

Tomasz Piernik

**Ocena działania antyoksydantów u pacjentów
z zaburzeniami erekcji leczonych preparatem
hamującym aktywność fosfodiesterazy typu 5.**

Rozprawa doktorska

Promotor:

Prof. dr hab. med. Zbigniew Kwias

Dane autora:

Tomasz Piernik
ul. Truflowa 3
62-080 Lusowo
email: topier@op.pl

Dziękuję mojemu Promotorowi,
Panu Profesorowi Zbigniewowi Kwiasowi,
za ogromną pomoc przy napisaniu tej pracy.

Panie Profesorze, dziękuję za Pańską serdeczność
okazywaną mi od zawsze.

moim Rodzicom...

Spis treści

Wykaz skrótów	- 5 -
Wstęp	- 7 -
Fizjologia wzrodu prącia	- 8 -
Zaburzenia erekcji	- 14 -
Etiologia.....	- 14 -
Częstość występowania	- 16 -
Diagnostyka	- 17 -
Leczenie zaburzeń erekcji	- 20 -
Stres oksydacyjny	- 26 -
Wybrane antyoksydanty	- 27 -
Rola stresu oksydacyjnego w patogenezie ED i innych chorób cywilizacyjnych	- 29 -
Cel pracy	- 33 -
Materiał i metody.....	- 34 -
Materiał.....	- 34 -
Metody.....	- 38 -
Wyniki.....	- 43 -
Wpływ zastosowanej terapii na poziom badanych parametrów	- 43 -
Wpływ chorób cywilizacyjnych na poziom badanych parametrów	- 47 -
Zmiany badanych parametrów u pacjentów palących w zależności od zastosowanej terapii lekowej	- 52 -
Dyskusja i omówienie wyników	- 56 -
Tlenek azotu.....	- 56 -
Poziom enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPX) oraz MDA	- 64 -
Wpływ palenia papierosów w badanych grupach chorych	- 68 -
Ocena jakości życia płciowego pacjentów objętych badaniem.....	- 71 -
Wnioski.....	- 73 -
Piśmiennictwo	- 74 -
Streszczenie.....	- 88 -
Summary	- 90 -

Wykaz skrótów

ADAM	zespół niedoboru testosteronu (<i>androgen deficiency in aging male</i>)
ADMA	niesymetryczna dimetyloarginina (<i>asymmetric dimethyloarginine</i>)
AGE	produkty końcowej zaawansowanej glikozylacji (<i>advanced glycation end products</i>)
BMI	wskaźnik masy ciała (<i>body mass index</i>)
BPH	łagodny przerost gruczołu krokowego (<i>benign prostate hypertrophy</i>)
BH4	tetrahydrobiopteryna (<i>tetrahydroborate ion</i>)
CAT	katalazy (<i>catalase</i>)
cGMP	cykliczny guanozynomonofosforan (<i>cyclic guanosine monophosphate</i>)
EAU	Europejskie Towarzystwo Urologiczne (<i>European Association of Urology</i>)
EDRF	śródbłonkowy czynnik relaksujący naczynia (<i>endothelial derived relaxing factor</i>)
ED	zaburzenia erekcji (<i>erectile dysfunction</i>),
EPCs	śródbłonkowe komórki macierzyste (<i>endothelial progenitor cells</i>)
ET1	endotelina 1 (<i>endothelin 1</i>)
GGT	gammaglutamylotransferaza (<i>gamma glutamyltranspeptidase</i>)
GPX	peroksydaza glutationowa (<i>glutathione peroxidase</i>)
GR	reduktaza glutationowa (<i>glutathione reductase</i>)
GSH	zredukowany glutation (<i>reduced glutathione</i>)
GSSG	disulfid glutationu (<i>glutathione disulfide</i>)
GTP	guanozynotrifosforan (<i>guanosine-5'-trifosphate</i>)
H₂O₂	nadtlenek wodoru (<i>hydrogen peroxide</i>)
ICAM	międzykomórkowe cząsteczki adhezyjne (<i>intercellular cell adhesion molecule</i>)
IIEF-5	skrótowy międzynarodowy indeks nasilenia zaburzeń erekcji (<i>International Index of Erectile Function</i>)
IPDE-5	inhibitory fosfodiesterazy 5 (<i>phosphodiesterase type 5 inhibitors</i>)
LDL	lipoproteiny o niskiej gęstości (<i>low density lipoproteins</i>)
LUTS	objawy ze strony dolnych dróg moczowych (<i>low urinary tract symptoms</i>)
MDA	dialdehyd malonowy (<i>malondialdehyde</i>)
MUSE	docewkowy system leczący zaburzenia erekcji (<i>medicated urethral suppository for erection</i>)
MMAS	badanie epidemiologiczne dotyczące zaburzeń wzwodu u mężczyzn z okolic Bostonu (<i>Massachusetts Male Aging Study</i>)
NADH	zredukowana forma dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (<i>nicotinamide adenine dinucleotide</i>)
NADPH	zredukowana forma fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (<i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>)

NANC	receptory nieadrenergiczne niecholinergiczne (<i>non-adrenergic-non-cholinergic</i>)
NF-κB	czynnik transkrypcyjny (<i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>)
NO	tlenek azotu (<i>nitric oxide</i>),
NOS	syntaza tlenku azotu (<i>nitric oxide synthase</i>)
eNOS	izoforma śródbłonkowa
iNOS	izoforma konstytucjonalna
nNOS	izoforma neuronalna
NOX	oksydaza NADPH (<i>NADPH oxidase</i>)
O₂⁻	anionorodnik ponadtlenkowy (<i>superoxide radical anion</i>)
°OH⁻	rodnik hydroksylowy (<i>hydroxyl radical</i>)
ONOO⁻	nadtlenoazotyn (<i>peroxynitrite</i>)
PGE	prostaglandyna E1 (<i>prostaglandin E1</i>)
PDE-5	fosfodiesteraza typu 5 (<i>phosphodiesterase type 5</i>)
PKG	kinaza białkowa G (<i>protein kinase G</i>)
RAS	układ renina –angiotensyna (<i>rennin-angiotensin system</i>)
RAGE	swoiste receptory dla AGE (<i>receptor for advanced glycation end products</i>)
RhoA	białko regulujące zmianę cytoszkieletu aktynowego w komórce (<i>Ras homolog gene family, member A</i>)
ROCK	kinaza serynowo- treoninowa białka Rho (<i>Rho-associated protein kinase</i>)
RFT	reaktywne formy tlenu (<i>ROS – reactive oxygen species</i>)
sGC	rozpuszczalna cyklaza guanylowa (<i>soluble guanyl cyclase</i>)
SIU	międzynarodowa organizacja urologiczna (franc. <i>Societe Internationale d'Urologie</i>)
SM	stwardnienie rozsiane (łac. <i>sclerosis multiplex</i>)
SOD	dysmutaza ponadtlenkowa (<i>superoxide dismutase</i>)
TNF	alfa-kachektyna (<i>tumor necrosis factor</i>)
TRUS	przezodbytnicza ultrasonografia (<i>transrectal ultrasound</i>)
TUR-P	przezcewkowa elektroresekcja gruczołu krokowego (<i>transurethral resection of prostate</i>)
VCAM	naczyniowe cząsteczki adhezyjne (<i>vascular cell adhesion molecule</i>)
XO	oksydaza ksantynowa (<i>xanthine oxidase</i>)
XDH	dehydrogenaza ksantynowa (<i>xanthine dehydrogenase</i>)

Wstęp

Wraz z rozwojem cywilizacji, zwiększającym się tempem życia i poziomem emocji towarzyszącym licznym sytuacjom stresowym, a także wydłużeniem życia dzięki osiągnięciom medycyny, coraz większa grupa chorych zgłasza się do lekarza z problemem zaburzeń erekcji. Wśród pacjentów skarżących się na zaburzenia erekcji dużą grupę stanowią ludzie młodzi. Dla mężczyzn doświadczenie zaburzeń w sferze funkcjonowania układu płciowego stanowi poważne obniżenie oceny jakości życia i poczucie choroby, bowiem zgodnie z definicją WHO: „Zdrowie jest pełnym dobrostanem fizycznym, psychicznym i społecznym, a nie tylko brakiem choroby lub niedomagania.” Biorąc pod uwagę słowa W. Tatarkiewicza, że „Szczęściem jest trwałe, pełne i uzasadnione zadowolenie z życia” [1] pacjenci cierpiący na zaburzenia erekcji są też nieszczęśliwi.

Zaburzenia erekcji (z ang. *erectile dysfunction* – ED) definiuje się jako stałą niemożność do uzyskania lub utrzymania wzwodu prącia umożliwiającego odbycie satysfakcjonującego stosunku płciowego [2].

ED stanowi problem, z którym człowiek boryka się od najdawniejszych czasów. Pierwsze doniesienia na temat ED odkryto na tabliczkach sumeryjskich sprzed czterech tysięcy lat przed naszą erą. Na egipskich papirusach opisano dwa typy schorzeń leżące u podstaw zaburzeń erekcji: naturalną niemoc płciową w przypadku, gdy mężczyzna nie może odbyć stosunku płciowego oraz niemoc wynikającą z działania czarów i zaklęć. Ojciec medycyny – Hipokrates – około 400 lat p.n.e. opisał zaburzenia erekcji u mężczyzn mieszkających w Scytii. Stwierdził, że choroba dotyczy tylko bogatych i jest związana z jazdą konną (biednych nie było stać na luksus podróżowania konno). Hipokrates uważał, że wytrysk nasienia ma swoje źródło w szpiku i poprzez nerki, moczowody i jądra dostaje się do cewki moczowej. Sądził, że nerwy zaopatrujące „narząd kopulacyjny” odchodzą od jąder, stąd teoria, że eunuchy nie mogą współżyć i płodzić potomstwa. Arystoteles ok. 350 lat p.n.e. twierdził, że prącie jest unerwione trzema gałązkami nerwowymi, które przewodzą energię i ducha, a wzwód jest spowodowany wyrzutem powietrza. Arystoteles uważał, że mężczyzna jest płodny do 71 roku życia, a nasienie pochodzi z duszy mężczyzny. Galen

podtrzymał tę samą koncepcję. Święty Tomasz z Akwinu (1225-1274) uważał, że występuje męskie i żeńskie nasienie, które mieszając się w czasie aktu płciowego doprowadza do powstania embrionu. Dopiero w 1504 roku Leonardo da Vinci podważył „teorię powietrzną wytrysku nasienia”. Dokonując obserwacji ciał wisielców opisał, że członek jest wypełniony krwią. Błędnie uważał, że prącie posiada niezależny od całego organizmu mechanizm regulujący jego czynnością (prace te były utrzymywane w tajemnicy do początków XX wieku). Vesalius (1514-1564) i Ambroży Pare (chirurg dworu francuskiego żyjący w latach 1510-1590) przedstawiali narządy płciowe żeńskie jako odzwierciedlenie męskich i tak pochwa miała kształt członka, a jajniki określali jako jądra. Ale to A. Pare jako pierwszy opisał anatomię męskiego członka i opisał hipotezę mechanizmu erekcji. „Kiedy męczyzna wstępuje w stan zapalny, z pożądania i podniecenia, krew napływa do jego członka i powoduje wzwód”. Opisu wzwodu podtrzymywanego przez skurcz mięśni leżących u podstawy prącia dokonał Pierre Dionis (1643–1718) francuski chirurg i anatom, a podstawy mechanizmu venookluzyjnego wzwodu opisał szkocki chirurg John Hunter (1728-1793). Przez cały XIX wiek wielu uczonych poprzez swoje odkrycia wzbogacało naukę w coraz doskonalszą wiedzę na temat fizjologii i patologii wzwodu. Znaczące odkrycia mechanizmów fizjologii wzwodu poczyniono dopiero w latach 80-tych XX wieku; między innymi w 1982 roku Goldstein opisał mechanizm skurczu mięśni gładkich podczas erekcji [3] [4].

Fizjologia wzwodu prącia

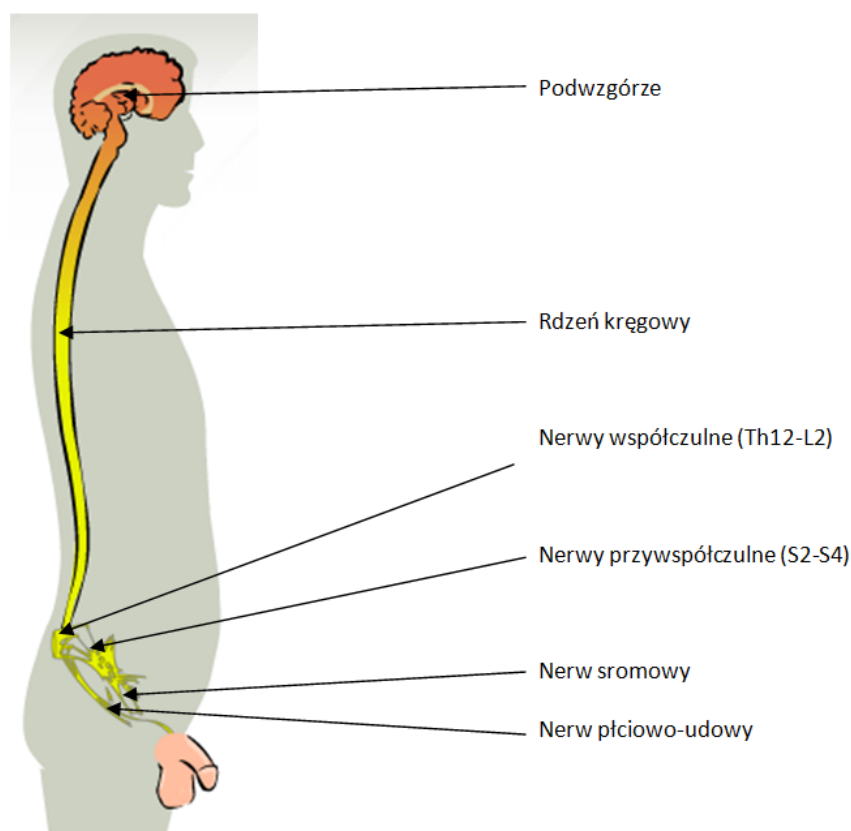
Wzwodem prącia nazywamy stan powiększenia i usztywnienia prącia będący konsekwencją zwiększonego napływu krwi do prącia przy zmniejszonym odpływie.

Możemy wyróżnić trzy rodzaje wzwodów, w zależności od mechanizmów ich powstawania i różnego przekazywania neuronalnego:

- Wzwody psychogenne – będące następstwem pobudzenia receptorów smakowych, węchowych, wzrokowych oraz wyobrażeń erotycznych. Pobudzenie następuje z ośrodków erekcji współczulnego i przywspółczulnego (Th12-L2 i S2-S4), drogą włókien dopaminergicznych, z pola przedwzrokowego kory mózgu.

- Wzwoły odruchowe – spowodowane bezpośrednią stymulacją receptorów narządów płciowych przekazują bodźce bezpośrednio do ośrodków korowych erekcji, a stąd do jąder autonomicznych.
- Wzwoły nocne – są inicjowane w tworze siatkowatym mostu i jądrze migdałowatym [5].

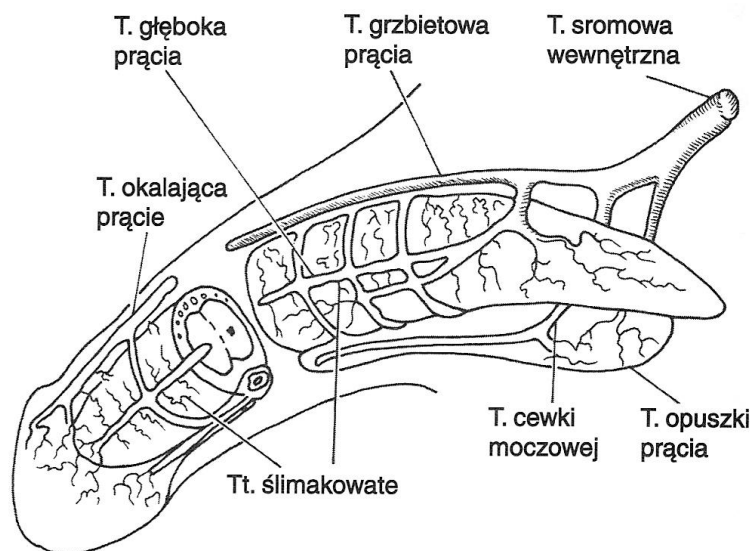
Erekcja prącia jest złożonym procesem naczyniowo-nerwowym kontrolowanym przez ośrodki korowe mózgu znajdujące się w jądrze przykomorowym podwzgórza i jądrach szwu pnia mózgu [6].



