001	Waist circumference	0.33	0.27	0.002
		Unbalanced nutrition	−5.58	−0.23	0.008
		NEU	2.36	0.19	0.036
		Smoking	4.97	0.17	0.041
sP-SEL	0.122 / <0.001	PLT	0.41	0.36	<0.0001
		TCh	−12.09	−0.20	0.022

adjR², adjusted coefficient of determination; B, unstandardized regression coefficient; β, standardized regression coefficient; sVCAM-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; sE-SEL, soluble E-selectin; sP-SEL, soluble P-selectin; CRP, C reactive protein; WHR, waist-to-hip ratio; PLT, platelet count (x 10⁹/l); 25(OH)D, serum 25-hydroxyvitamin D; HDL-Ch, serum high-density lipoprotein cholesterol; MON, monocyte count (x 10⁹/l); NEU, neutrophil count (x 10⁹/l); TCh, total serum cholesterol

Similarly to the cold season’s data, a separate regression analysis for each year (not including GMA as a potential confounder) was also made. However, 25(OH)D was not included in any of such models when each CAM was considered as a dependent variable.

Mean levels of all soluble CAMs were compared between VitD insufficiency group (n=41) and VitD sufficiency group (n=79); no significant differences were found. Since VitD deficiency group was very small (n=5), it was not included in this analysis.

3.5. Associations among changes in soluble cell adhesion molecules levels and changes of other parameters

Change (Δ , or delta) of each continuous variable means the difference between its value in the warm season and the value in the cold season. In the group of 125 men examined twice, some significant correlations were found both for $\Delta 25(\text{OH})\text{D}$ and ΔGMA (Table 11). In addition, $\Delta 25(\text{OH})\text{D}$ correlated significantly with ΔMON ($r=0.233$, $p=0.009$) or $\Delta \text{glucose}$ ($r=0.192$, $p=0.032$).

Table 11. Correlations of changes in levels of soluble cell adhesion molecules with changes in 25(OH)D levels and changes in geomagnetic activity in men aged 20–39 yrs. (n=125)

Variable	$\Delta \text{sVCAM-1}$		$\Delta \text{sICAM-1}$		$\Delta \text{sE-SEL}$		$\Delta \text{sP-SEL}$	
	r	p	r	p	r	p	r	p
$\Delta 25(\text{OH})\text{D}$	-0.256	0.004*	0.270	0.002*	-0.018	0.844	0.086	0.342
ΔGMA	0.268	0.002*	-0.160	0.075	0.030	0.736	0.215	0.016*

* – indicates a significant correlation

r, Spearman correlation coefficient; p, its p value; $\Delta \text{sVCAM-1}$, changes in soluble vascular cell adhesion molecule-1 levels; $\Delta \text{sICAM-1}$, changes in soluble intercellular adhesion molecule-1 levels; $\Delta \text{sE-SEL}$, changes in soluble E-selectin levels; $\Delta \text{sP-SEL}$, changes in soluble P-selectin levels; $\Delta 25(\text{OH})\text{D}$, changes in serum 25-hydroxyvitamin D; ΔGMA – changes in geomagnetic activity (in A_p indices)

Separate multivariate linear regression analyses having changes of appropriate soluble CAM levels as a dependent variable were performed. Note that ΔGMA and $\Delta 25(\text{OH})\text{D}$ were included in some of those models (Table 12).

Table 12. Multiple linear regression models predicting changes in soluble adhesion molecules levels from changes in various parameters in the whole group of men aged 20–39 yrs. examined in both seasons (n=125)

Dependent variable	Model adjR² / p	Predictors	B	β	p
ΔsVCAM-1	0.434 / <0.00001	ΔCRP	47.00	0.48	<0.00001
		ΔMBP	7.24	0.24	0.001
		ΔWHR	-1344.73	-0.24	0.001
		ΔGMA	4.17	0.22	0.002
		Δ25(OH)D	-1.74	-0.19	0.007
ΔsICAM-1	0.283 / <0.00001	ΔHC	-9.52	-0.32	<0.001
		ΔPLT	-0.87	-0.34	<0.0001
		ΔTG	23.81	0.17	0.030
		Δ25(OH)D	0.70	0.17	0.031
ΔsE-SEL	0.097 / 0.002	ΔPLT	0.04	0.20	0.022
		ΔHDL-Ch	9.67	0.21	0.014
		ΔWBC	1.26	0.18	0.040
ΔsP-SEL	0.028 / 0.034	ΔGMA	1.14	0.19	0.034

adjR², adjusted coefficient of determination; B, unstandardized regression coefficient; β, standardized regression coefficient; ΔsVCAM-1, changes in soluble vascular cell adhesion molecule-1 levels; ΔsICAM-1, changes in soluble intercellular adhesion molecule-1 levels; ΔsE-SEL, changes in soluble E-selectin levels; ΔsP-SEL, changes in soluble P-selectin levels; ΔCRP, changes in C reactive protein levels; ΔMBP, changes in mean blood pressure; ΔWHR, changes of waist-to-hip ratio; ΔGMA, changes of geomagnetic activity (in Ap indices); Δ25(OH)D, changes in serum 25-hydroxyvitamin D levels; ΔHC, changes of hip circumference; ΔPLT, changes in platelet count (x 10⁹/l); ΔTG, changes in serum triglycerides levels; ΔHDL-Ch, changes in serum high-density lipoprotein cholesterol levels; ΔWBC, changes in white blood cell count (x 10⁹/l)

Since there were seasonal changes of physical activity category for some men, we compared the changes of each soluble CAM levels between the group of men who's physical activity level remained the same (either adequate or not, n=78), group of men who became “normally” physically active (from inadequate activity in cold season, n=31) and those who became less active (from “normal” activity in cold season, n=16); no significant differences were detected in changes of soluble CAMs' levels.

In addition, all the men examined twice were grouped into 3 terciles regarding the changes in serum 25(OH)D levels, and those groups were compared by changes in each soluble CAM levels. In men who's 25(OH)D levels has increased less than 26.0 nmol/l, the mean change in sVCAM-1 levels was significantly different (of note, with unequal direction) from that in men who's 25(OH)D levels have increased more than 44.10 nmol/l (84.55 ± 215.12 ng/ml and -26.89 ± 163.95 ng/ml, respectively, $p=0,012$). For mean changes in sICAM-1 levels, a reciprocity of such dissimilarities was observed (-9.90 ± 82.47 and 41.98 ± 84.22 ng/ml, respectively; $p=0,022$). In the group with the largest increase in 25(OH)D levels, the majority of men had a decrease in sVCAM-1 levels and an increase in sICAM-1 levels. In contrast, in the group with the lowest increase in 25(OH)D levels, the majority of members had an increase in sVCAM-1 levels and decrease in sICAM-1 levels. Similarly to sICAM-1, sE-SEL changes demonstrated a certain direction: increase in levels of sE-SEL was the largest in the group of the largest increases in 25(OH)D levels, although no statistically significant differences were found for both Δ sE-SEL and Δ sP-SEL among these groups. The comparison of these groups by changes of other clinical parameters and GMA revealed no statistically significant differences.