Rysunek 1 Schemat neuronalnej kontroli erekcji [7]

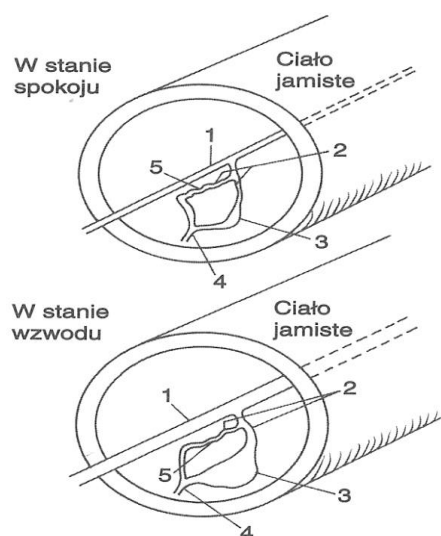
Kluczową rolę w endokrynej kontroli fizjologii erekcji odgrywają androgeny [8], które wpływają na erekcję, na każdym etapie – od kory mózgu, poprzez śródmózgowie i rdzeń kręgowy – do komórek mięśni gładkich i śródbłonka (Rysunek 1). Rola estradiolu w regulacji erekcji nie jest dobrze poznana, ale wiadomo, że jego wysoki poziom prowadzi do ED [9].

Unaczynienie prącia pochodzi z tętnicy sromowej wewnętrznej głównie za pośrednictwem tętnic głębokich prącia (lewej i prawej) oraz w mniejszym stopniu z tętnicy grzbietowej prącia. Ze względu na zmieniający się kształt prącia odgałęzienia tych tętnic mają przebieg spiralny, stąd nazywamy je tętnicami ślimakowatymi. Krew jest odbierana z prącia żyłami jednoimiennymi w stosunku do tętnic (Rysunek 2) [10].



Rysunek 2 Schemat unaczynienia tętniczego prącia [11]

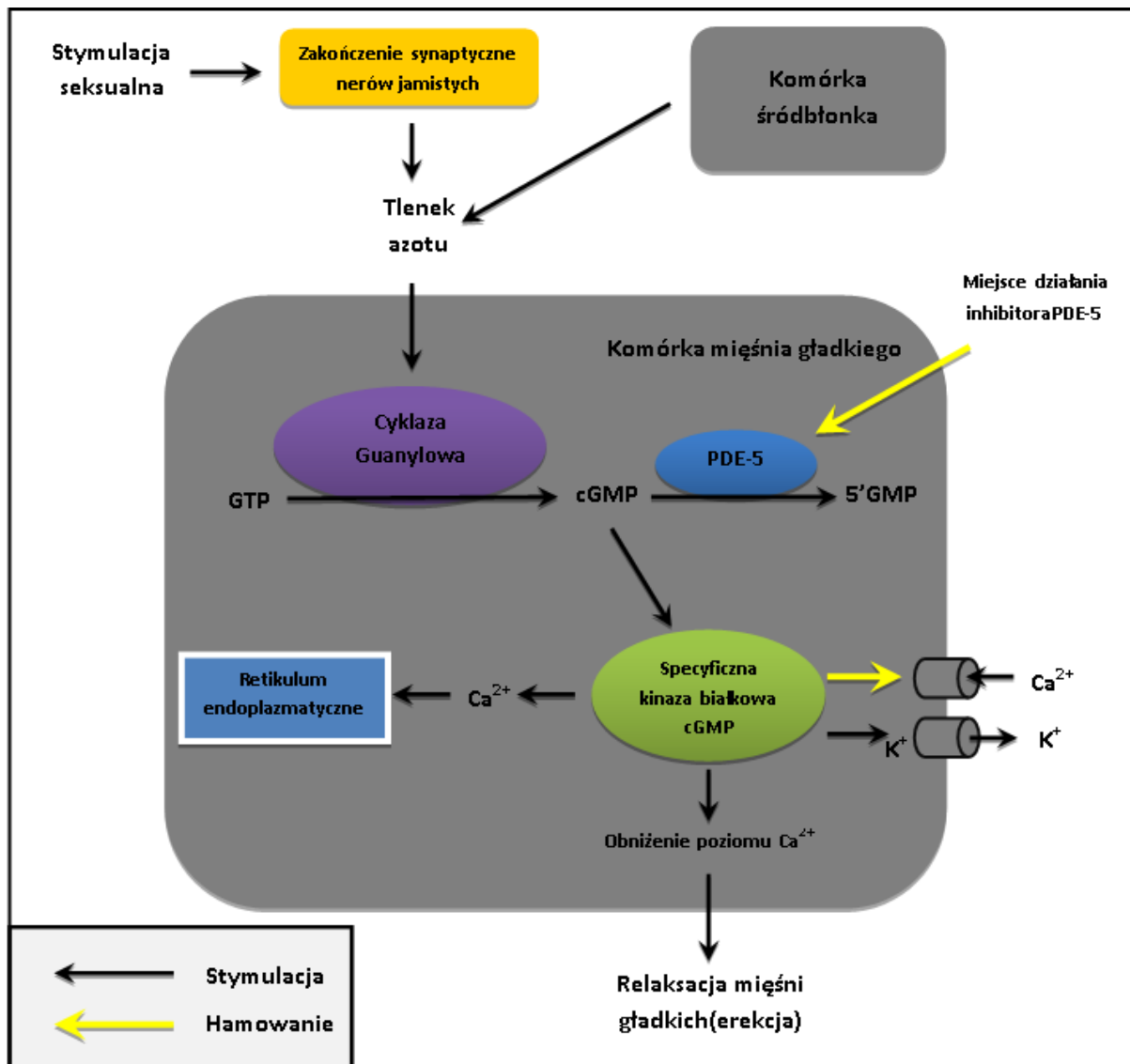
Ściany licznych odgałęzień tętnic ślimakowatych zbudowane są z grubej warstwy mięśniówki. Błony wewnętrzne tych tętnic mają poduszeczkowate wypuklenia zbudowane z włókien kolagenowych połączonych z pęczkami włókien mięśni gładkich. W czasie spoczynku opisane wypuklenia gałązek tętnic ślimakowych zmniejszają przekrój tych naczyń co ogranicza napływ krwi przez tętnice doprowadzające. Podczas wzwodu wypuklenia tętnic ślimakowatych wygładzają się, co umożliwia większy napływ krwi do ciał jamistych prącia (Rysunek 3) [11].



Rysunek 3 Schemat krążenia krwi w ciele jamistym prącia w stanie spokoju i w stanie wzwodu. 1 – tętnica głęboka prącia, 2 – wypuklenie poduszczkowate, 3 – przestrzeń jamista, 4 – żyła odprowadzająca, 5 – anastomoza tętniczo-żylna [11]

Prącie pozostaje w spoczynku w stanie wiotkim z powodu stałego wpływu układu współczulnego, drogą nerwów podbrzusnych i ich odgałęzień, na mięśniówkę naczyń doprowadzających oraz beleczek ciał jamistych. Na zakończeniach nerwowych włókien układu współczulnego uwalniana jest adrenalina, która pobudzając receptory α_1 -adrenergiczne utrzymuje naczynia i mięśnie w stanie skurczu uniemożliwiając swobodne wypełnienie ciał jamistych prącia. Na skutek pobudzenia seksualnego dochodzi do hamowania aktywności układu współczulnego przy jednoczesnej aktywacji układu przywspółczulnego. Drogą nerwów miednicznych i ich odgałęzień na zakończeniach nerwowych neuronów zaliczanych do grupy NANC (nieadrenergiczne, niecholinergiczne) dochodzi do uwalniania tlenku azotu (NO), który ma znamieny wpływ na powstanie wzwodu. NO dociera do przylegających mięśni gładkich i wiąże się z cyklazą guanylową katalizując przekształcenie GTP w cGMP i poprzez kinazę białkową powoduje relaksację mięśni gładkich ciał jamistych. Sugeruje się, że cGMP zmniejsza stężenie jonów wapnia, powoduje hyperpolaryzację komórek mięśniowych ciał jamistych z powodu zmiany w przepuszczalności kanału sodowo potasowego zależnego od ATP oraz hamuje otwarcie kanałów wapniowych, co podtrzymuje rozkurcz [12]. Neuronalna forma syntazy tlenku azotu (nNOS) inicjuje produkcję NO w tkance erekcyjnej na skutek depolaryzacji spowodowanej przekazywaniem impulsu nerwowego będącego odpowiedzią na

pobudzenie psychogenne lub stymulacje miejsc erogennych. Zakończenia włókien efferentnych znajdują się w ciałach jamistych prącia. Acetylocholina i inne neuroprzekaźniki, jak bradykinina i substancja P, stymulują produkcję NO powodując przejściowy wzrost przenikania jonów Ca^{2+} do komórki śródbłonna (Rysunek 4). Naprężenie ścinające odgrywa tutaj rolę podobną jak w naczyniach krwionośnych [13]. Podczas wzwodu ciśnienie w ciałach jamistych rośnie do wartości powyżej 150 mmHg. Wtedy też uruchamia się mechanizm veno-okluzyjny (w opisanych wyżej odgałęzieniach tętnic ślimakowatych, dzięki budowie błony białawej i dzięki specyficznej budowie żył odprowadzających). Uzupełnieniem mechanizmu blokującego odpływ krwi z ciał jamistych, który gwarantuje utrzymanie stanu wzwodu jest mechaniczny ucisk wywoływany przez mięśnie otaczające podstawę członka, którymi są mięsień kulszowo-jamisty oraz opuszkowo-gąbczasty. Bardzo istotną rolę w kontroli wzwodu pełni enzym fosfodiesteraza typu 5 (PDE-5), który powoduje przekształcenie cGMP, w GMP. Tym sposobem PDE-5 ogranicza wzwód prącia [6] [5], który ustępuje na skutek aktywacji układu współczulnego, po wytrysku nasienia.

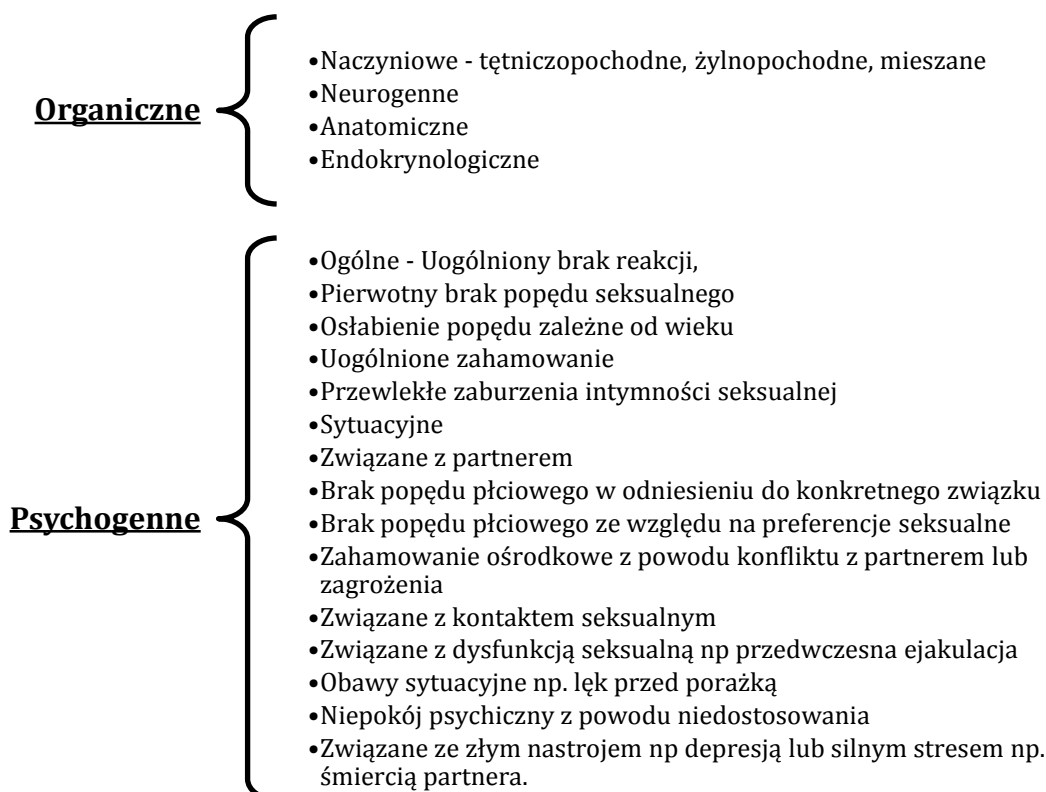


Rysunek 4 Poziom komórkowy erekcji. Częsteczka NO jest uwalniana z zakończeń nerwowych lub z komórek śródbłonna i aktywuje reakcję kaskadową, która ostatecznie prowadzi do zwiększonego stężenia komórkowego cGMP (cykliczny guanozynomonofosforan). Ta z kolei wywołuje serię zdarzeń, które prowadzą do rozluźnienia mięśni gładkich poprzez zmniejszenie wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia. Enzym PDE-5 (fosfodiesteraza typu 5) szybko odwraca ten efekt katalizując metabolizm cGMP do GMP [5].

Zaburzenia erekcji

Etiologia

Przyczyny powstawania zaburzeń erekcji mogą mieć tło organiczne lub psychogenne. Poniżej przedstawiono podział przyczyn ED zaproponowany przez Międzynarodowe Towarzystwo Badań nad Zaburzeniami Erekcji.



Rysunek 5 Klasyfikacja ED wg Międzynarodowego Towarzystwa Badań nad Zaburzeniami Erekcji (Committee of the International Society of Impotence Research) [2]

Wśród przyczyn organicznych ED, najczęstszą stanowią przyczyny naczyniopochodne. Miażdżyca naczyń jest odpowiedzialna za ok. 40% występowania zaburzeń erekcji. Z powodu uszkodzenia ścian naczyń następuje ograniczenie napływu krwi do ciał jamistych prącia, a z powodu uszkodzenia śródbłonna naczyń występuje ograniczenie produkcji NO [14].

Z nowo rozpoznanym nadciśnieniem tętniczym krwi zaburzenia erekcji stwierdza się u 8-15% chorych [15]. Patomechanizm wystąpienia ED w nadciśnieniu tętniczym, oprócz naczyniopochodnego, może być też endokrynnny. Stwierdzono bowiem obniżony poziom

testosteronu u młodych pacjentów, u których stwierdza się nadciśnienie tętnicze oraz ED [16].

Choroby metaboliczne – cukrzyca, hiperlipidemia, otyłość – stanowią poważną przyczynę występowania zaburzeń erekcji. Ocenia się, że częstość występowania ED w cukrzycy wynosi od 28 do 59% [15]. Patomechanizm powstawania ED w cukrzycy następuje na drodze zaburzeń neurogennych (neuropatia autonomiczna), naczyniowych (mikroangiopatie) i przewlekłych stanów zapalnych.

Zaburzenia erekcji, których przyczyn należy szukać na tle neurogennym są spowodowane patologią w przewodnictwie nerwowym. Dzieje się tak z powodu chorób lub urazów CUN. W przebiegu takich chorób jak choroba Alzheimera czy stwardnienie rozsiane ED występują u 70% pacjentów. W grupie chorych po urazach kręgosłupa ED stwierdza się w 50% przypadków [15].

Endokrynnie podłoże zaburzeń erekcji występuje w przebiegu takich chorób jak: choroby tarczycy (nadczynność i niedoczynność), gruczolaki przysadki mózgowej np. prolactinoma, niedorozwój jąder, hypogonadyzm hypogonadotropowy, zespół andropauzy (z ang. *androgen deficiency in aging male* – ADAM), i inne. Zaburzenia endokrynnie stanowią od 2 do 23% przyczyn ED [8].

Podłoże psychiczne zaburzeń erekcji stanowi ok. 20% wszystkich przyczyn tego schorzenia. Najczęstszymi przyczynami psychogennymi ED są: depresje, zaburzenia osobowości, nerwice, inna orientacja seksualna.

ED stwierdza się w przebiegu takich chorób jak: choroby serca, niewydolność nerek, uszkodzenie wątroby, choroby prącia (np. choroba Peyronie).

U mężczyzn z objawami ze strony dolnych dróg moczowych (LUTS) oraz łagodnego przerostu gruczołu krokowego (BPH) częstość występowania ED sięga 60%. Występowanie ED obserwuje się u 25% chorych ze zdiagnozowanym rakiem stercza ograniczonym do narządu [17].

Zabiegi operacyjne w obrębie miednicy mniejszej, w tym operacyjne leczenie schorzeń narządów moczowo-płciowych, niosą za sobą ryzyko wystąpienia powikłań w postaci ED.

U 12% chorych poddanych TUR-P stwierdza się ten problem [17]. Mimo coraz doskonalszych metod leczenia operacyjnego raka stercza, aż 60-89% pacjentów poddanych radykalnej prostatektomii cierpi z powodu różnego stopnia zaburzeń erekcji, po zabiegu. U chorych poddanych rtg-terapii z pól zewnętrznych ED występuje w 6 do 85% leczonych przypadków [18].