4. CONCLUSIONS

1. Serum vitamin D levels in young apparently healthy men demonstrated clear seasonality: mean 25-hydroxyvitamin D levels at the warm season were almost two-folds higher in comparison to the cold season. More than one-third of the young apparently healthy men had low vitamin D at both seasons.
2. Serum levels of soluble P-selectin in young apparently healthy men were found to have remarkable seasonal changes: mean soluble P-selectin levels at the warm season were significantly higher in comparison to the cold season.
3. No clear seasonality has been found for serum levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1, soluble intercellular adhesion molecule-1 and soluble E-selectin. The changes in levels of all these three soluble cell adhesion molecules in men of the first study year were quite different from those in men of the second study year.
4. Significant seasonal relationships of serum 25-hydroxyvitamin D levels with serum levels of two soluble cell adhesion molecules have been found: inverse associations with soluble vascular cell adhesion molecule-1 at the warm season and direct associations – with soluble P-selectin at the cold season.
5. Current smokers had higher serum soluble E-selectin and soluble intercellular adhesion molecule-1 levels, and anthropometric parameters – indicators of overweight and obesity – directly correlated with soluble E-selectin levels. An increase of C-reactive protein levels has been found and is associated with higher levels of both these two soluble cell adhesion molecules.

SUMMARY IN LITHUANIAN

Įvadas

Širdies ir kraujagyslių (ŠK) sistemos ligos tebėra aktuali visuomenės sveikatos problema. Nepaisant naujausių diagnostikos ir gydymo pasiekimų, sergamumas ir mirtingumas nuo šių ligų, ypač Vakarų šalyse, išlieka gana didelis. Tai lemia ne tik blogesnę gyvenimo kokybę, bet ir milžiniškas išlaidas sveikatos priežiūrai. Pagrindinė tokios situacijos priežastis – nepakankama kova su tradiciniais ŠK ligų rizikos veiksniais. Tikėtina, kad jų egzistuoja ir kitų, dar šiuo metu neatrastų. Pastarąjį dešimtmetį aptinkama vis daugiau naujų ŠK ligų rizikos veiksnių, kurių poveikio mechanizmai tebėra nepakankamai ištirti. Turint svarių įrodymų apie vieno ar kito veiksnio reikšmę ŠK ligų atsiradimui, bus rastos ir tinkamiausios poveikio priemonės tokių veiksnių įtakai sumažinti.

Pastaruoju metu daug dėmesio skiriama vitamino D (Vit. D) stokos problemai ir jo sąsajoms su organizmo veiklos ypatumais bei įvairiais sveikatos sutrikimais. Seniai žinoma apie Vit. D reikšmę kauliniam audiniui, bet, gausėjant duomenų apie šio vitamino vaidmenį kitiems audiniams bei organams, Vit. D atrandamas iš naujo. Kai kurie autoriai Vit. D trūkumą jau įvardija kaip nepriklausomą ŠK ligų rizikos veiksnį. Daugelio epidemiologinių tyrimų rezultatai iš tiesų parodė Vit. D trūkumo sąsajas su padidėjusia kai kurių ŠK ligų rizika. Visgi trūksta duomenų, kaip keistūsi ŠK ligų eiga, papildomai vartojant Vit. D preparatų, kokios turėtų būti optimalios jų dozės, gydymo ar profilaktikos trukmė. Kiekvienais metais atrandami įrodymai paruošia dirvą naujiems moksliniams tyrimams, tarp jų ir analizuojantiems įvairius Vit. D poveikio ŠK sistemai aspektus. Šiuo metu nėra visiškai aišku, kaip Vit. D geba paveikti kraujagyslių endotelio funkciją, tuo pačiu – ir ankstyvuosius kraujagyslių funkcijų sutrikimus, ir kokio lygmens Vit. D atsargos organizme yra būtinos optimaliam ŠK sistemos funkcionavimui. Be to, didesnė dalis klinikinių tyrimų, vertinusių Vit. D svarbą ligų patogenezėje, atlikti, tiriant jau sergančius arba pagyvenusius asmenis. Gana nedaug yra tyrimų, atliktų jauniems ir palyginti sveikiems asmenims, kuriems

mažiausiai tikėtini dideli struktūriniai kraujagyslių pokyčiai. Tokie asmenys paprastai nevartoja vaistų, galinčių reikšmingai paveikti endotelį.

Nustatyta, kad kai kurios ŠK ligos pasižymi tam tikru sezoniškumu. Antai miokardo infarktas dažniau ištinka žiemą – tuo metu, ypač vidutinio klimato šalyse, linkęs didėti ir arterinis kraujospūdis. Sausio mėnesį kur kas dažniau mirštama nuo širdies nepakankamumo, o rugpjūtį – daug rečiau, palyginti su vidutiniu mėnesio mirštamumu. Žinoma, kad vienas svarbiausių mechanizmų, vystantis ūmiems ŠK sindromams, yra tokių medžiagų kaip adhezijos molekulės pagausėjimas, bylojantis apie padidėjusį endotelio, trombocitų bei leukocitų aktyvumą. Visgi tokių dėsningumų priežastys nėra visiškai aiškios. Aptiktos sergamumo ir mirtingumo nuo ŠK ligų sąsajos su aplinkos veiksniais, kaip antai Saulės aktyvumo, Žemės magnetinio lauko stiprumo bei kosminės spinduliuotės, kitimais. Šie kitimai gali lemti vadinamųjų ūmios fazės biožymenų pokyčius organizme. Kita vertus, vadinamųjų „kosminių“ veiksmų stiprumas ir pobūdis gali kisti įvairiai, nebūtinai tik sezoniškai pagal metų laikus, todėl pavieniai autoriai užsimena ir apie galimas sergamumo kitimų sąsajas su Vit. D. Atkreiptinas dėmesys, jog Lietuva patenka tarp šalių, kuriose dėl klimato ypatumų (mažai saulėtų dienų) ir kitų priežasčių Vit. D trūkumas tebėra aktuali įvairaus amžiaus žmonių problema. Mūsų žiniomis, iki šiol Lietuvoje nebuvo atlikta mokslinių tyrimų, nagrinėjančių Vit. D atsargų kitimą tiems patiems asmenims skirtingais metų laikotarpiais. Moksliniu požiūriu „nevienmomenčio“ tipo tyrimai, t. y. dinaminiai ilgalaikiai arba serijiniai, ypač vertinant sezoninius Vit. D koncentracijos kitimus ir jų galimas sąsajas su įvairiais sveikatos sutrikimais bei ankstyvaisiais kraujagyslių endotelio pažeidimo biožymenimis, yra daug vertingesni ir įvairių autorių dažniau rekomenduojami. Manome, kad mūsų atlikti tyrimai padės įvertinti ne tik sveikų jaunų vyrų Vit. D koncentracijos kitimus skirtingais sezonais, bet ir šių kitimų galimas sąsajas su ankstyvaisiais kraujagyslių endotelio pažeidimo žymenimis. Tikimės, kad mūsų tyrimo rezultatai papildys šiuolaikinę sampratą tiek apie Vit. D sezoninių svyravimų, tiek apie Žemės

magnetinio aktyvumo poveikį kraujagyslių endoteliui bei aiškinimus apie kai kurių ŠK sindromų ar kitų sveikatos sutrikimų sezoniškumo galimas priežastis.

Darbo tikslas

Ištirti jaunų vyrų sezoninius vitamino D koncentracijos kitimus kraujyje ir nustatyti šių kitimų sąsajas su tirpiosiomis kraujagyslių endotelio ląstelių adhezijos molekulėmis.

Darbo uždaviniai

1. Įvertinti jaunų vyrų 25-hidroksi-vitamino D koncentraciją kraujo serume šiltojo ir šaltojo sezono metu.
2. Įvertinti adhezijos molekulių – kraujagyslių ląstelių prilipimo molekulės-1, tarpląstelinio prilipimo molekulės-1, E-selektino ir P-selektino – tirpiųjų formų koncentraciją kraujo serume šiltuoju ir šaltuoju metų sezonu.
3. Nustatyti 25-hidroksi-vitamino D koncentracijos sąsajas su adhezijos molekulių tirpiųjų formų koncentracijomis.
4. Išanalizuoti adhezijos molekulių tirpiųjų formų koncentracijos sezoninių skirtumų sąsajas su sezoniniais 25-hidroksi-vitamino D koncentracijos svyravimais.
5. Įvertinti tirpiųjų adhezijos molekulių ir vitamino D koncentracijos koreliacinių ryšių ypatumus su kai kuriais tradiciniais širdies ir kraujagyslių ligų veiksniais atspindinčiais rodikliais (antsvorio / nutukimo rodikliais, rūkymu, lipidų ir C reaktyviojo baltymo koncentracija kraujyje ir kt.).

Mokslinis darbo naujumas ir aktualumas

Atlikti dinaminiai Vit. D koncentracijos kraujyje tyrimai jaunų (20–39 m.) Lietuvos vyrų grupėje ir nustatyti dideli sezoniniai Vit. D atsargų svyravimai. Šie duomenys papildo kitose Europos šalyse anksčiau atliktų tyrimų žinias ir leidžia teigti, kad Lietuvos gyventojams galima pritaikyti kitų tyrėjų aptiktas šio reiškinio sąsajas su imuninio atsako kitimu bei sergamumo kai kuriomis ligomis,

pavyzdžiui, infekcinėmis kvėpavimo takų, sezoniškumu. Beveik visiems tirtosios amžiaus grupės vyrams nustatytas Vit. D trūkumas šaltuoju sezonu, tačiau net ketvirtadaliui tiriamųjų Vit. D nepakako ir šiltuoju laikotarpiu. Taigi Vit. D trūkumo problema Lietuvai yra aktuali ne tik šaltuoju metų laiku. Gydytojai turėtų dažniau savo pacientus paraginti išsitiirti 25-hidroksi-vitamino D koncentraciją kraujo serume ir, esant Vit. D stokai, rekomenduoti vartoti Vit. D preparatų. Kita vertus, jau artėjant šaltajam laikotarpiui, reiktų apsvarstyti galimybę profilaktiškai vartoti Vit. D papildų, ypač didesnės rizikos grupių asmenims. Vit. D koncentracijos tyrimas galėtų būti įdiegtas į kasdienę šeimos gydytojo praktiką.

Vit. D poveikio ŠK sistemai, ypač funkciniam kraujagyslių pokyčiams, aspektai yra palyginti mažai tyrinėti. Šiame darbe kompleksiskai vertintos 25-hidroksi-vitamino D ir jo kitimų sąsajos su tirpiosiomis endotelio adhezijos molekulėmis bei šių molekulių sezonine kaita jaunų sveikų vyrų grupėje. Nustatyta, kad kai kurios šių sąsajų yra tiesioginės, o ne atvirkštinės. Tokie rezultatai leidžia teigti, kad Vit. D pasižymi labai sudėtingu, daugialypiu poveikiu kraujagyslių endoteliui, t. y. geba paveikti ne tik adhezijos molekulių raišką ląstelėse, bet ir šių molekulių tirpiųjų formų atpalaidavimą į kraują. Be to, tikėtina, jog kai kurių tirpiųjų adhezijos molekulių sezoninis pagausėjimas kraujo serume nebūtinai įrodo endotelio disfunkciją, o priešingai – atspindi sumažėjusią širdies bei kraujagyslių ligų riziką. Kita vertus, kai kurių tirpiųjų adhezijos molekulių koncentracijų pokyčių nebuvo galima paaiškinti 25-hidroksi-vitamino D ar kitų įprastų klinikinių parametrų kitimais. Tai paskatino panagrinėti sąsajų su kitų aplinkos veiksnių, kaip antai Žemės magnetinio aktyvumu, galimybes. Mūsų žiniomis, iki šiol nebuvo atlikta tyrimo, nagrinėjusio būtent tirpiųjų adhezijos molekulių koncentracijos ir Žemės magnetinio aktyvumo kitimų sąsajas. Tikimės, jog mūsų rezultatai paskatins kitus tyrėjus toliau tirti Vit. D sąsajas tiek su tirpiosiomis, tiek su ląstelių paviršiuje fiksuotomis adhezijos molekulėmis formomis, taip pat – tyrinėti žmogaus organizmui svarbių aplinkos veiksnių, pavyzdžiui, Žemės magnetinio aktyvumo, įtaką endotelio aktyvinimo žymenims.

Tirti asmenys ir tyrimo metodai

Reikiamas imties dydis apskaičiuotas pagal konvencinę formulę, tinkamą tyrimams, kuriuose vertinama koreliacija, atsižvelgiant į tai, kad dalis tiriamųjų gali neatvykti antrajam ištyrimui. Dalyvauti tyrime buvo kviečiami sąlygiškai sveiki 20–39 m. amžiaus vyrai, atsitiktinai atrinkti iš VŠĮ Vilniaus Centro poliklinikos pacientų sąrašo. Neįtraukimo į tyrimą kriterijai: nesutikimas atlikti kurios nors tyrimo procedūros; širdies ir kraujagyslių sistemos ligos; kitos lėtinės ligos (endokrininės, medžiagų apykaitos, kvėpavimo sistemos, kraujo ir kraujodaros organų, sisteminės jungiamojo audinio, psichikos ligos, piktybiniai navikai); nuolatinis vaistų arba maisto papildų vartojimas; persirgta miokardo infarktas, galvos smegenų insultas arba trombozė; atlikta chirurginė procedūra mažiau nei prieš 3 mėnesius; asmuo neturi galimybių atvykti į ištyrimo vietą du kartus per metus. Vilniaus regioninis biomedicininis tyrimų etikos komitetas 2011-10-04 išdavė leidimą atlikti biomedicininį tyrimą, leidimo Nr. 158200-10-403-107.

Mokslinis tyrimas iš dalies finansuotas projekto „Aukštos kvalifikacijos specialistų, atitinkančių valstybės ir visuomenės poreikius, biomedicinos srityje rengimo tobulinimas (BIOMEDOKT)“ lėšomis (projekto kodas VP1-3.1-ŠMM-01-V-03-002).

Šio tyrimo tipas – serijinis: tie patys asmenys buvo tiriami du kartus per metus pagal tą patį protokolą. Pirmasis ištyrimas vyko vasario arba kovo mėnesiais („šaltasis“ sezonas), antrasis – rugpjūčio arba rugsėjo mėnesiais („šiltasis“ sezonas). Tyrimas vyko 2012 m. ir 2013 m. Tiriamųjų apklausa, apžiūra ir kraujo ėminių paėmimas vyko VŠĮ Vilniaus Centro poliklinikos Vytenio PASPC. Laboratoriniai kraujo tyrimai buvo atliekami VUL Santariškių klinikų Laboratorinės medicinos centre. Duomenų analizėje naudoti Žemės magnetinio aktyvumo rodikliai – *Ap* indeksai – gauti iš viešai prieinamų Potsdame įsikūrusio Vokietijos Geomokslų tyrimo centro (vok. *Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum*) duomenų bazių.

Tiriamųjų apklausa buvo vykdoma tiesiogiai, tyrėjui apklausos rezultatus fiksuojant anketoje. Joje buvo registruojami demografiniai duomenys ir gyvensenos (rūkymo, mitybos, fizinio aktyvumo) ypatumai, taip pat antropometriniai ir laboratorinių tyrimų rodikliai.