Podejrzewa się, że podłożem wystąpienia zaburzeń erekcji u 25% mężczyzn jest działanie toksyczne różnych substancji chemicznych, w tym leków i używek [19].

Palenie papierosów jest przyczyną powstania naczyniopochodnego ED. U 86% nałogowych palaczy badanych usg metodą Dopplera stwierdza się patologię w obrębie układu naczyniowego prącia [14]. W przeprowadzonych badaniach na grupie mężczyzn pomiędzy 18 a 27 rokiem życia, stwierdzono osłabienie erekcji z powodu żucia gumy zawierającej nikotynę [20]. Nadużywanie alkoholu, narkomania, stosowanie leków np. α i β -blokerów, blokerów kanału wapniowego, leków przeciwwrzodowych, moczopędnych, inhibitorów 5 α -reduktazy, sterydów w tym sterydów anabolicznych – może również prowadzić do powstania ED [19].

Częstość występowania

Pierwszym znaczącym badaniem epidemiologicznym dotyczącym zaburzeń wzwodu u mężczyzn było badanie MMAS (*Massachusetts Male Aging Study*). Badanie to zostało przeprowadzone na populacji 1709 mężczyzn, w wieku od 40 do 70 lat, w Bostonie i okolicach, w latach 1987-1989, a opublikowane w 1994 roku. Badaniem tym wykazano występowanie zaburzeń erekcji o różnym stopniu nasilenia u 52% badanych [21] [22].

W 2000 roku ponownie przeanalizowano wyniki badania MMAS stwierdzając 44% ED w badanej grupie mężczyzn [23]. Podobne badanie przeprowadzone w Kanadzie na grupie 3009 mężczyzn, w wieku pomiędzy 18 a 70 r.ż., pokazało podobną częstość występowania omawianego zaburzenia [5]. W Polsce na zaburzenia erekcji cierpi ok. 2,6 miliona mężczyzn [24]. Ocenia się, że zaburzenia erekcji zgłasza już 5% mężczyzn w 35 roku życia. Częstość występowania ED wzrasta ok. 10% na dekadę życia [17] [25].

Szacunkowo oceniono, że w 1995 roku u ponad 152 milionów mężczyzn na całym świecie wystąpiło ED. Przypuszcza się, że w 2025 roku liczba ta osiągnie około 322 milionów mężczyzn. Stopień zaawansowania choroby rośnie z wiekiem [26].

Diagnostyka

Żeby rozpoznać przyczynę ED, zgodnie z zaleceniami Międzynarodowego Towarzystwa Badań nad Zaburzeniami Erekcji wskazane jest wykonanie opisanych poniżej badań.

Należy przeprowadzić wywiad lekarski obejmujący wywiad rodzinny z chorym i partnerką. W wywiadzie istotny jest wywiad społeczny, warunki życia, wykonywana praca, przyzwyczajenia, nałogi, aktywność fizyczna, sposób odżywiania, stosowane leki. Ważna jest również wiedza na temat chorób przebytych i współistniejących, informacje na temat przebytych zabiegów operacyjnych, w szczególności zabiegów dotyczących układu moczowo-płciowego i operacji w obrębie miednicy mniejszej, a także historia przebytych urazów mogących mieć wpływ na funkcjonowanie narządów i układów biorących udział w prawidłowej erekcji członka.

Wskazane jest wypełnienie przez chorego kwestionariusza oceny życia płciowego IIEF-5, który jest skróconą formą kwestionariusza IIEF [27]. Kwestionariusz IIEF jest 15 punktowym formularzem samooceny pacjenta wprowadzonym w 1997 roku przez R. C. Rosena i wsp. Zawiera 15 zagadnień: 6 – dotyczy wzwodu prącia, 2 – odczuwania orgazmu, kolejne 2 pytania dotyczą popędu płciowego, następne 3 – satysfakcji ze współżycia płciowego i dwa pytania oceniają ogólną satysfakcję pacjenta [28]. W 1999 roku autor kwestionariusza IIEF wprowadził skróconą jego wersję – IIEF-5, w której ocenił nasilenie zaburzeń erekcji w skali punktowej od 0 do 25, na podstawie 5 zadanych pytań. W badaniu przeprowadzonym na grupie 1152 mężczyzn stwierdzono, że kwestionariusz IIEF-5 jest bardzo dobrym narzędziem diagnostycznym [27]. Kwestionariusz IIEF-5 jest szeroko stosowany na świecie i został zaakceptowany przez wszystkie Towarzystwa Urologiczne.

Tabela 1 Kwestionariusz IIEF-5 [27].

	0	1	2	3	4	5
Jak ocenia Pan swoją pewność, że mógłby Pan osiągnąć i utrzymać erekcję?		bardzo nisko	nisko	umiarkowanie	wysoko	bardzo wysoko
Jeśli erekcja wystąpiła w wyniku stymulacji seksualnej, jak często była nasilona na tyle, że umożliwiała odbycie stosunku płciowego?	nie było aktywności seksualnej	prawie nigdy lub nigdy	kilkakrotnie (znacznie rzadziej, niż co drugi raz)	czasami (mniej więcej do drugi raz)	wielokrotnie (znacznie częściej, niż co drugi raz)	prawie zawsze lub zawsze
Jak często podczas stosunku płciowego był Pan w stanie utrzymać erekcję?	nie podejmowałem stosunków płciowych	prawie nigdy lub nigdy	kilkakrotnie (znacznie rzadziej, niż co drugi raz)	czasami (mniej więcej co drugi raz)	wielokrotnie (znacznie częściej, niż co drugi raz)	prawie zawsze lub zawsze
Jak trudno było Panu utrzymać erekcję do zakończenia stosunku płciowego?	nie podejmowałem stosunków płciowych	niezwykle trudno	bardzo trudno	trudno	nieznacznie trudno	nie miałem trudności
Jeśli podejmował Pan stosunek płciowy, jak często dostarczył on panu zadowolenie?	nie podejmowałem stosunków płciowych	prawie nigdy lub nigdy	kilkakrotnie (znacznie rzadziej, niż co drugi raz)	czasami (mniej więcej co drugi raz)	wielokrotnie (znacznie częściej, niż co drugi raz)	prawie zawsze lub zawsze

Na podstawie wypełnionego samodzielnie i ze zrozumieniem przez pacjenta kwestionariusza można określić stopień nasilenia zaburzeń erekcji. Jest to potrzebne do zaplanowania i doboru późniejszej terapii oraz monitorowania wyników leczenia. Za zaburzenia ciężkiego stopnia uważa się wynik od 1 do 7 pkt., 8 do 11 punktów mówi o zaburzeniach umiarkowanego stopnia, 12 do 16 punktów charakteryzuje się jako zaburzenia umiarkowanego do łagodnego stopnia, natomiast wynik od 17 do 21 punktów stanowią zaburzenia łagodnego stopnia. Pacjenci, którzy oceniają swój wynik powyżej 22 punktów nie są traktowani jako osoby z zaburzeniami erekcji [29].

Przeprowadzenie badań psychologicznych jest szczególnie wskazane u pacjentów z podejrzeniem psychogennego podłoża zaburzeń erekcji.

Badanie przedmiotowe powinno obejmować ocenę wykształcenia cech płciowych oraz badanie urologiczne z oceną jąder, gruczołu krokowego i narządów płciowych zewnętrznych.

Wśród badań laboratoryjnych należy oznaczyć morfologię, poziom lipidów, cukru, prób wątrobowych, mocznika i kreatyniny, oraz PSA.

Badania hormonalne powinny obejmować oznaczenie poziomu testosteronu, prolaktyny oraz hormonów tarczycy.

Należy przeprowadzić badanie kardiologiczne z wykonaniem EKG i echokardiografii (każde niewyjaśnione występowanie ED może nasuwać podejrzenie istnienia chorób serca [30]).

Badania szczegółowe prącia powinny obejmować rigiscan – tumescencję nocną. W badaniu tym ocenia się stopień sztywności członka oraz liczbę wzwodów fizjologicznych w trakcie snu. Sztywność prącia większa niż 70% wskazuje na niezaburzoną erekcję. Wartość zmierzona pomiędzy 40 a 70% pokazuje różne stopnie sztywności członka. Określenia *członek wiotki* używa się w przypadku stwierdzenia mniejszej niż 40% sztywności członka. Liczba erekcji uważana za normę wynosi od 3 do 6, w trakcie badania ośmiogodzinnego snu. Czas trwania pojedynczego wzvodu powinien wynosić od 10 do 15 minut, aby ocenić go jako prawidłowy [31].

Wśród badań obrazowych należy wykonać usg brzucha i moszny, usg rektalne, usg doppler tętnic prącia. Obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego wyparło stosowane w przeszłości badania: kawernozografię i kawernozometrię.

Diagnostyczna iniekcja prostaglandyny E1 do ciał jamistych może umożliwić ocenę napływu tętniczego i mechanizmu venookluzyjnego prącia, ma jednak ograniczoną wartość [32] [33]. Na podstawie metaanalizy doniesień naukowych stwierdzono 67%-71% odpowiedzi na iniekcję PGE1 [34]. Należy pamiętać o możliwych objawach ubocznych występujących po podaniu tej substancji do ciał jamistych. Do tych objawów należą: krwawienie w miejscu podania, ból oraz przedłużona erekcja.

Selektywna arteriografia tętnicy sromowej powinna być wykonywana tylko u tych pacjentów, u których planuje się leczenie operacyjne. Jest to mała grupa mężczyzn w wieku poniżej 40 r.ż., u których wystąpił w wywiadzie uraz w obrębie miednicy małej z uszkodzeniem naczyń prącia [32] [35].

Leczenie zaburzeń erekcji

Pacjent powinien przede wszystkim zdawać sobie sprawę z problemu jaki stanowi dla niego ED i powinien czuć potrzebę leczenia tego schorzenia. Po przeprowadzeniu diagnostyki chory powinien zostać poinformowany o możliwych opcjach terapeutycznych. Przed proponowaniem jakichkolwiek leków poprawiających erekcję należy skonsultować przebieg leczenia choroby, która leży u podłoża ED z odpowiednim specjalistą. Wskazana jest ocena wpływu dotychczas stosowanych leków na wystąpienie zaburzeń erekcji. Konieczna jest konsultacja diabetologiczna celem normalizacji poziomu glikemii u osób z cukrzycą lub z jej podejrzeniem, konsultacja kardiologiczna u pacjentów z niewydolnością krążenia lub nadciśnieniem tętniczym. Chorzy z podejrzeniem zmian w układzie nerwowym (SM, stan po przebytych infekcjach neurotropowych, udarach mózgu) powinni być poddani ocenie neurologicznej. Wszelkie odchylenia w ocenie poziomu hormonów we krwi, odchylenia w badaniu przedmiotowym sugerujące schorzenia o podłożu endokrynnym, powinny zostać skonsultowane przez endokrynologa.

Konsultacja chirurga naczyniowego jest bardzo istotna w przypadku podejrzenia podłoża naczyniowego ED, ze szczególnym uwzględnieniem stanów pooperacyjnych w zespołach niedokrwiennych jak np. zespół Leriche'a, stan po protezowaniu tętnic. Należy w takich przypadkach wykluczyć zespół podkradania (w wyniku większego zapotrzebowania na krew w mięśniach miednicy mniejszej i kończyn dolnych z towarzyszącym zwężeniem tętnicy biodrowej wewnętrznej np. w przebiegu miażdżycy dochodzi do zabierania – podkradania części krwi z naczyń doprowadzających krew do prącia) [36].

Należy poinformować chorego o potrzebie prawidłowego odżywiania, zapewnienia prawidłowego i regularnego ruchu, obniżenia masy ciała w przypadku otyłości, zaniechania palenia tytoniu i spożywania nadmiernej ilości alkoholu. Pomocna może być również zmiana lub modyfikacja przyzwyczajeń np. zmiany pozycji w trakcie „siedzącego” dnia pracy. Na przykład, opisano korzystny wpływ zmiany siodełka przy rowerze u długodystansowych rowerzystów, co zapobiega występowaniu zespołu znieczulenia genitaliów i ED [31].

Jeżeli wywiad chorobowy uzyskany od pacjentów wskazuje na występowanie organicznych i psychogennych czynników ryzyka powstania ED, Towarzystwo Badań nad ED (*Society for Impotence Research*) oraz SIU (*Société Internationale d'Urologie*) rekomenduje diagnozowanie u tych chorych mieszanej – organiczno-psychogennej postaci ED. Prawidłowe leczenie w takich przypadkach powinno uwzględnić oba elementy.

Poradnictwo psychologiczne, psychiatryczne i seksuologiczne stanowi bardzo ważny element leczenia pacjentów cierpiących z powodu ED.

Claes i wsp. w 1993 roku przeprowadzili badania anatomii mięśni kulszowo-jamistych na zwłokach stwierdzając, że osłabienie tych mięśni może wpływać na przeciek żylny w ciałach jamistych prącia. Ci sami autorzy przeprowadzili kolejne badania, w których stwierdzono, że intensywna fizjoterapia mięśni miednicy z elektrostymulacją poprawia utrzymanie wzwodu u 69 na 155 pacjentów, a polepsza wzwód u kolejnych 42 chorych [31]. Dlatego też zalecenie odpowiednich ćwiczeń fizycznych może być pomocne w leczeniu wielu chorych z ED.

U pacjentów, u których stwierdza się zaburzenia endokrynne należy rozważyć leczenie hormonalne. I tak u chorych z hiperprolaktynemią wskazane jest rozważenie leczenia bromokryptyną. Przy stwierdzonym zespole niedoboru testosteronu możliwa jest terapia domięśniowymi iniekcjami testosteronu, co poprawia stan kliniczny pacjentów w 70% przypadków, jednak rzadko obserwuje się całkowite ustąpienie ED [17]. Konieczne jest wykluczenie raka stercza przed terapią androgenową.

Według wytycznych EAU (*European Association of Urology*) pierwszą linią terapii farmakologicznej zaburzeń wzrodu jest stosowanie doustnych preparatów będących inhibitorami fosfodiesterazy typu 5 (IPDE-5). Hamowanie enzymu PDE-5 umożliwia dłuższe działanie cGMP w mięśniu gładkim beleczek ciał jamistych prącia, co przedłuża czas relaksacji mięśni gładkich ciał jamistych, a to z kolei skutkuje dłuższym utrzymywaniem się wzrodu. Leków tych nie należy stosować u pacjentów leczonych nitratami. Przeciwwskazaniem jest też przebyty w ciągu trzech miesięcy poprzedzających terapię zawał serca. Nie wolno stosować tych leków u pacjentów sześć miesięcy po udarze mózgu oraz u chorych z niestabilną chorobą wieńcową i z niedociśnieniem krwi. Nie należy również stosować IPDE-5 u osób, u których stwierdza się epizody niedokrwienia nerwu wzrokowego. Trzeba również pamiętać, że leki te, aby zadziałały, wymagają wystąpienia prawidłowego, fizjologicznego podniecenia seksualnego.

Obecnie możemy stosować inhibitory PDE-5 pierwszej i drugiej generacji. Do pierwszej grupy zaliczamy sildenafil i wardenafil – leki o zbliżonej charakterystyce i czasie działania do 6 godzin. Należy przy tym pamiętać, że posiłek bogato tłuszczowy zmniejsza stężenie sildenafilu we krwi o 30%. Stosowane dawki leku to dla sildenafilu: 25, 50 i 100mg, dla wardenafilu: 10 i 20mg.

Drugą generację PDE-5 inhibitorów stanowi tadalafil – lek z czasem półtrwania w surowicy krwi 17,5 godziny, umożliwiający odbycie stosunku płciowego do 36 godzin po jego zażyciu. Lek stosuje się w dawce – na żądanie: 10 i 20mg. Niedawno został wprowadzony na polski rynek preparat tadalafilu do codziennego zażywania, w dawce 5mg.

Badania kliniczne nad efektywnością działania inhibitorów PDE-5 wykazały ich 70-90% skuteczność [17].

Uznane przez EAU leczenie drugiego rzutu obejmuje podawanie do ciał jamistych prącia oraz docewkowo substancji wazoaktywnych. Stosuje się iniekcje preparatów z prostaglandyną E1 (PGE1), która daje mniejsze objawy uboczne niż stosowane w przeszłości iniekcje papaweryny, fentolaminy czy fenoksybenzaminy. Skuteczność działania iniekcji waha się od 70 aż do 90% [29]. Występują jednak reakcje uboczne takie jak ból (16,8% chorych), krwaki/ wybroczyny (1,3% pacjentów) oraz w 1,3% przypadków obserwuje się przedłużoną erekcję/ priapizm [34]. Wielu pacjentów rezygnuje jednak z takiej terapii, z różnych względów [37]. Preparat PGE1 może być również stosowany w formie docewkowej (MUSE) w dawce 125 do 1000µg, co daje poprawę erekcji w 70% przypadków i ma mniejszy odsetek działań niepożądanych, które są takie jak w przypadku stosowania iniekcji.