Visiems vyrams buvo matuojamas ūgis, svoris, juosmens (JA) ir klubų apimtis (KA), tiriamiesiems dėvint lengvus viršutinius drabužius ir nusiavus batus. Apskaičiuotas kūno masės indeksas (KMI), t. y. kūno masę (kg) dalijant iš ūgio (m), pakelto kvadratu, bei kiti išvestiniai rodikliai: juosmens apimties (cm) ir klubų apimties (cm) santykis (JKS); juosmens apimties (cm) ir ūgio (cm) santykis (JUS); kūno nutukimo indeksas (KNI) pagal formulę $KNI = \frac{\text{liemens apimtis (cm)}}{\text{ūgis (m)}^{1,5}} - 18$.

Abiejų rankų sistolinis ir diastolinis arterinis kraujo spaudimas matuotas sėdint, naudojant standartinį žasto manometrą. Kiekvienos rankos kraujospūdis matuotas 2 kartus ir apskaičiuoti jų sistolinio ir diastolinio kraujospūdžių aritmetiniai vidurkiai. Abiejų rankų sistolinio ir diastolinio arterinio kraujospūdžio verčių aritmetiniai vidurkiai atitinkamai žymimi SKS ir DKS. Vidutinis arterinis kraujo spaudimas (VAKS) apskaičiuotas pagal formulę $VAKS = \frac{1}{3} \times SKS + \frac{2}{3} \times DKS$.

Kraujo mėginiai laboratoriniams tyrimams buvo imami tiriamajam gulint iš alkūninės venos. Bent 12 valandų iki kraujo mėginių paėmimo pacientas turėjo būti nevalgęs ir nerūkęs. Bendrasis kraujo tyrimas buvo atliekamas *Sysmex E-5000* (*Sysmex corporation*, Japonija) hematologiniu analizatoriumi. Be 25OH-D, dar buvo tiriami šie biocheminiai kraujo rodikliai: C reaktyviojo baltymo (CRB) koncentracija, bendrojo cholesterolio (BCh) koncentracija, trigliceridų (TAG) koncentracija, MTL cholesterolio (MTL-Ch) koncentracija, DTL cholesterolio (DTL-Ch) koncentracija, gliukozės koncentracija. Dauguma biocheminių kraujo tyrimų atlikti, naudojant automatinį *Architect ci8200* analizatorių (*Abbott Laboratories*, JAV). 25OH-D koncentracija tirta chemiliuminescencinės imunologinės analizės metodu. Vit. D atsargos įvertintos, remiantis 2011 m. paskelbtomis Tarptautinės endokrinologų draugijos Vit. D kiekio įvertinimo,

gydymo ir profilaktikos gairėmis. 25OH-D koncentracijai esant mažesnei nei 50 nmol/l, buvo konstatuojamas Vit. D trūkumas; esant bent 50 nmol/l, bet mažesnei negu 75 nmol/l koncentracijai – Vit. D nepakankamumas. Jeigu 25OH-D koncentracija buvo bent 75 nmol/l, laikyta, kad Vit. D atsargos yra normalios.

Visi laboratoriniai tyrimai, išskyrus 25OH-D ir tirpiųjų adhezijos molekulių, buvo atliekami kraujo mėginių pristatymo į laboratoriją dieną. Dalis kiekvieno tiriamojo serumo 25OH-D ir tirpiųjų adhezijos koncentracijos nustatymui iki šių tyrimų atlikimo buvo laikomi užšaldyti –20 °C temperatūroje. Visų 4 tirpiųjų adhezijos molekulių koncentracija kraujo serume buvo tiriami „sumuštinio“ tipo imunofermeninės analizės metodu (*ELISA*), naudojant kiekvienai tirpiajai adhezijos molekulei atskirą *Quantikine* reagentų rinkinį (*R&D Systems*, JAV); šviesos signalo intensyvumas vertintas mikroplokštelių spektrofotometru *EpochTM* (*Biotek*, JAV).

Statistinė duomenų analizė atlikta, naudojant *SPSS 22.0 for Windows* programų paketą. Aprašomoji statistika kiekybiniais duomenimis pateikiama vidurkių ir standartinių nuokrypių (SN) pavidalu, kokybiniais – dažnių ir santykinų dažnių (procentais) pavidalu. Kiekybinių duomenų pasiskirstymo pagal normalųjį dėsnį prielaida tikrinta, naudojant Šapiro ir Vilko testą. Tiesiniams ryšiams tarp kiekybinių kintamųjų nustatyti skaičiuoti Spirmeno koreliacijos koeficientai (r). Kategorinių duomenų nepriklausomumui įvertinti buvo taikomas χ^2 (Ksi-kvadratu) kriterijus. Kategorinių duomenų pokyčių tarp sezonų reikšmingumo įvertinimui naudotas Maknemaro kriterijus.

Dviejų grupių intervalinių kintamųjų vidurkių skirtumai buvo palyginti, naudojant Stjudento t kriterijų; jei netenkinta kintamųjų normališkumo prielaida – Mano ir Vitnio U kriterijų. Trijų grupių vidurkiai ir jų dispersijos lygintos, naudojant vienfaktorinę dispersinę analizę (*ANOVA*); esant reikšmingiems skirtumams tarp grupių, buvo atliekami poriniai *post hoc* palyginimai, naudojant Bonferonio kriterijų. Jei netenkinta kintamųjų normališkumo prielaida – neparametrinis Kruskalio ir Voliso testas. Siekiant įvertinti nepriklausomų kintamųjų poveikį priklausomiems kintamiesiems, sudarinėti įvairūs daugialypės

tiesinės regresijos modeliai, taikant „Pirmyn“ metodą. Be kiekybinių kaip nepriklausomi kintamieji į modelius buvo įtraukiami ir kategoriniai rodikliai: rūkymas (koduojama 1, jeigu rūko dabar, 0 – jeigu nerūko), mitybos ypatumai (nesubalansuota mityba – 1, subalansuota – 0; pasūdo maistą – 1, nepasūdo – 0), fizinis aktyvumas (pakankamas – 0, nepakankamas – 1). Skirtumai laikyti statistiškai reikšmingais, jeigu palyginimui naudoto kriterijaus p reikšmė buvo mažesnė už 0,05 ($p < 0,05$). Visur pateikiamos dvipusės p reikšmės.

Rezultatai

Iš viso tyrime dalyvavo 130 vyrų, iš kurių 125 tirtis atvyko du kartus. Vidutinis tiriamųjų amžius įtraukimo (pirmojo ištyrimo) dieną – $30,0 \pm 4,6$ m. Dauguma tirtų vyrų buvo nerūkantys: niekada nerūkę – 58 (44,61 proc.), rūkę anksčiau – 41 (31,54 proc.), rūkantys – 31 (23,85 proc.).

Aptikome, kad šaltuoju sezonu Vit. D nepakako 64,62 proc., trūko – 32,30 proc. tirtų vyrų, tačiau kritiškai mažos atsargos (25OH-D mažiau nei 25 nmol/l) nustatytos tik dviem vyrams. Šiltuoju sezonu daugumai vyrų Vit. D atsargos buvo normalios, tačiau daugiau nei trečdaliui visų tiriamųjų Vit. D nepakako arba trūko (atitinkamai 32,80 proc. ir 4 proc.). Sugrupavus visus tiriamuosius pagal kūno masės indekso kategoriją (normalaus svorio; turintys antsvorį; nutukę), pastebėta, kad abiem sezonais Vit. D nepakankamumo bei Vit. D trūkumo atvejų buvo visose grupėse.

Siekdami nustatyti sezoninius skirtumus, palyginome visų du kartus tirtų vyrų ($n=125$) atskirų sezonų – šiltojo ir šaltojo – gyvenamos, antropometrinius ir laboratorinius rodiklius. Nustatėme, kad vidutinė 25OH-D koncentracija šiltuoju sezonu buvo beveik du kartus didesnė (atitinkamai $82,46 \pm 22,09$ nmol/l ir $46,90 \pm 15,31$ nmol/l, $p < 0,00001$). sP-SEL ($157,45 \pm 59,32$ ng/ml vs. $89,23 \pm 28,37$ ng/ml, $p < 0,0001$) bei sE-SEL ($34,41 \pm 12,10$ ng/ml vs. $33,19 \pm 12,88$ ng/ml, $p=0,036$) pagausėjimas šiltuoju laikotarpiu buvo statistiškai reikšmingas. O sVCAM-1 ir sICAM-1, nors ir padidėjo, bet statistiškai nereikšmingai (atitinkamai $496,85 \pm 192,74$ ng/ml vs. $462,58 \pm 123,11$ ng/ml, $p=0,055$ ir $246,43 \pm 60,68$ ng/ml

vs. $230,93 \pm 90,69$ ng/ml, $p=0,092$). Šiltuoju sezonu buvo statistiškai reikšmingai didesnis bendrasis leukocitų (LEU) ir kai kurių LEU frakcijų ląstelių skaičius kraujyje. Trombocitų (TRC) skaičius šiltuoju laikotarpiu buvo mažesnis, o CRB bei TG – didesnis. Šiltuoju sezonu statistiškai reikšmingai sumažėjo tirtų vyrų liemens ir klubų apimtys, LKS, JUS, KNI, SKS ir VAKS. Reikia pažymėti, kad daugumos minėtų rodiklių skirtumai absoliučia skaitine verte gana nedideli.

Be to, nustatėme kai kurių gyvenamosios pokyčių bendroje imtyje ($n=125$). Antai 78 vyrų fizinio aktyvumo lygmuo nepakito, bet 31 – padidėjo (t. y. iš nepakankamo tapo pakankamu), 16 – sumažėjo (iš pakankamo tapo nepakankamu). 99 tiriamųjų mitybos pobūdis liko toks pat, 20 – pagerėjo (iš nesubalansuotos tapo subalansuota), tik 6 – pablogėjo (tapo nesubalansuota šiltuoju sezonu). Taigi, remiantis apklausos duomenimis, galima teigti, kad šiltuoju metų laiku tiriamieji būna judresni, o jų mityba pagerėjo (dažniau valgo daržovių bei vaisių), palyginti su šaltuoju sezonu.

Nors sVCAM-1 ir sICAM-1 koncentracija bendrojoje grupėje tarp sezonų reikšmingai nesiskyrė, pastebėta, kad šių molekulių koncentracijos kraujyje skyrėsi tarp atskirų metų analogiškų sezonų. Vidutinė sVCAM-1 koncentracija šaltuoju sezonu 2012 m. buvo reikšmingai didesnė negu 2013 m. (atitinkamai $505,05 \pm 142,05$ ng/ml ir $417,98 \pm 76,62$ ng/ml, $p < 0,0001$), o šiltuoju sezonu 2012 m. mažesnė už 2013 m. analogiško sezono (atitinkamai $413,30 \pm 138,68$ ng/ml ir $579,07 \pm 203,77$ ng/ml, $p < 0,0001$). Vidutinė sICAM-1 koncentracija šaltuoju sezonu 2012 m. buvo mažesnė negu 2013 m. (atitinkamai $162,40 \pm 29,40$ ng/ml ir $302,30 \pm 78,09$ ng/ml, $p < 0,0001$), tačiau šiltuoju sezonu 2012 m. reikšmingai nesiskyrė nuo 2013 m. ($248,03 \pm 66,31$ ng/ml ir $244,85 \pm 55,07$ ng/ml, $p=0,657$). Vidutinė tirpiojo P-selektino koncentracija 2012 m. šaltuoju sezonu buvo šiek tiek didesnė, palyginti su 2013 m. šaltuoju ($98,12 \pm 25,90$ ng/ml ir $80,43 \pm 27,65$ ng/ml, $p < 0,001$), tačiau 2012 m. šiltuoju ir 2013 m. šiltuoju sezonu tarpusavyje reikšmingai nesiskyrė (atitinkamai $149,76 \pm 62,26$ ng/ml ir $165,01 \pm 55,73$ ng/ml, $p=0,151$). Tirpiojo E-selektino koncentracija reikšmingai nesiskyrė tarp dviejų metų tiriamųjų nei šaltuoju, nei šiltuoju sezonu.

Tikintis aptikti ir kitų klinikinių parametru skirtumų, kurie padėtų paaiškinti minėtus tAM dėsniumus, buvo nuspręsta atlikti išsamesnę rodiklių analizę tarp metų. Palygintos įvairios asmenų charakteristikos, gautos tiriant tuo pačiu sezonu, bet atskirais metais, t. y. palyginti 2012 m. vyrai su 2013 m. vyrais. Nustatėme kai kurių statistiškai reikšmingų skirtumų. Pavyzdžiui, LEU skaičius kraujyje buvo didesnis 2013 m. šaltuoju laikotarpiu, palyginti su 2012 m. šaltuoju, o SKS, DKS ir VAKS 2013 m. šiltuoju sezonu buvo šiek tiek didesni negu 2012 m. šiltuoju. 2012 m. tiriamųjų Vit. D atsargos šiltuoju laikotarpiu buvo kiek didesnės negu 2013 m. tiriamųjų. Visgi, vertinant pagal daugumą kitų parametru, tiriamųjų grupės 2012 m. ir 2013 m. buvo gana panašios.

Aptikome, kad kai kurių tAM koncentracijos tarp sezonų pakito nevienodomis kryptimis. Antai sVCAM-1 2012 m. akivaizdžiai sumažėjo, o 2013 m. padidėjo ($p < 0,00001$ abejais metais). Tuo tarpu sICAM-1 2012 m. padidėjo, o 2013 m. – sumažėjo ($p < 0,00001$ abejais metais). sE-SEL koncentracija 2012 m. sumažėjo nedaug ir nereikšmingai ($p = 0,475$), tačiau 2013 m. padidėjimas buvo statistiškai reikšmingas ($p < 0,001$). sP-SEL koncentracija padidėjo ir 2012 m., ir 2013 m. ($p < 0,00001$).

Visi kiti rodikliai, turint omenyje jų vidutines reikšmes, pakito tokia pačia kryptimi abejais metais, t. y. arba mažėjo, arba didėjo. Nevienodo pobūdžio kitimas buvo būdingas tik klubų apimčiai, KMI, SKS, DKS, VAKS bei DTL-Ch: 2012 m. tiriamiesiems šių rodiklių vidurkiai šiltuoju sezonu buvo šiek tiek mažesni negu šaltuoju, o 2013 m. tiriamiesiems – priešingai – šiltuoju didesni. Atvirkščia tendencija pasižymėjo neutrofilų skaičius – 2012 m. vyrams vidutiniškai šiek tiek padidėjo, o 2013 m. – sumažėjo tarp sezonų. Nors ir būdami priešingos krypties, statistiškai reikšmingai šie 2012 ir 2013 m. rodiklių pokyčiai tarpusavyje nesiskyrė.