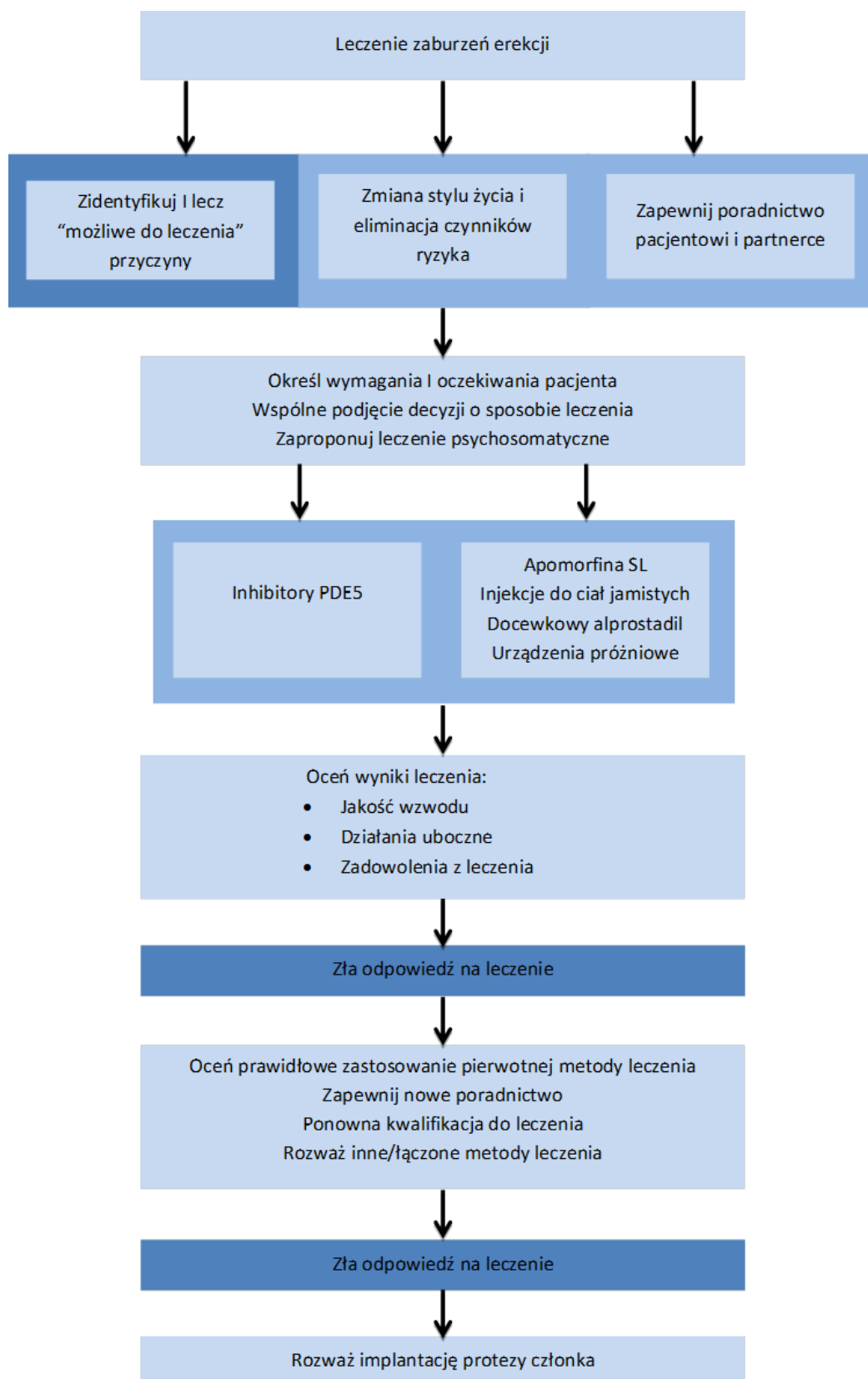
Trzecią linią terapii jest wszczepianie protez prącia. Stosowane są protezy pólśszywne i hydrauliczne. Ich koszt jest bardzo wysoki, a zabiegi wykonywane są bardzo rzadko, stąd mała ilość ośrodków i operatorów mających doświadczenie w implantacjach tych protez. Obecnie, jeszcze rzadziej przeprowadza się leczenie operacyjne zaburzeń ukrwienia prącia zabiegami naczyniowymi. Zabiegi te należy jednak rozważyć w przypadku ewidentnego zaburzenia ukrwienia ciał jamistych potwierdzonego selektywną arteriografią tętnicy sromowej [35]. Pierwsze udane operacje opisali w 1972 roku Michal i wsp. Około dekadę później Crespo i wsp. opisywali subiektywną poprawę po pomostowaniu tętniczo-tętnicznym u 76% z badanych 257 pacjentów [35].

Do dotychczas opisanych metod rewaskularyzacji należą połączenia wytwarzane:

- pomiędzy tętnicą nadbrzuszną dolną a tętnicą grzbietową prącia – koniec do końca lub żyłą grzbietową prącia (Virag),
- tętnicą nabrzuszną dolną a tętnicą jamistą prącia,
- bezpośrednim połączeniem tętnicy nabrzuszej dolnej z ciałami jamistymi (Furlow-Fisher, Lewis),
- potrójnym połączeniem tętnicy i żyły grzbietowej prącia – bok do boku z tętnicą nabrzuszną dolną (Hauri),

- podwiązanie żyły grzbietowej prącia (jedynie w przypadku uszkodzenia mechanizmu venookluzyjnego) [35].

Polskie Towarzystwo Urologiczne od wielu lat uznaje wytyczne Europejskiego Towarzystwa Urologicznego jako obowiązujące. Rysunek 6 przedstawiona schemat leczenia zaburzeń erekcji proponowany przez EAU.



Rysunek 6 Schemat leczenia zaburzeń erekcji wg EAU [29]

Stres oksydacyjny

Tlen jest pierwiastkiem dzięki któremu żyjemy, ale coraz więcej danych przemawia za tym, że to właśnie zredukowane formy tlenu powodują apoptozę komórek, są odpowiedzialne za starzenie się organizmów i w końcu, za ich śmierć. Do każdej naszej komórki dociera w ciągu sekundy 10^{12} cząsteczek tlenu [38], a 1-4% pobieranego tlenu jest przekształcana w jego reaktywne formy (RFT) i te właśnie formy są odpowiedzialne za uszkodzanie struktur komórkowych. Reaktywnymi formami tlenowymi są produkty kolejnych stopni redukcji cząsteczki tlenu: anionorodnik ponadtlenkowy (O_2^-), rodnik hydroksylowy ($OH^\cdot$) oraz nadtlenek wodoru (H_2O_2). Są one wolnymi rodnikami.

Terminem wolny rodnik określamy atomy lub cząsteczki (lub ich fragmenty), bądź też jony posiadające niesparowane elektrony, zdolne do samodzielnego istnienia. [39]

Wolne rodniki są między innymi stymulatorem różnicowania komórek, pełnią funkcje obronne przed infekcjami bakteryjnymi w organizmie. Wpływają na ekspresję genów i biorą udział w przekaźnictwie komórkowym [40]. Oprócz tego jednak uszkodzają komórki reagując ze wszystkimi jej składnikami – białkami, lipidami i DNA. Atakując te cząsteczki, odłączają od nich atom wodoru, czyniąc z zaatakowanych cząsteczek substancje posiadające wolne elektrony, czyli kolejne wolne rodniki. Te z kolei dążą do reakcji z innymi cząsteczkami.

W przebiegu ewolucji organizmy aerobowe wykształciły mechanizmy obrony przed nadmierną ekspresją RFT poprzez liczne procesy metaboliczne – antyoksydacyjne. Są to procesy zachodzące z udziałem związków zwanych antyoksydantami. Antyoksydanty (przeciwutleniacze) to z definicji substancje, które w stężeniach małych w porównaniu z substancją ulegającą utlenianiu, opóźniają lub hamują utlenianie tej substancji [39].

Cząsteczki o działaniu antyoksydacyjnym podzielono w zależności od środowiska, w którym działają. Wyróżniamy zatem antyoksydanty hydrofilowe i hydrofobowe. Jednym z głównych przedstawicieli grupy przeciwutleniaczy hydrofilowych jest

askorbinian, czyli witamina C. Przedstawicielem grupy drugiej jest α -tokoferol, czyli witamina E [39].

Innymi antyoksydantami są enzymy: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GPx), reduktaza glutationowa (GRd), S-transferaza glutationu (GST) oraz grupa fosfolipaz wydzielniczych A2 (sPLA2).

W nieenzymatycznych reakcjach antyoksydacyjnych biorą udział m.in. ceruloplazmina, transferyna, poliamidy, jony metali przejściowych, sekwestr metali, metalotioneiny.

Kolejną grupę antyoksydantów stanowią białka szoku cieplnego (HSP) – białka opiekuńcze i proteazy [41] [39].

Zaburzenie równowagi między natężeniem procesów oksydacyjnych, które indukują powstawanie reaktywnych form tlenu (RFT) i przeciwdziałającym systemem obronnym – antyoksydacyjnym – nazywamy stresem oksydacyjnym [41].

Wybrane antyoksydanty

Witamina C

Witamina C (kwas askorbinowy) jest kofaktorem w reakcjach hydroksylacji podczas syntezy kolagenu. Posiada silne właściwości redukujące, między innymi wobec O_2^- , H_2O_2 , OH^- i rodników nadtlenkowych [39]. Jest substancją produkowaną przez organizmy zwierzęce z wyjątkiem człowieka, małpy, świnki morskiej, nietoperza i niektórych gatunków ptaków. Rola witaminy C jest doskonale znana, m.in. jest niezbędna dla prawidłowej budowy tkanki łącznej. Witamina C wzmacnia działanie witaminy E. Dowiedziono, że dostępność NO zwiększa się u osób starszych leczonych witaminą C [42]. Dowiedziono, że witamina C w dawce dziennej większej niż 400mg pomaga chronić organizm ludzki przed efektami stresu oksydacyjnego oraz zmniejsza ryzyko uszkodzeń DNA. Rekomendowaną obecnie dawką kwasu askorbinowego jest dawka dobową 1000mg podzielona na 2 – 5 porcji [43] [44].

Witamina E

Witamina E (tokoferol) jest dostarczaną z pożywieniem rozpuszczalną w tłuszczach substancją zapobiegającą peroksydacji lipidów, dzięki temu stabilizującą błony komórkowe. Witamina E hamuje tlen singletowy i reaguje z rodnikami nadtlenkowymi. Szybciej wiąże się z RFT niż wielonienasycone kwasy tłuszczowe, hamując wystąpienie stresu oksydacyjnego. Wspomaga prawidłowe funkcjonowanie komórek śródbłónka poprzez „wymiatanie” RFT, zapobiega adhezji monocytów i uwalnianiu cytokin. Poprawia relaksację naczyń zależną od NO [39]. Witamina E zapobiega agregacji płytek krwi hamując działanie kinazy białka C. Kinaza ta jest odpowiedzialna za zmiany naczyniowe występujące m. in. w cukrzycy [45]. Już dawka 100mg witaminy E na dobę przez dwa lata zapobiega w 31% przypadków wystąpieniu zawału mięśnia sercowego i śmierci z powodów sercowo-naczyniowych u badanych pacjentów [46]. Dawka dzienna witaminy E nie powinna przekraczać 1000mg/dobę [47] Przypuszcza się, że stosowanie w leczeniu witaminy E może poprawić jakość wzroku [48].

Dysmutaza ponadtlenkowa

Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD, oksydoreduktaza $O_2^{\circ}: O_2^{\circ}$) jest enzymem komórkowym katalizującym reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego. Dwie cząsteczki (O_2°) reagując z dwoma protonami wodoru zostają przy udziale SOD przekształcone w H_2O_2 i cząsteczkę tlenu. Nazwa SOD obejmuje grupę trzech enzymów: dysmutazę zawierającą miedź i cynk, która występuje w cytoplazmie, dysmutazę zawierającą mangan – obecną w mitochondriach oraz pozakomórkową dysmutazę związaną z polisacharydami powierzchniowymi komórek [39].

Katalaza

Katalaza (CAT, oksydoreduktaza $H_2O_2: H_2O_2$) jest nazwą zarezerwowaną dla grupy enzymów katalizujących reakcję dysmutacji nadtlenu wodoru. W reakcji katalizowanej przez katalazę z dwóch cząsteczek H_2O_2 powstają dwie cząsteczki wody i cząsteczka tlenu. W reakcji tej biorą udział jony metali [39].

Peroksydaza glutationowa

Peroksydaza glutationowa (GPX, oksydoreduktaza glutation: H_2O_2) jest enzymem, który katalizuje reakcję redukcji nadtlenu wodoru i nadtlenków organicznych przez zredukowany glutation. W wyniku reakcji redukcji H_2O_2 powstaje disulfid glutationu i dwie cząsteczki wody. W organizmie ludzkim występują cztery rodzaje GPX- klasyczna- występująca we wnętrzu komórek (np. erytrocytów), peroksydaza żołądkowo- jelitowa- występująca w ścianie przewodu pokarmowego, peroksydaza osoczowa- występująca głównie w płynach zewnątrzkomórkowych oraz peroksydaza glutationowa wodorotlenków fosfolipidów, która oprócz występowania w błonach komórkowych, występuje w jądrach i plemnikach [39].

Rola stresu oksydacyjnego w patogenezie ED i innych chorób cywilizacyjnych

Narastająca industrializacja, urbanizacja, zmiana nawyków żywieniowych i stylu życia, nałogi oraz zanieczyszczenie środowiska powodują występowanie dużej ilości chorób, które można określić mianem chorób cywilizacyjnych, czyli takich, które wraz z postępem cywilizacji przez dużą zachorowalność, przewlekłość i negatywne skutki stanowią ogólnoswiatowy problem społeczny. Do takich chorób można zaliczyć cukrzycę, nadciśnienie tętnicze czy miażdżycę naczyń. Z epidemiologicznego punktu widzenia, wymienione choroby cywilizacyjne najczęściej towarzyszą zaburzeniom erekcji. Jedną z przyczyn powstawania zaburzeń erekcji, cukrzycy, nadciśnienia tętniczego i hipercholesterolemii prowadzącej do miażdżycy naczyń doszukuje się w szkodliwym działaniu reaktywnych form tlenowych (RFT) w warunkach stresu oksydacyjnego, na poziomie komórkowym.

W cukrzycy, zaburzenie śródbłonna naczyniowego zarówno w mikro- jak i makro-krążeniu spowodowane działaniem hiperglikemii i stresu oksydacyjnego nazwano procesem glikooksydacji [49].

W patogenezie nadciśnienia tętniczego krwi dochodzi do unieczynnienia, a zatem zmniejszenia biodostępności tlenku azotu (NO) przez działanie anionorodnika ponadtlenkowego, co powoduje zaburzenia funkcji śródbłonna. Dochodzi do

stopniowego zaburzenia tworzenia nabłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS), co może prowadzić do zmniejszenia odpowiedzi endotelium na prostaglandyny rozszerzające naczynia [50]. Także z powodu braku NO pozostają w przewodzie substancje zwężające naczynia, takie jak angiotensyna, endotelina, prostaglandyna H₂. Stres oksydacyjny i związane z nim procesy zapalne prowadzą do zaburzeń relaksacji mięśniówki gładkiej. Udowodniono zależność między stężeniem wolnych rodników, a nadciśnieniem tętniczym [40].