Tokius ne vienos, o kelių tAM netikėtus kitimus gana sudėtinga pagrįsti kitų rodiklių dinaminiais kitimais. Atmetę laboratorinės analizės klaidų tikimybę, darėme prielaidą, kad tirpiųjų AM apykaitą galėjo veikti kiti laikui bėgant kintantys veiksniai, pavyzdžiui, gamtiniai, kurių nematavome. Vokietijos

Geomokslų tyrimo centro duomenų bazėse aptikome, kad 2012 m. ir 2013 m. registruoti gana aiškūs ŽMA (*Ap* indeksu) mūsų tyrimo laikotarpiais skirtumai. O kitų „kosminių“ veiksnių, pavyzdžiui, Saulės aktyvumo ar kosminių spindulių srautų, didesnių skirtumų mūsų tirtaisiais laikotarpiais nebuvo. Pastebėjome, kad ŽMA 2012 m. šaltuoju ir 2013 m. šiltuoju sezonu vidutiniškai buvo didesnis negu 2012 m. šiltuoju ar 2013 m. šaltuoju. Todėl pabandėme tAM koncentracijų kitimą sugretinti su ŽMA svyravimais. Nustatėme, kad vidutinės sVCAM-1 koncentracijos kitimai šiek tiek priminė ŽMA kitimą, o vidutinės sICAM-1 koncentracijos kitimai buvo tarsi „atvirkštiniai“ pastarajam. Vidutinės tirpiojo E-selektino koncentracijos pokyčiai iš dalies primena ŽMA pokyčius, o štai vidutinės tirpiojo P-selektino koncentracijos kitimai tokiomis analogijomis nepasižymėjo. Atsižvelgiant į tokius atradimus ir remiantis ankstesnių mokslinių tyrimų apie ŽMA ir įvairių žmogaus sveikatos rodiklių sąsajas išvadamis, darytina prielaida, kad ŽMA galimai susijęs bent su kai kurių tAM koncentracijų kitimais bei jų skirtumais tarp atskirų metų. Todėl nuspręsta *Ap* indeksą greta 25OH-D koncentracijos įtraukti į tolesnius analizės etapus kaip svarbų rodiklį.

Šaltuoju sezonu visoje grupėje ($n=130$) 25OH-D koncentracijos koreliacijos su tAM koncentracijomis buvo labai silpnos ir nereikšmingos. Tačiau aptikome nors ir silpnų, bet reikšmingų ŽMA koreliacijų su kai kuriomis tAM koncentracijomis: su sVCAM-1 ($r=0,176$, $p=0,045$), su sICAM-1 ($r=-0,378$, $p<0,00001$) ir su sP-SEL ($r=0,201$, $p=0,022$). 25OH-D reikšmingai nekoreliavo nė su vienu iš kiekybinių klinikinių rodiklių. Reikšmingų 25OH-D koreliacijų su ŽMA irgi nebuvo. Sudarant daugialypės tiesinės regresijos modelius, priklausomu kintamuoju buvo kiekvienos iš keturių tirtųjų tAM koncentracija. Į tris modelius visai imčiai ($n=130$) kaip reikšmingas kintamasis buvo įtrauktas ŽMA, bet ne 25OH-D: į sVCAM-1 modelį ($\beta=0,17$, $p=0,039$), į sICAM-1 modelį ($\beta=-0,30$, $p<0,001$) ir į sP-SEL modelį ($\beta=0,23$, $p=0,006$). Be to, į sVCAM-1 modelį buvo dar buvo įtrauktas BCh ($\beta=-0,34$, $p<0,0001$) ir nepakankamas fizinis aktyvumas ($\beta=0,200$, $p=0,017$), į sICAM-1 modelį – MON ($\beta=0,27$, $p=0,001$) bei amžius ($\beta=-0,18$, $p=0,022$). Į sE-SEL modelį kaip nepriklausomas kintamasis dar buvo

įtrauktas KMI ($\beta=0,30$, $p<0,001$) ir NEU ($\beta=0,17$, $p=0,047$), o į sP-SEL – TRC ($\beta=0,26$, $p=0,003$). Panašūs modeliai, tik neįtraukiant į analizę ŽMA, buvo sudaromi atskirų tyrimo metų tiriamiesiems. 25OH-D kaip reikšmingas nepriklausomas kintamasis buvo įtrauktas į visų 2012 m. vyrų ($n=64$) tirpiojo P-selektino modelį ($\beta=0,49$, $p=0,03$) ir nenutukusių 2013 m. vyrų ($n=61$) tirpiojo E-selektino modelį ($\beta=0,26$, $p=0,022$). Statistiškai reikšmingų 25OH-D koncentracijos skirtumų tarp normalios kūno masės vyrų ($n=78$), antsvorio turinčių ($n=37$) bei nutukėlių ($n=15$) šaltuoju sezonu nebuvo rasta (vidutinė 25OH-D koncentracija atitinkamai $45,45\pm 13,64$ nmol/l, $50,63\pm 19,30$ nmol/l ir $41,65\pm 7,94$ nmol/l). Palyginus tAM koncentracijas tarp normalios kūno masės vyrų ($n=78$) ir antsvorio turinčių arba nutukusių ($n=52$), reikšmingų sICAM-1 ir sP-SEL skirtumų neaptikta. Tačiau normalios kūno masės vyrams buvo būdinga didesnė sVCAM-1 ($482,70\pm 130,58$ ng/ml vs. $428,07\pm 98,34$ ng/ml, $p=0,004$) ir mažesnė sE-SEL koncentracija ($30,62\pm 11,78$ ng/ml vs. $37,89\pm 13,34$ ng/ml, $p=0,002$). Palyginus tAM koncentracijas tarp grupių, sudarytų pagal vieną gyvenamosios veiksnį, statistiškai reikšmingų tAM koncentracijų skirtumų neaptikta nei tarp rūkančių ($n=31$) ir nerūkančių ($n=99$), nei tarp pakankamai ($n=58$) ir nepakankamai ($n=78$) fiziškai aktyvių, nei tarp maistą sūdančių ($n=50$) ir nesūdančių ($n=80$), nei tarp nesubalansuotai ($n=75$) ir subalansuotai ($n=55$) besimaitinančių ($p>0,05$). Dar lyginome visų 4 tAM koncentracijas tarp Vit. D avitaminozės (25OH-D koncentracija mažesnė nei 50 nmol/l) ir Vit. D hipovitaminozės (25OH-D koncentracija 50–74,9 nmol/l) grupių. Nustatėme, jog sVCAM-1 koncentracija šiek tiek didesnė hipovitaminozės grupėje ($492,36\pm 143,13$ ng/ml vs. $445,28\pm 109,37$ ng/ml, $p=0,031$), o kitų tAM koncentracijos reikšmingai nesiskyrė. Tačiau aptikto sVCAM-1 skirtumo tarp tų grupių vertingumas abejotinas, nes avitaminozės grupė šaltuoju sezonu buvo du kartus gausesnė negu hipovitaminozės (atitinkamai 84 ir 42 asmenys). Be to, minėtos grupės reikšmingai skyrėsi pagal kai kuriuos kitus parametrus: avitaminozės grupėje buvo didesnis vidutinis MON ($p=0,037$) ir TRC ($p=0,019$) bei SKS ($p=0,021$).