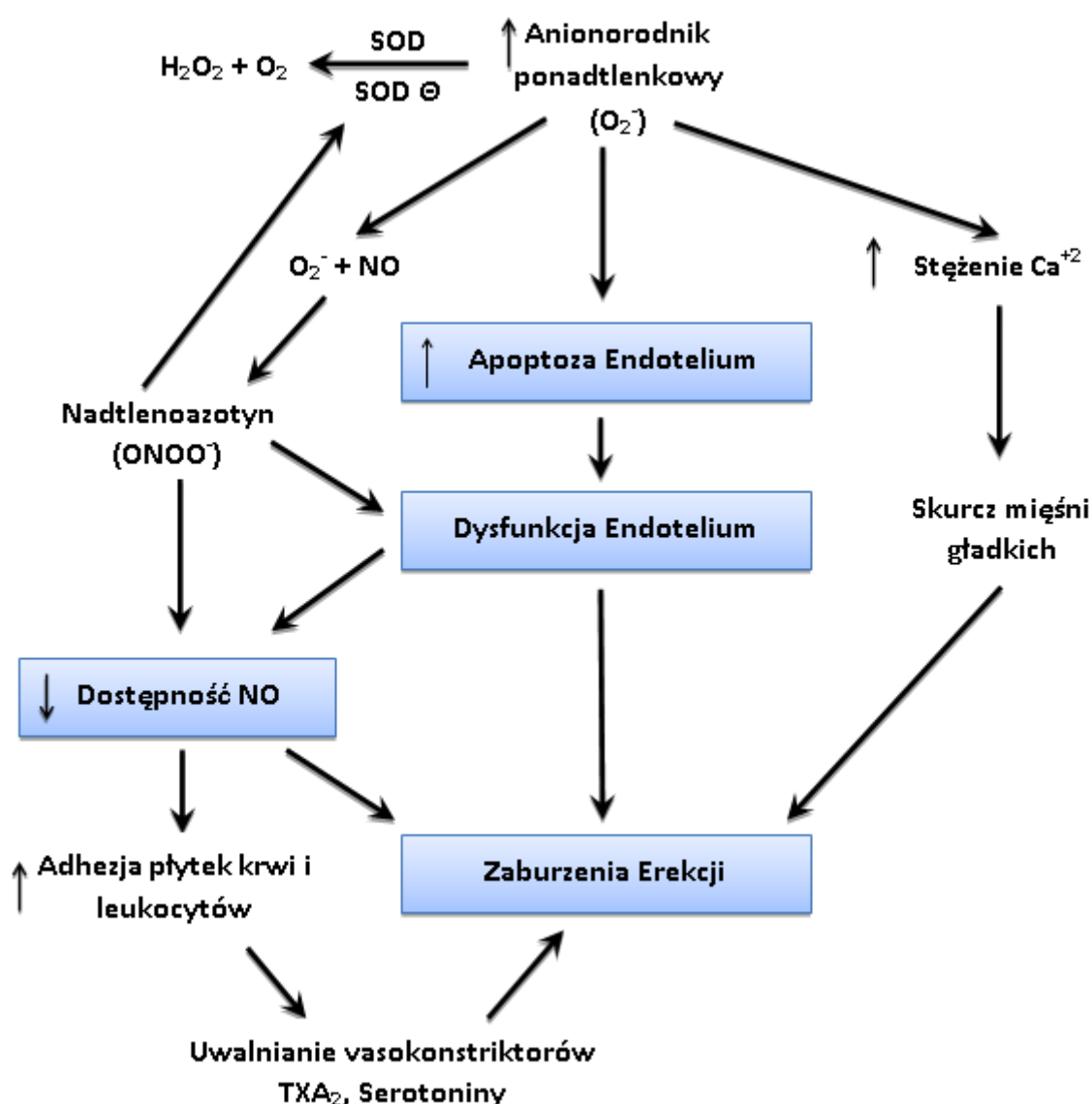
W miażdżycy, opisanemu powyżej uszkodzeniu śródbłonna naczyń, towarzyszą procesy oksydacyjne lipoprotein. Podczas peroksydacji lipidów komórkowych powstaje m.in. dialdehyd malonowy, który będąc jednym z końcowych produktów peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych „...może stanowić istotny wskaźnik intensywności procesów peroksydacji lipidów zachodzących w organizmie.” [51]. MDA powoduje uszkodzenie hydrofobowości i dwuwarstwowości błon komórkowych [52]. Istnieje teoria, że MDA reagując z utlenioną cząsteczką LDL prowadzi do powstania blaszki miażdżycowej [53]. Zwiększenie ilości reaktywnych form tlenowych jest więc powodem zwiększonej ilości MDA [51]. Dowiedziono, że podwyższony poziom cholesterolu w surowicy krwi jest związany z występowaniem zaburzeń wzrodu [54], a terapia antyoksydantami przyczynia się do zmniejszenia tworzenia się płytek miażdżycowych w naczyniach [55].

Tlenek azotu (NO), który bezpośrednio odpowiada za relaksację mięśniówki naczyń i napływ krwi do ciał jamistych członka, jest reaktywną formą tlenową. Zwiększona aktywność anionorodnika nadadtlenkowego (O₂⁻), który unieczynniając NO przekształca go w nadadtlenoazotyn (ONOO⁻), może pośrednio indukować i nasilać zaburzenia erekcji (Rysunek 7).

Dodatkowo anionorodnik nadadtlenkowy hamuje m.in. wytwarzanie prostacyklin PGI₂, które produkowane są przez komórki śródbłonna i mięśni gładkich, także ciał jamistych. PGI₂ w warunkach fizjologicznych powodują rozkurcz mięśniówki gładkiej oraz zapobiegają adhezji płytek krwi i leukocytów. W sytuacji zmniejszenia aktywności NO i PGI₂ dochodzi więc do zwiększonej adhezji płytek i leukocytów i co się z tym wiąże

zmniejszonego napływu krwi do naczyń. W wyniku nadmiernej agregacji krwinek dochodzi do wydzielania przez nie tromboksanu A₂ i serotoniny (5-hydroksytryptaminy) – substancji odpowiedzialnych za skurcz naczyń [56]. W obecności zwiększonej syntezy O₂⁻ dochodzi również do zwiększenia zawartości jonów wapnia w komórkach mięśni gładkich i naczyń.

Uszkodzające działanie wolnych rodników oraz zmniejszenie poziomu tlenu azotu prowadzi do skurczu mięśni gładkich naczyń i ciał jamistych prącia, a w rezultacie do pozostawania członka w stanie spoczynku [57].



Rysunek 7 Wpływ reaktywnych form tlenu na zaburzenia erekcji [57].

Zaburzenia erekcji mogą być wczesnym, wyprzedzającym objawem chorób układu krążenia i mogą stanowić barometr wystąpienia schorzeń takich jak niedokrwienie mięśnia sercowego, zawał serca, chromanie, arterioskleroza, cukrzyca [58] [15] [59].

Dyskusji podlega addycyjne stosowanie antyoksydantów w terapii zaburzeń erekcji. Dowiedziono na modelu zwierzęcym, że stosowanie antyoksydantów jakimi są witaminy C i E zmniejsza wykładniki stresu oksydacyjnego we krwi oraz badanych tkankach [60]. Istnieją przypuszczenia, że suplementacja preparatami zmniejszającymi nasilenie stresu oksydacyjnego może wspomóc i nasilić oczekiwane działanie IPDE-5 [61]. Szczególnie jest to istotne w przypadku chorych z ED, chorobami naczyniowymi i metabolicznymi, gdyż dowiedziono, że w przypadkach tych chorób działanie inhibitorów PDE-5 jest słabsze [62]. Już wykazano na modelu zwierzęcym, że witamina E może zwiększać efekt terapeutyczny inhibitorów PDE5 i poprawiać erekcje u diabetyków [63].

Cel pracy

Przyjmując hipotezę o roli stresu oksydacyjnego w patomechanizmie występowania zaburzeń wzrodu i chorób cywilizacyjnych, a także wpływu palenia papierosów na poziom stresu oksydacyjnego, wyznaczono następujące cele pracy:

- Ocena wpływu suplementacji preparatami o działaniu antyoksydacyjnym na wyniki 3-miesięcznej terapii sildenafilem chorych z zaburzeniami erekcji.
- Ocena skuteczności leczenia sildenafilem u chorych z zaburzeniami erekcji, u których współwystępują: nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, hipercholesterolemia.
- Ocena skuteczności leczenia sildenafilem w połączeniu z preparatami o działaniu antyoksydacyjnym u chorych z zaburzeniami erekcji, u których współistnieją: nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, hipercholesterolemia.
- Ocena wpływu antyoksydantów na leczenie sildenafilem u chorych z zaburzeniami erekcji i współwystępującymi chorobami cywilizacyjnymi, palących papierosy.

Materiał i metody

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu nr 1011/06 i 456/13.

Materiał

Do badania zostało zakwalifikowanych 52 mężczyzn, w wieku od 20 do 65 lat (średnia wieku 42,4 lata), czynnych zawodowo, cierpiących na zaburzenia erekcji, aktywnych seksualnie. Pacjenci biorący udział w badaniu zostali poinformowani o jego założeniach i celu, wyrazili zgodę na przystąpienie do badania. Były to osoby, które same zgłosiły się do gabinetu lekarskiego z potrzebą leczenia zaburzeń wzwodu. ED stanowiły dla tych chorych istotny problem zdrowotny, dotychczas nie leczony. Zakwalifikowano do badania pacjentów, u których na podstawie kwestionariusza IIEF-5 stwierdzono umiarkowane zaburzenia erekcji. Czas trwania dysfunkcji wzwodu był różny u poszczególnych chorych i wahał się od 3 miesięcy do stopniowo narastających zaburzeń w ciągu dwóch lat. Szczegółową charakterystykę badanych pacjentów przedstawia Tabela 2. Każda komórka zawiera średnią wartość danego parametru w danej grupie. Wybrane parametry zostały dodatkowo oznaczone cyframi, aby rozróżnić ich wartości przed leczeniem (1) i po leczeniu (2).

Tabela 2 Kliniczna i laboratoryjna charakterystyka badanych pacjentów

Parametr	ED bez chorób towarzyszących	ED z chorobami towarzyszącymi - palący	ED z chorobami towarzyszącymi - niepalący
N	14	12	26
Wiek [lata]	32,50	48,44	47,41
Masa ciała [kg]	75,79	82,11	84,91
Wzrost [cm]	177,71	180,78	176,31
BMI [kg/m ²]	24,20	25,03	27,33
IIEF-1	13,14	13,78	11,31
IIEF-2	15,29	15,89	13,41
HGB [g/dl]	16,04	15,48	15,80
HCT [%]	46,97	46,07	46,58
WBC [10 ³ /ul]	6,38	7,68	6,50
RBC [10 ⁶ /ul]	5,13	4,80	5,10
MCV [fl]	91,57	96,20	91,58
MCHC [g/dl]	34,00	32,47	33,74
PLT [10 ³ /ul]	193,71	196,67	199,45
Cholesterol [mg/dl]	168,71	206,56	208,00
HDL [mg/dl]	52,81	56,81	59,59
LDL [mg/dl]	97,64	123,00	118,62
Glikemia [mmol/l]	5,31	8,28	10,70
Prolaktyna [ng/ml]	16,30	13,05	13,87
Testosteron [ng/ml]	5,72	6,88	5,54
SOD-1 [U/gHb]	0,48	0,50	0,60
CAT-1 [U/gHb]	445,86	385,00	465,69
MDA-1 [U/ml]	3,04	2,19	2,47
GPX-1 [mU/ml]	52,36	37,89	54,83
NO-1 [uM/l]	0,03	0,03	0,03
SOD-2 [U/gHb]	0,94	0,85	0,74
CAT-2 [U/gHb]	551,14	445,78	523,45
MDA-2 [U/ml]	2,45	2,00	2,28
GPX-2 [mU/ml]	47,64	45,50	44,16
NO-2 [uM/l]	0,03	0,05	0,04

Kryteriami włączającymi do badania były:

- zaburzenia erekcji,
- regularne podejmowanie prób współżycia,
- pisemne potwierdzenie chęci wzięcia udziału w badaniu,
- brak chorób psychicznych,
- nieobciążony wywiad chorobowy w zakresie chorób i przebytych zabiegów w obrębie miednicy mniejszej lub zabiegów wpływających na unerwienie i unaczynienie narządów miednicy mniejszej,
- prawidłowy poziom testosteronu (2,6-11 ng/ml) i prolaktyny (1,9-25 ng/ml),
- prawidłowy obraz morfologii krwi obwodowej.

Kryteriami wyłączającymi z badania były:

- niepodejmowanie prób współżycia płciowego,
- brak stałej partnerki,
- podejmowanie nieregularnych stosunków płciowych z różnymi partnerkami,
- zaburzenia psychiczne wymagające stosowania leków psychotropowych,
- leczenie operacyjne w obrębie miednicy małej mające lub mogące mieć wpływ na jakość wzwodu,
- stosowanie leków których udowodnionym działaniem ubocznym może być zaburzenie erekcji oraz leków zwiększających stężenie tlenu azotu,
- stwierdzone podczas badania włączającego zaburzenia hormonalne w zakresie poziomu testosteronu i/lub prolaktyny w surowicy krwi,
- świeżo przebyte zabiegi operacyjne,
- zawał serca przebyty w ciągu roku przed badaniem,
- podejrzenie raka stercza na podstawie PSA, badania rektalnego i TRUS (wszyscy pacjenci powyżej 50 roku życia mieli wykonaną rutynową diagnostykę urologiczną wykluczającą podejrzenie raka prostaty).

Pacjenci objęci badaniem po spełnieniu kryteriów włączenia i wyłączenia, w zależności od stosowanej trzymiesięcznej terapii, zostali losowo podzieleni na dwie grupy.

Grupe pierwszą, oznaczoną jako **Grupa 1**, stanowiło 28 chorych leczonych sildenafilem, w dawce 50mg, w odstępach dwudniowych (N=28).

Drugą grupe – **Grupa 2** – stanowili 24 pacjenci zażywający: sildenafil, w dawce 50mg, w odstępach dwudniowych; a-tokoferol (wit. E), w dawce 2x200mg, codziennie, w odstępach 12 godzinnych; kwas askorbinowy (wit. C), w dawce 2x500mg, dwa razy na dobę (N=24).

W dalszych rozważaniach terapię sildenafilem, w dawce 50mg, w odstępach dwudniowych nazwano terapią 1, podczas gdy leczenie sildenafilem 50mg, w odstępach dwudniowych, w połączeniu z codziennym zażywaniem witaminy E (2x200mg) i witaminy C (2x500mg) nazwano terapią 2.

Celem oceny wpływu następujących chorób cywilizacyjnych: nadciśnienia tętniczego, cukrzycy, hipercholesterolemii – na zmiany wartości mierzonych parametrów, wśród badanych pacjentów, wyodrębniono kolejne grupy chorych:

Grupa A – Pacjenci z zaburzeniami erekcji bez współwystępujących chorób cywilizacyjnych (N=14):

- poddani terapii 1 (N=6),
- poddani terapii 2 (N=8).

Grupa B – Pacjenci z ED, ze współistniejącymi chorobami cywilizacyjnymi (N=38):

- poddani terapii 1 (N=22),
- poddani terapii 2 (N=16).

Do grupy B włączono chorych, u których występowała jedna, dwie lub trzy omawiane choroby cywilizacyjne. Za chorych z nadciśnieniem tętniczym uważano tych z leczonym lub świeżo rozpoznanym nadciśnieniem. Za chorych z cukrzycą uważano tych, którzy mieli ją wcześniej zdiagnozowaną i byli z powodu tej choroby leczeni. Zwiększone ryzyko miażdżycy wiąże się z hipercholesterolemią, a tą stwierdzano u chorych, u których poziom cholesterolu w surowicy krwi przekraczał 200mg/dl.

Dodatkowo analizowano wpływ palenia tytoniu i rodzaju stosowanej terapii (1 vs 2) na wyniki badanych parametrów laboratoryjnych u pacjentów z towarzyszącymi chorobami

współistniejącymi- nadciśnieniem tętniczym i/lub cukrzycą i/lub hipercholesterolemią. W grupie chorych palących stwierdzano palących średnio ok. 20 papierosów na dobę. Za niepalących uważano tych pacjentów, którzy nie palili papierosów w ogóle, lub takich, u których upłynął co najmniej rok od momentu zakończenia palenia. Wyodrębniono następujące grupy chorych:

- pacjenci z grupy B palący papierosy, po terapii 1 (N=6),
- pacjenci z grupy B palący papierosy, u których zastosowano terapię 2 (N=6),
- pacjenci z grupy B niepalący papierosów, po terapii 1 (N=16),
- pacjenci z grupy B niepalący papierosów, leczeni terapią 2 (N=10).

Metody

Wszyscy probanci przed włączeniem do badania zostali poddani badaniom obejmującym:

- Wywiad z ankietą – zbierane były dane dotyczące parametrów pacjentów (masa ciała, wzrost, wiek), wywiadu chorobowego, stosowania używek, diety, aktywności fizycznej, charakteru pracy, a także bieżących wydarzeń mogących wpływać na zwiększenie poziomu stresu oksydacyjnego. Wykluczono chorych z przebytymi urazami narządów płciowych, wadami wrodzonymi lub anomaliami anatomicznymi, a także pacjentów z podłożem choroby psychicznej, w etiologii zaburzeń erekcji. Za pomocą skróconego standaryzowanego kwestionariusza IIEF-5 używanego do oceny stopnia zaburzeń erekcji zostały zebrane informacje o ich typie, nasileniu i charakterze.
- Badanie przedmiotowe – m in. pozwalające na wykluczenie widocznych wad anatomicznych narządów płciowych. Badanie rektalne celem oceny gruczołu krokowego.
- Badanie kardiologiczne – EKG, Echokardiografia, badanie przedmiotowe i podmiotowe przez specjalistę kardiologa.
- Badania obrazowe – USG nerek i pęcherza oraz USG ciał jamistych z oceną naczyń prącia metodą Dopplera celem wykluczenia zaburzeń przepływu krwi.

- Badania laboratoryjne – przed badaniem krwi pacjenci zostali poinformowani o konieczności 48 godzinnej wstrzemięźliwości od seksu, dużego wysiłku fizycznego i stosowania używek. W standaryzowanych i jednakowych warunkach (godz. 7.00 rano, na czczo) pobierano od pacjentów dwukrotnie: przed zastosowaniem leków i trzy miesiące po rozpoczęciu terapii, po trzy próbki krwi żyłnej. Pierwszą próbkę pobierano do probówki zawierającej EDTA i wykorzystano do badania parametrów morfologii krwi. Drugą próbkę krwi umieszczono w probówce zawierającej aktywator krzepnięcia, po 20 minutach odwirowano przy 3000 obr/min. przez 10 minut, zbierano surowicę, a w uzyskanej surowicy oznaczono poziom cholesterolu całkowitego, frakcji LDL, HDL, stężenie glukozy, a także poziom hormonów: testosteronu i prolaktyny. Trzecią próbkę krwi pobierano do probówek heparynizowanych, poddawano wirowaniu przy 3000 obr/min przez 10 minut. Zbierano osocze. W otrzymanym osoczu oznaczono poziom tlenku azotu (NO) oraz malonyldialdehydu (MDA), natomiast krwinki czerwone wykorzystano do przygotowywania hemolizatów zgodnie z wytycznymi producenta testów. W uzyskanych hemolizatach oznaczono aktywność enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) oraz peroksydazy glutationowej (GPX).
- Oznaczanie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD, EC 1.15.1.1.)
Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w hemolizatach oznaczono za pomocą zestawów testowych BIOXYTECH[®] SOD-525 firmy OXIS (USA). Metoda zastosowana w teście oparta jest na katalizowanej przez SOD reakcji wzrostu szybkości samoutleniania 5,6,6a,11b-tetrahydro-3,9,10-trihydroxybenzo[c]-fluorenu w alkalicznym roztworze wodnym do formy chromoforu, wykazującej maksimum absorpcji przy długości fali 525 nm. Zmianę absorbancji próbki określano za pomocą spektrofotometru Specord M-40 firmy Carl-Zeiss Jena, przy długości fali 525 nm, w 10-cio sekundowych odstępach czasowych przez minutę. Aktywność SOD wyrażono w U/g Hb [64].

- Oznaczanie aktywności katalazy (CAT, EC 1.11.1.6.)

Do oznaczenia aktywności katalazy w hemolizatach użyto zestawów testowych BIOXYTECH[®] Catalase-520 firmy OXIS (USA). Metoda wykorzystana w teście jest procedurą dwuetapową, opartą na założeniu, że szybkość reakcji dysmutacji nadtlenu wodoru do wody i molekularnego tlenu jest proporcjonalna do stężenia katalazy. W pierwszym etapie próbkę poddano 60-cio sekundowej inkubacji w roztworze o znanym stężeniu nadtlenu wodoru. Następnie reakcja została przerywana przez dodanie azydku sodu. Ilość nadtlenu wodoru pozostałego w próbce określono przez reakcję sprzęgania H_2O_2 z 4-aminofenazonem (4-aminoantypiryną, AAP) i kwasem 3,5-dichloro-2-hydroksybenzenosulfonowym (DHBS) w obecności peroksydazy chrzanowej (HRP), pełniącej funkcję katalizatora. Absorbancję powstałego produktu barwnego (chininoiminy) mierzono przy pomocy spektrofotometru Specord M-40 firmy Carl-Zeiss Jena, przy długości fali 520 nm. Aktywność katalazy wyrażono w U/g Hb [65]

- Oznaczanie aktywności peroksydazy glutationowej (GPx, EC 1.11.1.9.)

Aktywność peroksydazy glutationowej w hemolizatach oznaczono za pomocą zestawów testowych BIOXYTECH[®] GPx-340 firmy OXIS (USA). W teście zastosowano metodę pośredniego pomiaru aktywności enzymu. Utleniony glutation (GSSG), będący produktem reakcji katalizowanej przez peroksydazę glutationową, ulega przemianie do formy zredukowanej (GSH) przy udziale reduktazy glutationowej, kosztem utleniania NADPH. Utlenianie NADPH powoduje spadek wartości absorbancji mieszaniny reakcyjnej przy długości fali 340 nm. Do badanej próbki dodawano roztwór zawierający NADPH, zredukowany glutation oraz reduktazę glutationową. Reakcję enzymatyczną inicjowano za pomocą wodoronadtlenku tert-butyłu. Zmianę absorbancji próbki określono przy użyciu spektrofotometru Specord M-40 firmy Carl-Zeiss Jena, w 30-sekundowych przedziałach czasowych, przez 3 minuty, przy długości fali 340 nm. Aktywność peroksydazy glutationowej wyrażono w mU/ml [66]

- Oznaczanie poziomu malonyldialdehydu (MDA)

Stężenie malonyldialdehydu w osoczu krwi oznaczono przy użyciu zestawów testowych BIOXYTECH[®] MDA-586 firmy OXIS (USA). Metoda zastosowana w teście oparta jest na reakcji N-metylo-2-fenyloindolu (NMPI) z MDA w temperaturze 45°C, w obecności HCl. Jedna cząsteczka MDA reaguje z dwiema cząsteczkami NMPI tworząc stabilny chromofor, wykazujący maksimum absorpcji przy długości fali 586 nm. Absorbancję mieszaniny reakcyjnej określono przy użyciu spektrofotometru Specord M-40 firmy Carl-Zeiss Jena oraz długości fali 586 nm. Stężenie MDA wyrażono w U/ml. [67]

- Oznaczanie poziomu tlenku azotu (NO)

Poziom tlenku azotu w osoczu krwi oznaczono za pomocą zestawów testowych BIOXYTECH[®] Nitric Oxide firmy OXIS (USA). W teście zastosowano pośrednią metodę oceny zawartości tlenku azotu, opartą na pomiarze stężenia azotynów w materiale biologicznym. W roztworach wodnych tlenek azotu ulega przemianie do azotanów i azotynów. Po enzymatycznej redukcji azotanów do azotynów przy użyciu reduktazy azotanowej i NADH, obecne w surowicy azotyny poddane zostały reakcji z odczynnikiem Griessa, składającym się z p-aminobenzenosulfonamidu w 3N HCl i chlorowodoru N-(1-naftylo)-etylenodiaminy. W środowisku kwaśnym azotyny reagują z kwasem sulfanilowym, tworząc kwas diazobenzenosulfonowy, który po sprzężeniu z N-(1-naftylo)-etylenodiaminą tworzy barwny produkt, wykazujący maksimum absorpcji przy długości fali 540 nm. Zmianę absorbancji próbki określono spektrofotometrycznie, za pomocą mikroczytnika (Micro-Reader) firmy Hyperion (USA), przy długości fali 540 nm. Poziom tlenku azotu wyrażono w $\mu\text{M/l}$ [68].

- Badania laboratoryjne

Morfologię krwi obwodowej oznaczono analizatorem hematologicznym Symex XS 800i. Poziom prolaktyny i testosteronu oznaczono metodą ECLIA (immuno elektrochemiluminescencja), aparatem Cobas e411. Poziom glukozy, cholesterolu i trójglicerydów zbadano metodą kolorymetryczną aparatem Hitachi 904.

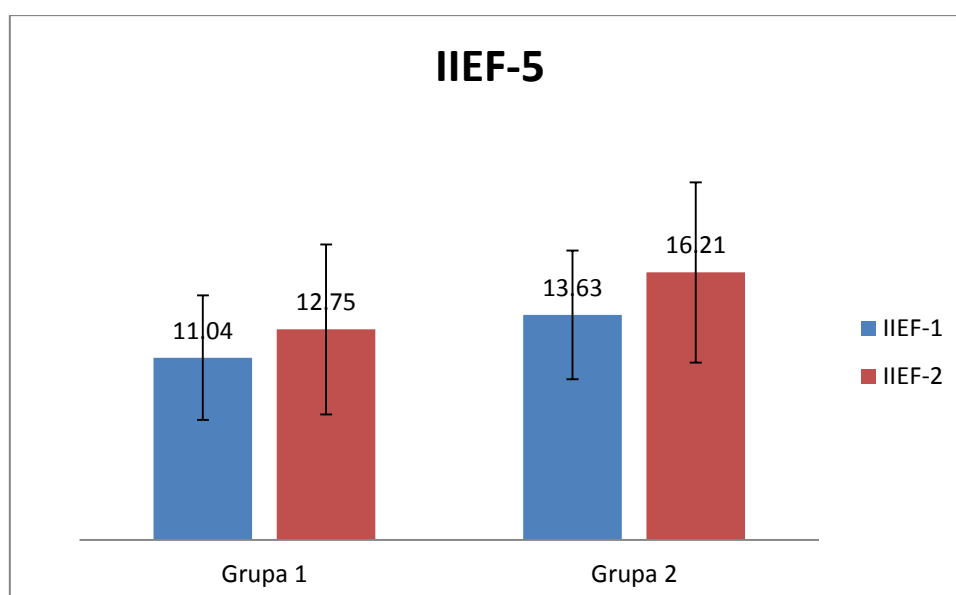
Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono przy pomocy programu Statistica v.8.0. Rozpoczynano od testu na występowanie istotnych różnic pomiędzy zbiorami (jednoczynnikowa analiza wariancji). Następnie, w zależności od wyniku testu na jednorodność wariancji (test Lavene'a) zastosowano testy Tamhane'a lub Scheffe w celu porównania poszczególnych średnich w grupach. Dodatkowo, dla porównania skuteczności zastosowanych terapii w analizowanych grupach wykorzystano test t-Studenta. Wszystkie testy zostały przeprowadzone przy założeniu o normalności rozkładu, co potwierdzono testem Kołmogorowa-Smirnowa. Przy ocenie każdego z badanych parametrów porównywano wzajemnie wszystkie grupy przyjmując poziom istotności $\alpha=0,05$.

Wyniki

Badania biochemiczne krwi zostały przeprowadzone w Laboratorium Szpitala MSW, w Poznaniu. Oznaczenia wybranych parametrów stresu oksydacyjnego wykonano w laboratorium Katedry Fizjologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

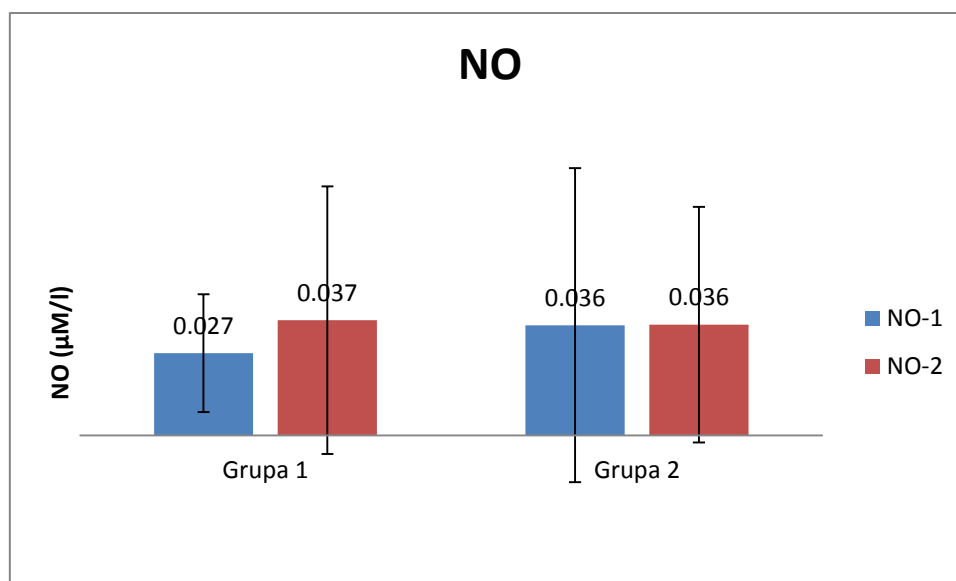
Wpływ zastosowanej terapii na poziom badanych parametrów

Poniżej przedstawiono wyniki 3-miesięcznej terapii w grupie 1 i w grupie 2.

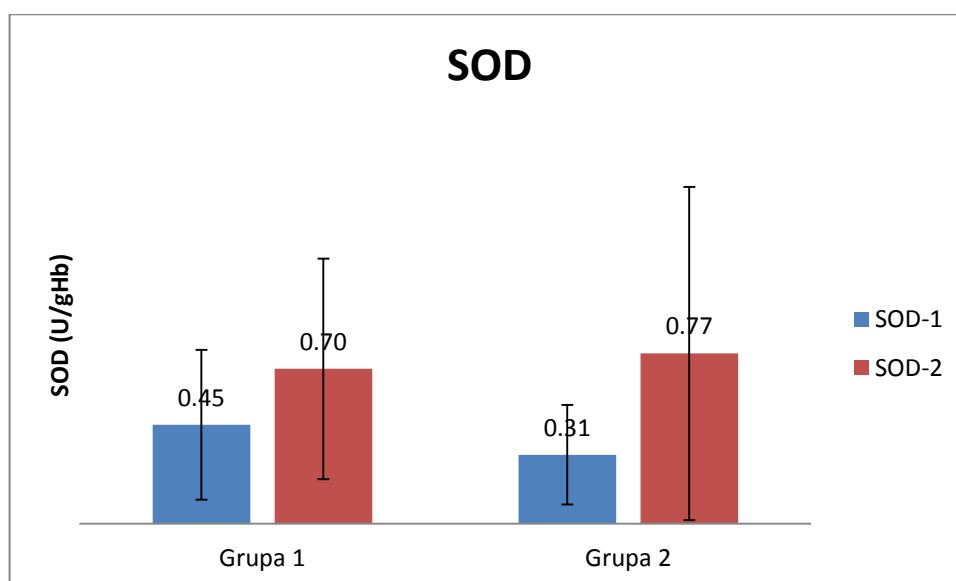


Rysunek 8 Średnia wartość IIEF-5 razem z odchyleniem standardowym zależnie od rodzaju terapii

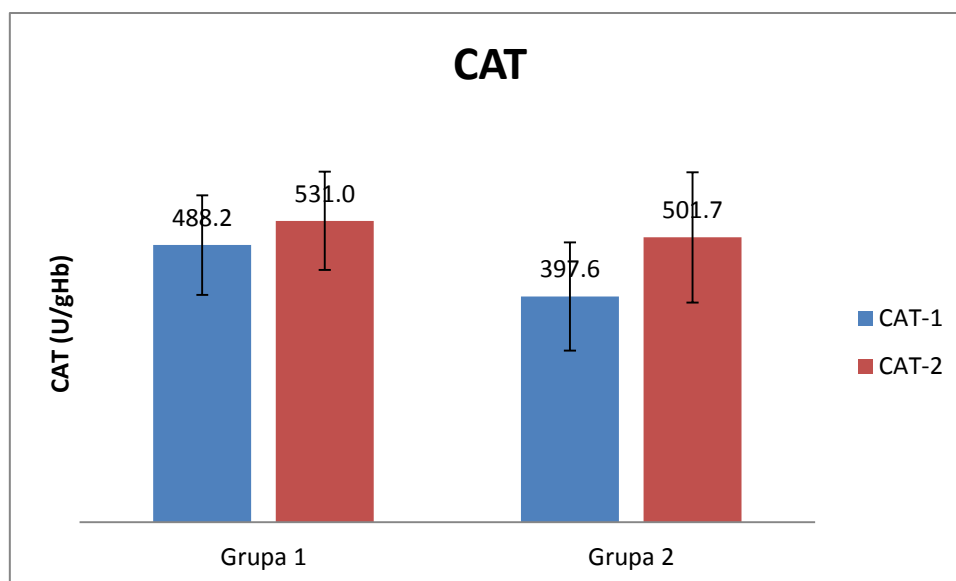
Losowo dobrani chorzy, którzy otrzymywali wyłącznie sildenafil (Grupa 1) mieli wyjściowo niższy średni współczynnik IIEF-5 (11,04), który po leczeniu wzrósł do 12,75 pkt. (zmiana o 15,5%). W grupie chorych, którzy dodatkowo otrzymywali antyoksydanty (Grupa 2) współczynnik IIEF-5 wzrósł z 13,63 przed leczeniem do 16,21 po leczeniu (zmiana o 18,9%). Różnica w poprawie nie okazała się jednak istotna statystycznie.



Rysunek 9 Średnie stężenie tlenku azotu razem z odchyleniem standardowym w zależności od rodzaju terapii
Średnie stężenie tlenku azotu wzrosło w grupie 1 o 37%, a w grupie 2 o 0,58%. Różnica ta nie znalazła jednak potwierdzenia w istotności statystycznej.