Šiltuoju sezonu (n=125) 25OH-D koncentracijos reikšmingai koreliavo su sVCAM-1 koncentracija ($r=-0,204$, $p=0,023$); koreliacijos su kitų tAM koncentracijomis buvo labai silpnos ir nereikšmingos. Reikšmingų ŽMA ir tAM koreliacijų nebuvo. 25OH-D reikšmingai nekoreliavo nė su vienu iš kiekybinių rodiklių, išskyrus TAG ($r=-0,282$, $p=0,001$), LEU ($r=-0,193$, $p=0,031$), NEU ($r=-0,223$, $p=0,012$) bei gliukoze ($r=-0,180$, $p=0,044$). Reikšmingų 25OH-D koreliacijų su ŽMA nebuvo. Buvo sudaromi tiesinės daugialypės regresijos modeliai kiekvienai tirpiajai adhezijos molekulei. 25OH-D buvo įtrauktas į modelį sVCAM-1 ($\beta=-0,15$, $p=0,043$), o ŽMA nebuvo įtrauktas nė į vieną modelį. Be to, į sVCAM-1 modelį dar buvo įtraukti kiti kintamieji: CRB ($\beta=0,47$, $p<0,00001$), LKS ($\beta=-0,40$, $p<0,00001$), rūkymas ($\beta=-0,18$, $p=0,013$) bei TRC ($\beta=-0,15$, $p=0,037$), o į sICAM-1 modelį – DTL-Ch ($\beta=-0,28$, $p=0,001$) ir MON ($\beta=0,24$, $p=0,006$). Į sE-SEL modelį įtraukta liemens apimtis ($\beta=0,27$, $p=0,002$), nesubalansuota mityba ($\beta=-0,23$, $p=0,008$), NEU ($\beta=0,19$, $p=0,036$) ir rūkymas ($\beta=0,17$, $p=0,041$), o į sP-SEL modelį – TRC ($\beta=0,36$, $p<0,0001$) bei BCh ($\beta=-0,20$, $p=0,022$). Kaip ir šaltojo sezono duomenims, buvo sudaromi tiesinės daugialypės regresijos modeliai, kai priklausomu kintamuoju yra kiekvienos tAM koncentracija, atskirų tyrimo metų tiriamiesiems – visiems vyrams, tik nenutukusiems ir tik normalios kūno masės vyrams. Tačiau nė į vieną iš pastarųjų modelių 25OH-D kaip reikšmingas nepriklausomas kintamasis nebuvo įtrauktas. Palyginus tAM koncentracijas tarp bendros imties normalios kūno masės vyrų (n=77) ir antsvorio turinčių arba nutukusių (n=48), reikšmingų sICAM-1 ir sP-SEL skirtumų neaptikta. Tačiau, kaip ir šaltuoju sezonu, normalios kūno masės vyrams buvo būdinga didesnė sVCAM-1 ($528,30\pm 218,28$ ng/ml vs. $446,40\pm 129,38$ ng/ml, $p=0,01$) ir mažesnė sE-SEL koncentracija ($31,72\pm 11,23$ ng/ml vs. $38,73\pm 12,29$ ng/ml, $p=0,001$). 25OH-D koncentracija tarp normalios kūno masės vyrų (n=77) ir antsvorio turinčių vyrų (n=33) reikšmingai nesiskyrė (atitinkamai $85,38\pm 22,09$ nmol/l ir $83,12\pm 18,86$ nmol/l, $p=0,742$). Tačiau nutukusių vyrų (n=15) 25OH-D koncentracija ($66,03\pm 18,05$ nmol/l) buvo reikšmingai mažesnė negu pirmųjų dviejų grupių (atitinkamai $p=0,001$ ir

$p=0,003$). Kadangi nutukusių buvo palyginti nedaug, sujungėme juos į vieną grupę su antsvorio turinčiais ir nustatėme, kad šios grupės ($n=48$) vidutinė 25OH-D koncentracija ($77,78\pm 20,91$ nmol/l) taip pat mažesnė negu normalios kūno masės vyrų ir šis skirtumas beveik reikšmingas ($p=0,061$). Dar palyginome visų 4 tAM koncentracijas tarp Vit. D hipovitaminozės (25OH-D koncentracija 50–74,9 nmol/l, $n=41$) ir Vit. D pakankamumo (25OH-D koncentracija bent 75 nmol/l, $n=79$) grupių; reikšmingų tAM skirtumų tarp šių grupių neaptikta.

Analizuojant sąsajas tarp rodiklių pokyčių, kiekvieno kiekybinio rodiklio skirtumas tarp dviejų sezonų, t. y. pokytis (delta, žymimas Δ) buvo apskaičiuotas taip: Δ rodiklis=rodiklio vertė (šiltuoju sezonu) – rodiklio vertė (šaltuoju sezonu). Visų pakartotinai ištirtų vyrų grupėje ($n=125$) aptikta reikšmingų Δ 25OH-D koreliacijų su Δ sVCAM-1 ($r=-0,256$, $p=0,004$) ir Δ sICAM-1 ($r=0,270$, $p=0,002$) ir reikšmingų arba beveik reikšmingų Δ ŽMA koreliacijų su trijų tAM pokyčiais: su Δ sVCAM-1 ($r=0,268$, $p=0,002$), Δ sICAM-1 ($r=-0,160$, $p=0,075$) ir Δ sP-SEL ($r=0,215$, $p=0,016$). Buvo sudaromi tiesinės daugialypės regresijos modeliai, kai priklausomas kintamasis yra kiekvienos iš 4 tirtųjų tAM koncentracijos pokytis. Į modelį Δ sVCAM-1 pateko Δ 25OH-D ($\beta = -0,19$, $p=0,007$) ir Δ ŽMA ($\beta=0,22$, $p=0,002$); į modelį Δ sICAM-1 – Δ 25OH-D ($\beta = 0,17$, $p=0,031$), į modelį Δ sP-SEL – Δ ŽMA ($\beta=0,19$, $p=0,034$). Kadangi bendroje imtyje buvo tam tikrų gyvenenos pokyčių tarp sezonų, tikrinome, ar kai kurie iš tų kitimų kaip nors siejasi su tAM pokyčiais. Lyginome kiekvienos iš 4 tAM koncentracijų kitimus tarp kelių grupių: vyrų, kurių fizinio aktyvumo lygmuo nepakito ($n=78$); vyrų, kurių šis lygmuo sumažėjo (16) ir vyrų, kurių šis lygmuo padidėjo ($n=31$), tačiau reikšmingų skirtumų tarp tAM pokyčių neradome. Dar lyginome vyrų, kurių mitybos pobūdis nepakito ($n=99$), tAM pokyčius su tų, kurių mityba pagerėjo, t. y. kurie daržovių ir vaisių ėmė vartoti bent 3 kartus per dieną ($n=21$), bet reikšmingų skirtumų neaptikome. Be to, visi du kartus ištirti vyrai buvo suskirstyti pagal 25OH-D koncentracijos pokyčius į terciles ir palyginti tAM pokyčiai tarp šių grupių. Vyrų, kurių 25OH-D koncentracija padidėjo mažiau negu 26 nmol/l, sVCAM-1 pokytis reikšmingai skyrėsi nuo vyrų, kurių 25OH-D koncentracija padidėjo daugiau nei

44,10 nmo/l (atitinkamai $84,55 \pm 215,12$ ng/ml ir $-26,89 \pm 163,95$ ng/ml, $p=0,012$); sICAM-1 pokyčiams stebėta priešinga tendencija (atitinkamai $-9,90 \pm 82,47$ ng/ml ir $41,98 \pm 84,22$ ng/ml, $p=0,022$). Nustatėme, kad asmenų, kurių Vit. D atsargos padidėjo daugiausiai, grupėje vyravo asmenys, kurių sVCAM-1 sumažėjo, o sICAM-1 – padidėjo. O asmenų, kurių 25OH-D koncentracija mažiausiai pakito, grupėje daugiausiai buvo vyrų, kurių sVCAM-1 didėjo, o sICAM-1 mažėjo. Tirpiojo E-selektino koncentracijos pokyčiams būdingas panašus į sICAM-1 dėsningumas: vidutiniškai sE-SEL koncentracija labiau didėjo grupėje, kurios nariams labiausiai padidėjo ir 25OH-D koncentracija. Įdomu tai, kad, palyginus šias 3 grupes pagal kitų rodiklių (antropometrinių, laboratorinių ir ŽMA) pokyčius, reikšmingų skirtumų neaptikome.