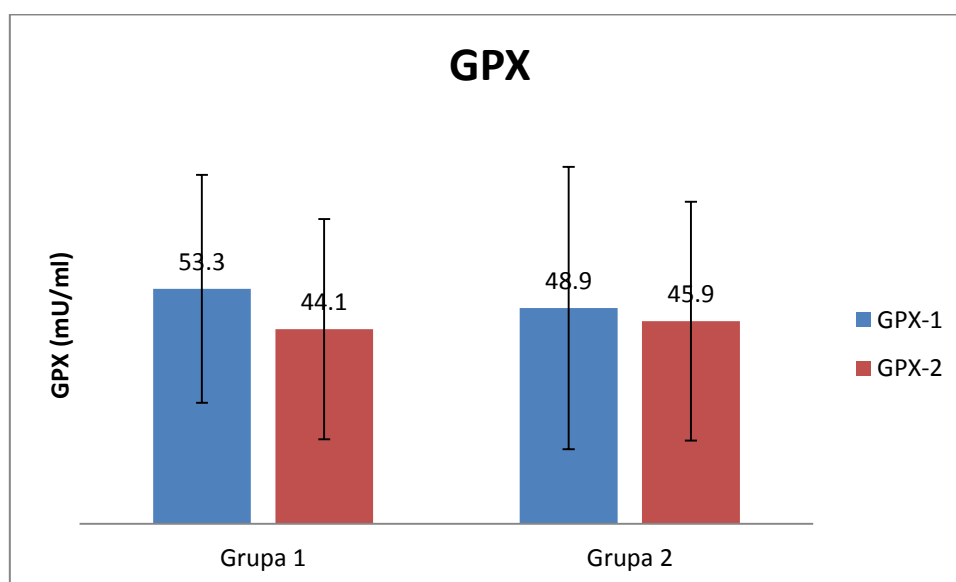


Rysunek 10 Średnia aktywność SOD razem z odchyleniem standardowym zależnie od rodzaju terapii
Zarówno w grupie 1 jak i w grupie 2 stwierdzono wzrost wartości dysmutazy nadtlenkowej po 3 miesięcznej terapii. W grupie chorych, którzy otrzymywali sildenafil zmiana ta wyniosła 56% (z 0,45 na 0,70 U/gHb) natomiast w przypadku suplementacji antyoksydantami zmierzono wzrost wartości aż o 148 % (z 0,31 na 0,77 U/gHb). Istotność statystyczna zmiany nie została potwierdzona.



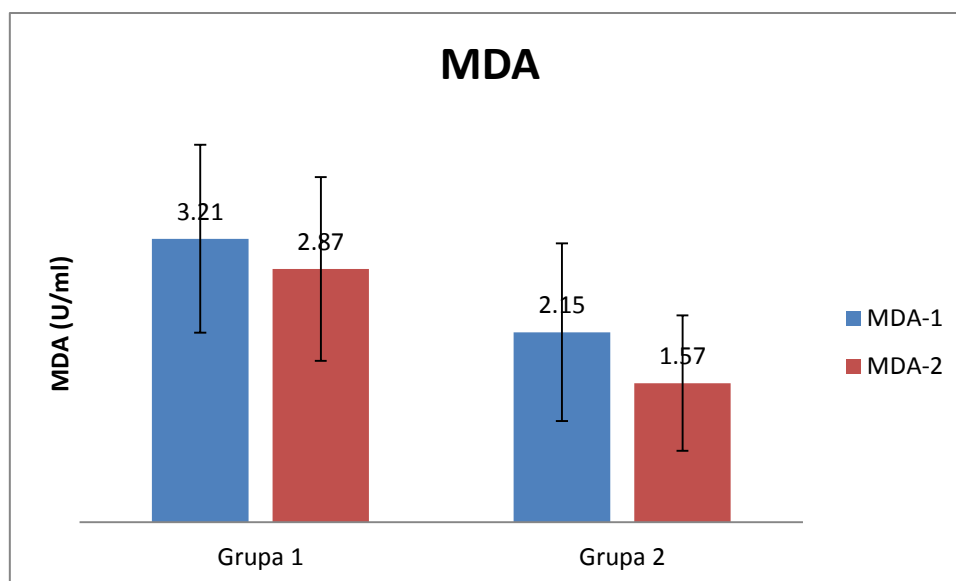
Rysunek 11 Średnia aktywność CAT razem z odchyleniem standardowym w zależności od rodzaju terapii

Pomiar katalazy po 3 miesięcznej terapii dla obydwu badanych grup wykazał jej wzrost. W przypadku grupy chorych, którzy oprócz sildenafilu dodatkowo otrzymywali antyoksydanty, wzrost wartości CAT wyniósł aż 26,2%, podczas gdy w grupie chorych leczonych wyłącznie sildenafilem wyniósł on jedynie 8,7%. Zmiany nie były jednak poparte istotnością statystyczną w żadnej z grup.



Rysunek 12 Średnia aktywność GPX razem z odchyleniem standardowym w zależności od rodzaju terapii

Aktywność peroksydazy glutationowej zmniejszyła się po 3 miesięcznej terapii w obydwu grupach terapeutycznych. Większy spadek (17,3%) zanotowano w grupie pacjentów, którzy otrzymywali sildenafil (Grupa 1), mniejszy (6,1%) w grupie z antyoksydantami. W obydwu grupach nie znaleziono istotności statystycznej.



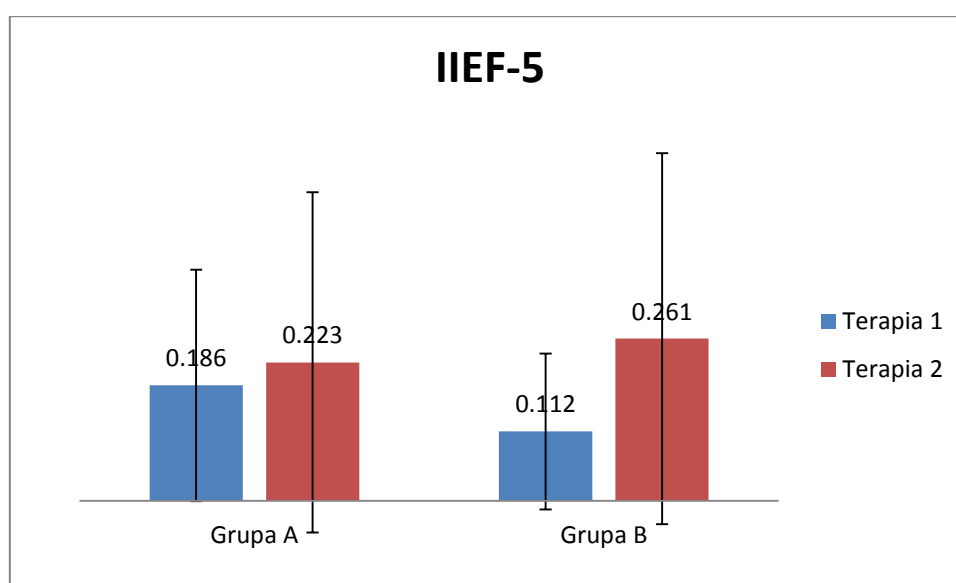
Rysunek 13 Średnie stężenie MDA razem z odchyleniem standardowym w zależności od rodzaju terapii

W obu grupach odnotowano nieistotny statystycznie spadek stężenia MDA. W grupie 2 wartość MDA po 3 miesiącach leczenia zmalała o 26,0%, natomiast w grupie 1 spadek wyniósł 10,9 %.

Wpływ chorób cywilizacyjnych na poziom badanych parametrów

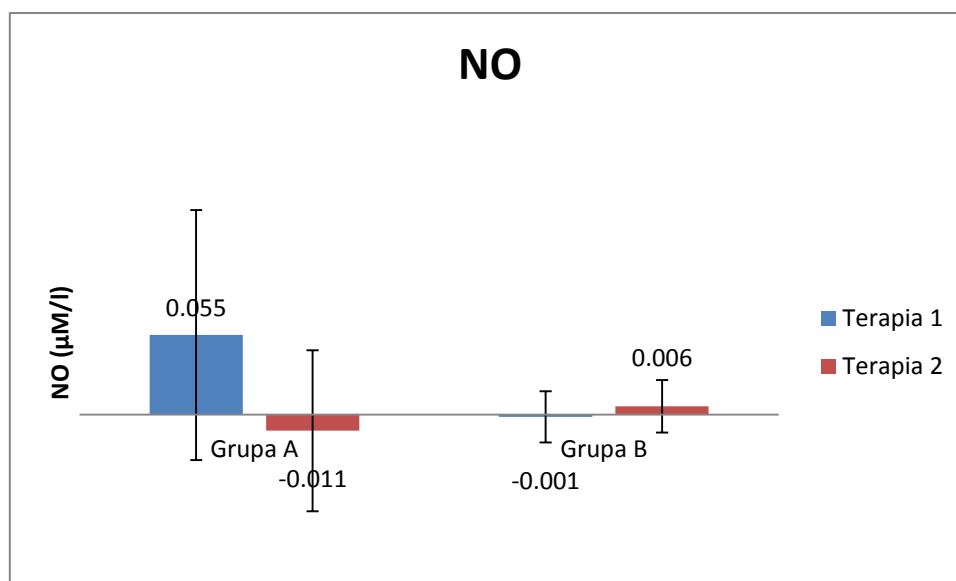
Na poniższych wykresach przedstawiono zmiany parametrów IIEF, NO, SOD, CAT, GPX oraz MDA, u pacjentów z zaburzeniami erekcji w grupach bez (A) i z chorobami współistniejącymi (B) z uwzględnieniem stosowanego leczenia. Aby uniezależnić ocenę zmiany parametru IIEF-5 od stopnia ciężkości zaburzeń erekcji, posłużono się poniższym wzorem [69]:

$$\Delta IIEF = \frac{IIEF2 - IIEF1}{25 - IIEF1}$$



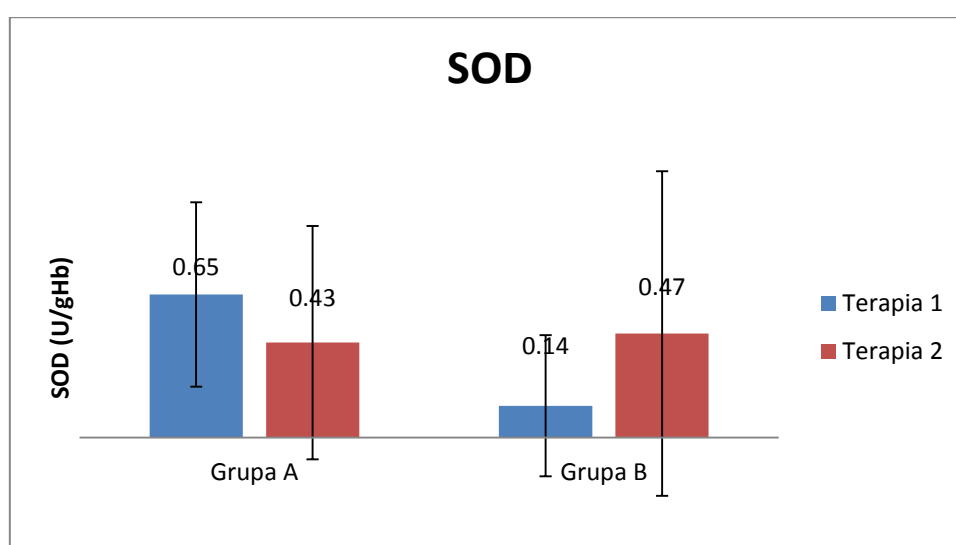
Rysunek 14 Średnia zmiana wartości IIEF-5 razem z odchyleniem standardowym w grupie A i B zależnie od zastosowanej terapii.

Średnia zmiana współczynnika IIEF-5 u pacjentów z zaburzeniami erekcji bez chorób współistniejących (A) wynosiła 0,186 pkt. wśród chorych leczonych IPDE-5 (Terapia 1) oraz 0,223 pkt. wśród chorych leczonych IPDE-5 oraz antyoksydantami (Terapia 2). Wśród pacjentów z towarzyszącymi zaburzeniami erekcji i chorobami współistniejącymi zmiana po terapii pierwszej wynosiła 0,112 pkt. natomiast po terapii drugiej 0,261 pkt. Mimo iż różnica w poprawie parametru IIEF w grupie B była czterokrotnie większa niż w grupie A, nie znalazło to potwierdzenia statystycznego.



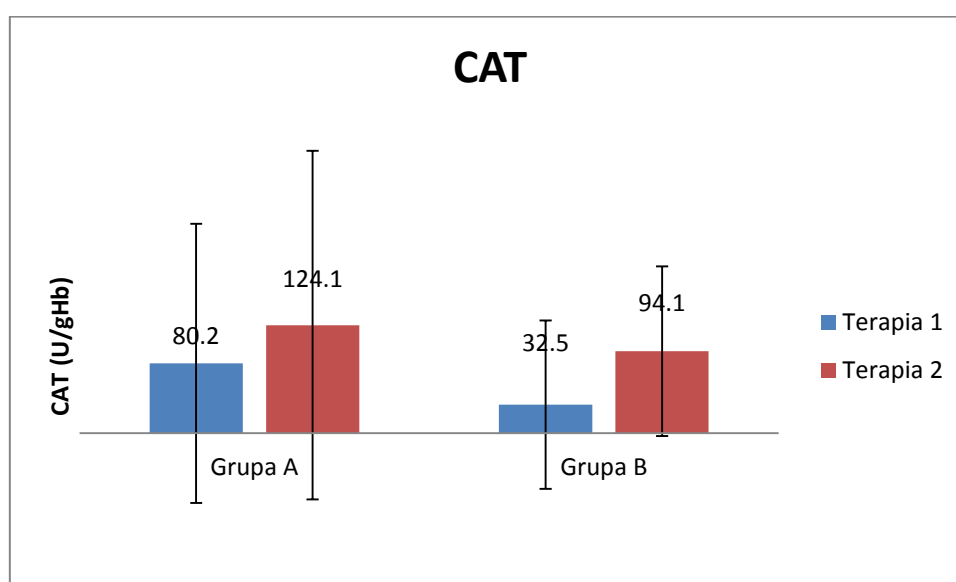
Rysunek 15 Średnia zmiana wartości NO razem z odchyleniem standardowym w grupie A i B zależnie od zastosowanej terapii.

Rysunek 15 przedstawia średnie zmiany wartości tlenku azotu (NO) u pacjentów z zaburzeniami erekcji bez chorób współistniejących (Grupa A) oraz z chorobami współistniejącymi (Grupa B) zależnie od stosowanej terapii. W grupie A wśród pacjentów leczonych terapią 1 zmiana wyniosła 0,055 $\mu\text{M/l}$ natomiast wśród chorych leczonych IPDE-5 oraz antyoksydantami (Terapia 2) odnotowano spadek po terapii o 0,011 $\mu\text{M/l}$. W grupie pacjentów z ED obciążonych chorobami cywilizacyjnymi odnotowano spadek o 0,001 $\mu\text{M/l}$ dla terapii 1 i wzrost o 0,006 $\mu\text{M/l}$ dla terapii 2. Różnice znalazły potwierdzenie statystyczne w teście Tamhane'a.



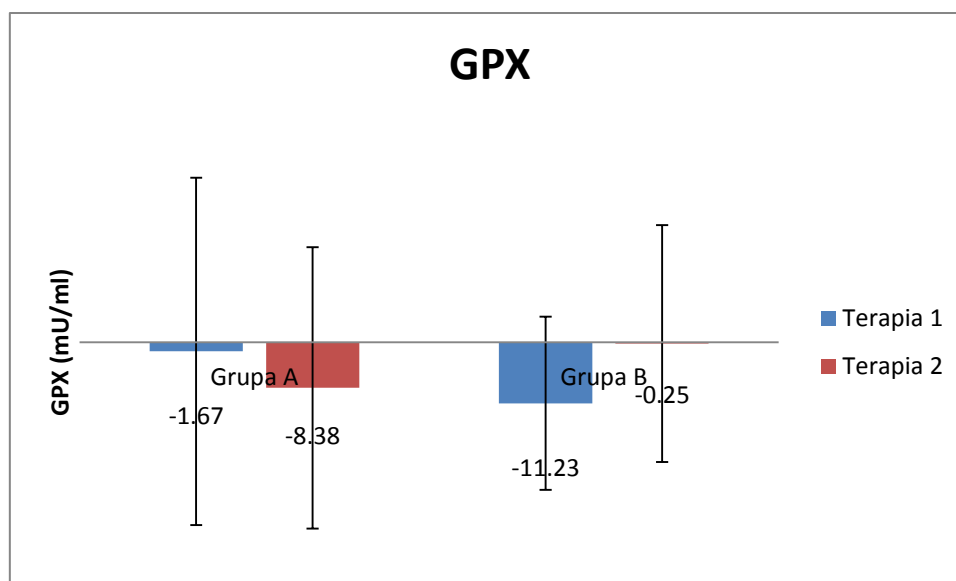
Rysunek 16 Średnia zmiana wartości SOD razem z odchyleniem standardowym w grupie A i B zależnie od zastosowanej terapii.