Išvados

1. Jaunų sąlyginai sveikų vyrų vitamino D koncentracijai kraujo serume būdingas aiškus sezoniškumas: vidutinė 25-hidroksi-vitamino D koncentracija šiltuoju sezonu, palyginti su šaltuoju, beveik 2 kartus didesnė. Daugiau nei trečdaliui jaunų sąlyginai sveikų vyrų per mažos vitamino D atsargos nustatytos abiem sezonais.
2. Jauniems sąlyginai sveikiems vyrams nustatyti tirpiojo P-selektino koncentracijos kraujyje sezoniniai skirtumai: vidutinė tirpiojo P-selektino koncentracija šiltuoju sezonu, palyginti su šaltuoju, yra reikšmingai didesnė.
3. Tirpiųjų kraujagyslių ląstelių prilipimo molekulės-1, tarpląstelinio prilipimo molekulės-1 ir E-selektino koncentracijų kraujo serume pokyčiams nėra būdingas aiškios krypties sezoniškumas: pirmųjų tyrimo metų vyrų šių trijų molekulių koncentracijų kitimų pobūdis reikšmingai skyrėsi nuo antrųjų tyrimo metų vyrų.
4. Nustatytos reikšmingos sezoninės 25-hidroksi-vitamino D koncentracijos kraujyje sąsajos su dviejų tirpiųjų adhezijos molekulių koncentracija kraujyje: atvirkštinio pobūdžio – su tirpiaja kraujagyslių ląstelių prilipimo

molekulės-1 šiltuoju sezonu ir tiesioginės – su tirpiuoju P-selektinu šaltuoju sezonu.

5. Rūkantiems vyrams nustatyta didesnė tirpiojo E-selektino bei tirpiosios tarpląstelinio prilipimo molekulės-1 koncentracija, o antsvorį ir nutukimą atspindintys antropometriniai rodikliai teigiamai koreliavo su tirpiojo E-selektino koncentracija. C reaktyviojo baltymo pagausėjimas susijęs su didesnėmis abiejų šių tirpiųjų adhezijos molekulių koncentracijomis.

LIST OF PUBLICATIONS

1. Bleizgys A., Šapoka V. Vitamino D nepakankamumas – širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksnys. *Laboratorinė medicina* 2012; 14(1):40–47.
2. Bleizgys A., Šapoka V. 25-hidroksi-vitamino D ir endotelio disfunkcijos biožymenų sąsajos. *Laboratorinė medicina* 2012; 14(3):115–129.
3. Bleizgys A., Šapoka V. Associations of serum 25-hydroxyvitamin D with levels of soluble cell adhesion molecules: First results from repeated cross-sectional study of young men. *Int J Card* 2013; 169(6):e104–5; DOI: 10.1016/j.ijcard.2013.10.032.
4. Bleizgys A., Šapoka V. 25-hidroksi-vitamino D sezoniniai kitimai ir sąsajos su antropometriniais bei laboratoriniais rodikliais. *Laboratorinė medicina* 2013; 15(4):188–193.

PRESENTATIONS AT CONFERENCES ON THE SUBJECT OF DISSERTATION

1. Bleizgys A. Vitaminas D ir širdies ir kraujagyslių ligos. Įrodymais pagrįstos medicinos draugijos kasmetinė konferencija. 2011 m. spalio 27 d., Vilnius.
2. Bleizgys A., Šapoka V. Constant low vitamin D – risk factor for obesity and cardiovascular diseases in modern societies. Tarptautinė konferencija „Evoliucinė medicina: nauji senųjų problemų sprendimai“. 2012 m. birželio 12–15 d., Vilniaus universitetas.
3. Bleizgys A., Šapoka V. Vitamino D koncentracijos kraujyje ir tirpiųjų adhezijos molekulių – endotelio disfunkcijos biožymenų – sąsajos. LMA Jaunųjų mokslininkų konferencija „Bioateitis: gamtos ir gyvybės mokslų perspektyvos“. 2012 m. gruodžio 5 d., Vilnius.

4. Bleizgys A., Šapoka V. Associations of serum 25-hydroxyvitamin D with biomarkers of endothelial dysfunction: first results from repeated cross-sectional study of young men. 6-asis Baltijos Aterosklerozės kongresas. 2013 m. spalio 11–12 d., Ryga, Latvija.
5. Bleizgys A., Šapoka V. Jaunų vyrų 25-hidroksi-vitamino D ir tirpiųjų adhezijos molekulių koncentracijos kraujyje sezoniniai pokyčiai. LMA Jaunųjų mokslininkų konferencija „Bioateitis: gamtos ir gyvybės mokslų perspektyvos“. 2013 m. gruodžio 11 d., Vilnius (diploma for the best presentation of the conference).
6. Bleizgys A., Šapoka V. Serum levels of soluble cell adhesion molecules in young men: an impact of both vitamin D and geomagnetic activity fluctuations? Tarptautinė konferencija „Evoliucinė medicina: sveikatos sampratos ir ligų suvokimo perspektyvos“. 2014 m. gegužės 27–30 d., Vilniaus universitetas.

BRIEF INFORMATION ABOUT THE DISSERTANT

- First name:** Andrius
- Surname:** Bleizgys
- E-mail:** andrius.bleizgys@gmail.com
- Date of birth:** 14 August 1977
- Education:** 1995–2001 Vilnius University, Faculty of Medicine
2001–2002 Fellowship in General Medicine, Vilnius University, Faculty of Medicine
2003–2004 Fellowship in Family Medicine, Vilnius University, Faculty of Medicine
2005–2008 Fellowship in Physical Medicine and Rehabilitation, Vilnius University, Faculty of Medicine
2010–2014 PhD student at Vilnius University, Faculty of Medicine
- License and Certification:** 2001 Diploma, Doctor's professional qualification
2002 Diploma, Medical Doctor's qualification
2004 Licensed to practice Family medicine
2009 Licensed to practice Physical Medicine and Rehabilitation
- Work experience:** · Since 2003 manager–website administrator at Posūkis Ltd.
· 2005–2006 Family physician at Public institution Balsiai Centre of family medicine
· 2006–2009 Family physician at Riešė Family Clinic Ltd.
· Since 2009 Family physician at Public institution Central polyclinic of Vilnius
· Since 2009 Assistant at Vilnius University, Faculty of Medicine

**Research
experience:**

- Since 2013 Specialist at State Enterprise Centre of Registers, Department of E-health
- Scientific research study “The efficacy of controlling type 2 diabetes mellitus in the center of Family Medicine” during the fellowship in Family Medicine
- Scientific research study “The efficacy of non-medicament methods for treating low back pain” during the fellowship in Physical Medicine and Rehabilitation
- Participation in the international study “DYSIS – DYSlipidemia International Study” in 2011–2012
- Participation in the international study “HAPPY AUDIT – a project on respiratory tract infections in general practice” in 2009–2010 and 2013–2014