Średnia zmiana wartości dysmutazy nadadtlenkowej (SOD) u pacjentów z zaburzeniami erekcji bez chorób współistniejących (Grupa A) wynosiła 0,65 U/gHb w grupie pacjentów leczonych IPDE-5 (Terapia 1) oraz 0,43 U/gHb wśród chorych leczonych IPDE-5 oraz antyoksydantami (Terapia 2). Wśród pacjentów z towarzyszącymi zaburzeniom erekcji chorobami współistniejącymi zmiana po terapii 1 wynosiła 0,14 U/gHb natomiast po terapii 2 – 0,47 U/gHb. Różnica zmian wartości pomiędzy grupami nie znalazła potwierdzenia statystycznego. Zauważono jednak większy przyrost SOD po leczeniu terapią 2 niż po leczeniu terapią 1 wśród pacjentów z grupy B w przeciwieństwie do grupy A, gdzie addycyjne stosowanie antyoksydantów nie poprawiło zmiany stężenia w stosunku do leczenia bez nich.



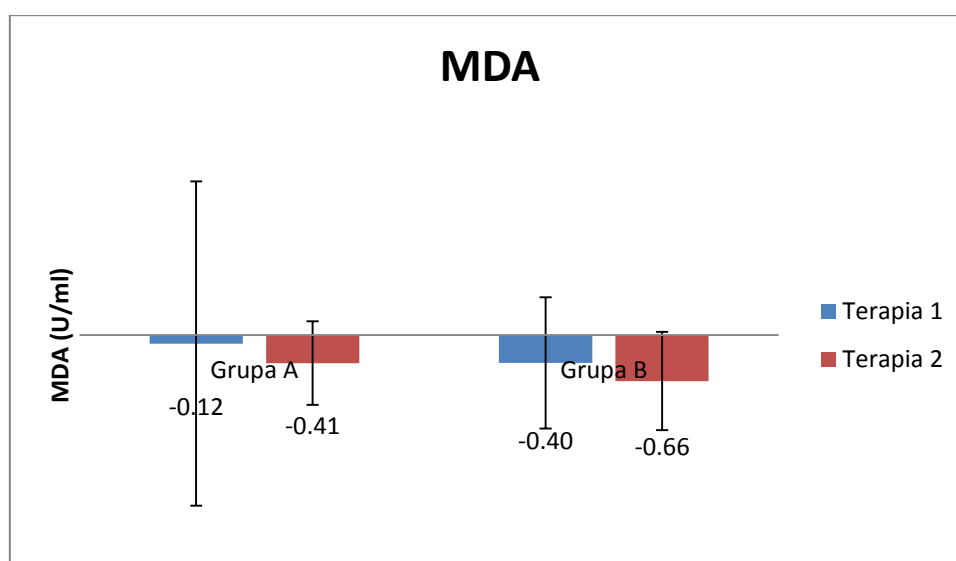
Rysunek 17 Średnia zmiana wartości CAT razem z odchyleniem standardowym w grupie A i B zależnie od zastosowanej terapii.

Średnia zmiana wartości katalazy CAT u pacjentów z zaburzeniami erekcji bez chorób współistniejących wynosiła 80,2 U/gHb w grupie pacjentów leczonych IPDE-5 (Terapia 1) oraz 124,1 U/gHb wśród chorych leczonych IPDE-5 oraz antyoksydantami (Terapia 2). Wśród pacjentów z zaburzeniami erekcji i chorobami współistniejącymi zmiana po terapii 1 wynosiła 32,5 U/gHb natomiast po terapii 2 – 94,1 U/gHb. Różnica zmian wartości pomiędzy grupami nie znalazła potwierdzenia statystycznego.



Rysunek 18 Średnia zmiana wartości GPX razem z odchyleniem standardowym w grupie A i B zależnie od zastosowanej terapii.

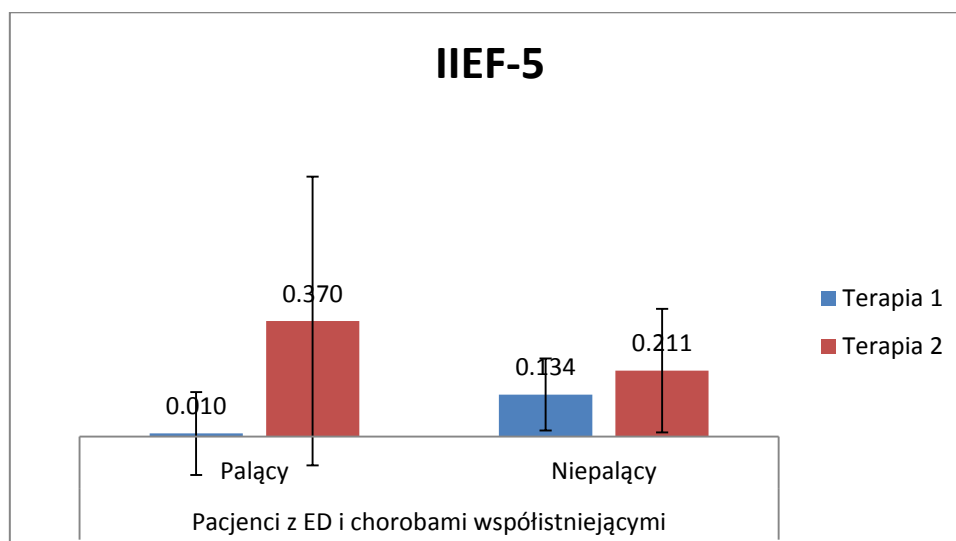
Średnie obniżenie wartości peroksydazy glutationowej (GPX) u pacjentów z zaburzeniami erekcji bez chorób współistniejących wynosiło 1,67 mU/ml w grupie pacjentów leczonych IPDE-5 (Terapia 1) oraz 8,38 mU/ml wśród chorych leczonych IPDE-5 oraz antyoksydantami (Terapia 2). W grupie chorych z zaburzeniami erekcji i towarzyszącymi chorobami cywilizacyjnymi (Grupa B) stwierdzono odwrotny rozkład zmian aktywności GPX – dla terapii 1 obniżenie było większe i wyniosło 11,23 mU/ml, dla terapii 2 mniejsze i wynosiło 0,25 mU/ml. Różnica wyników pomiędzy grupami nie znalazła potwierdzenia statystycznego.



Rysunek 19 Średnia zmiana wartości CAT razem z odchyleniem standardowym w grupie A i B zależnie od zastosowanej terapii.

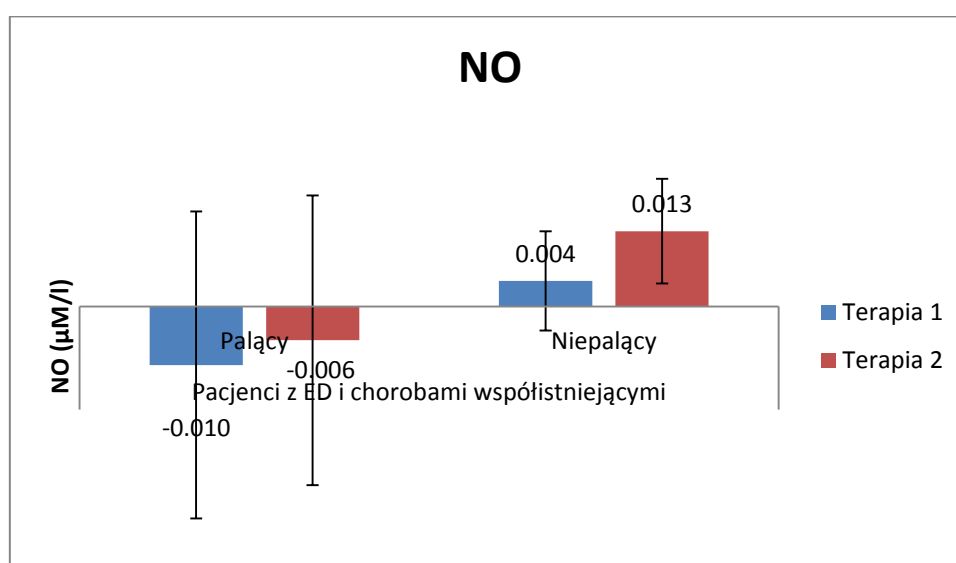
We wszystkich badanych podgrupach zanotowano obniżenie średniej aktywności malonyldialdehydu (MDA). U pacjentów z zaburzeniami erekcji bez chorób współistniejących (Grupa A) wynosiło ono 0,12 U/ml w grupie pacjentów leczonych IPDE-5 (Terapia 1) oraz 0,41 U/ml wśród chorych leczonych IPDE-5 oraz antyoksydantami (Terapia 2). Wśród pacjentów z zaburzeniami erekcji i chorobami współistniejącymi zmiana po terapii 1 wynosiła 0,40 U/ml, natomiast po terapii 2 – 0,66 U/ml. Różnice nie znalazły potwierdzenia statystycznego.

Zmiany badanych parametrów u pacjentów palących w zależności od zastosowanej terapii lekowej



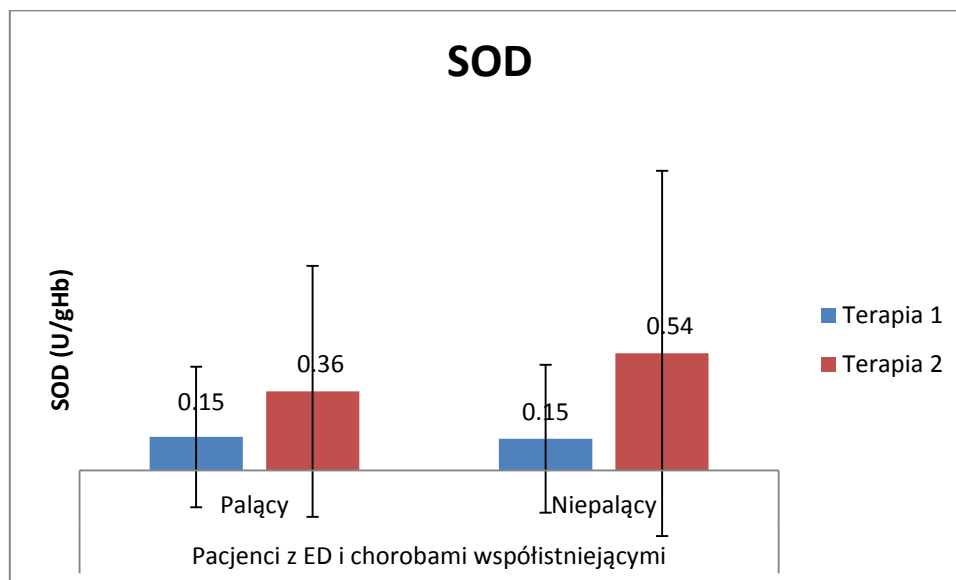
Rysunek 20 Średnia zmiana wartości IIEF-5 razem z odchyleniem standardowym w grupach pacjentów z zaburzeniami erekcji i chorobami towarzyszącymi w zależności od palenia papierosów i stosowanej terapii

Niezależnie od wydzielonej grupy i rodzaju stosowanego leczenia – u wszystkich pacjentów ze współistniejącymi chorobami cywilizacyjnymi stwierdzono wzrost średniej wartości IIEF-5 po 3-miesięcznej terapii. Znacznie większe przyrosty średniego współczynnika IIEF-5 odnotowano jednak u chorych leczonych terapią 2 (sildenafil + antyoksydanty), szczególnie wśród pacjentów palących papierosy. Różnice pomiędzy grupami nie znalazły potwierdzenia statystycznego.



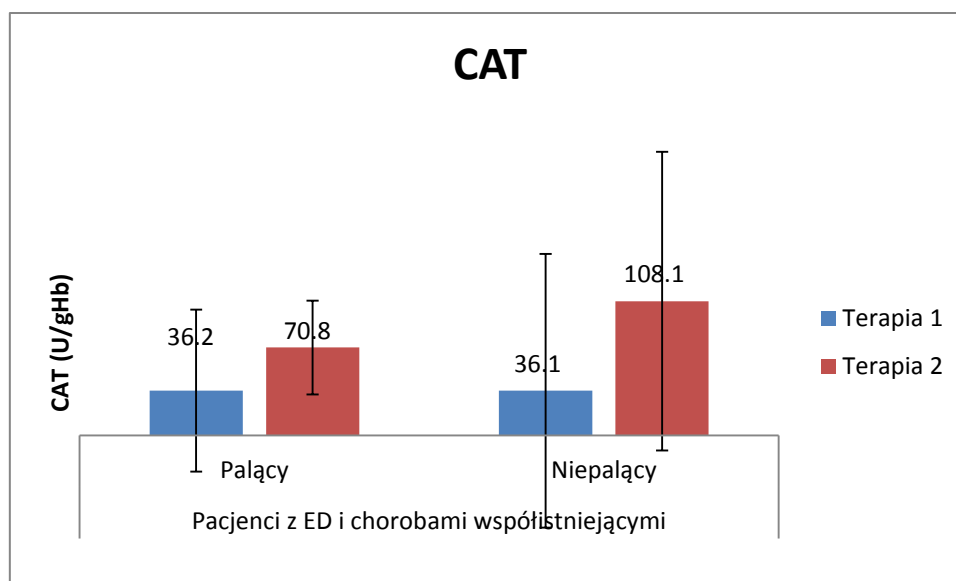
Rysunek 21 Średnia zmiana wartości NO razem z odchyleniem standardowym w grupach pacjentów z zaburzeniami erekcji i chorobami towarzyszącymi w zależności od palenia papierosów i stosowanej terapii

Wśród chorych palących z dodatkowymi chorobami cywilizacyjnymi stwierdzono obniżenie średniego stężenia tlenu azotu zarówno w przypadku stosowania terapii 1 jak i terapii 2. Natomiast wśród chorych niepalących z dodatkowymi chorobami cywilizacyjnymi, zarówno w przypadku stosowania terapii 1 jak i terapii 2 odnotowano wzrost stężenia aktywności tlenu azotu. Różnica stężeń pomiędzy wyodrębnionymi grupami pacjentów, choć wysoka, nie okazała się istotna statystycznie.



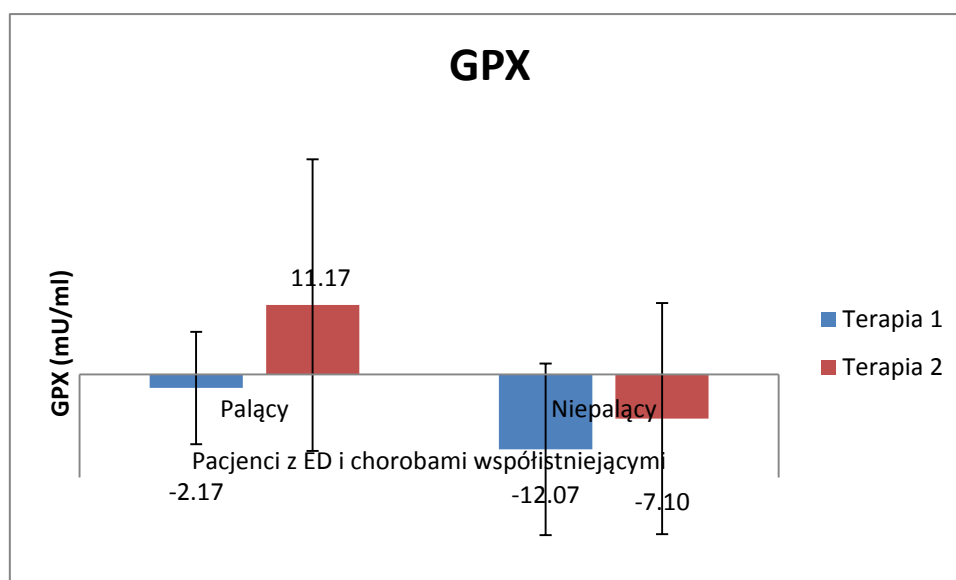
Rysunek 22 Średnia zmiana wartości SOD razem z odchyleniem standardowym w grupach pacjentów z zaburzeni erekcji i chorobami towarzyszącymi w zależności od palenia papierosów i stosowanej terapii

Pacjenci poddani terapii 2 w stosunku do chorych poddanych terapią 1 wykazywali większe zmiany średniej aktywności enzymu SOD – niezależnie od tego czy byli to chorzy palący czy niepalący. Pomimo widocznych różnic istotność statystyczna pomiędzy grupami nie została stwierdzona.



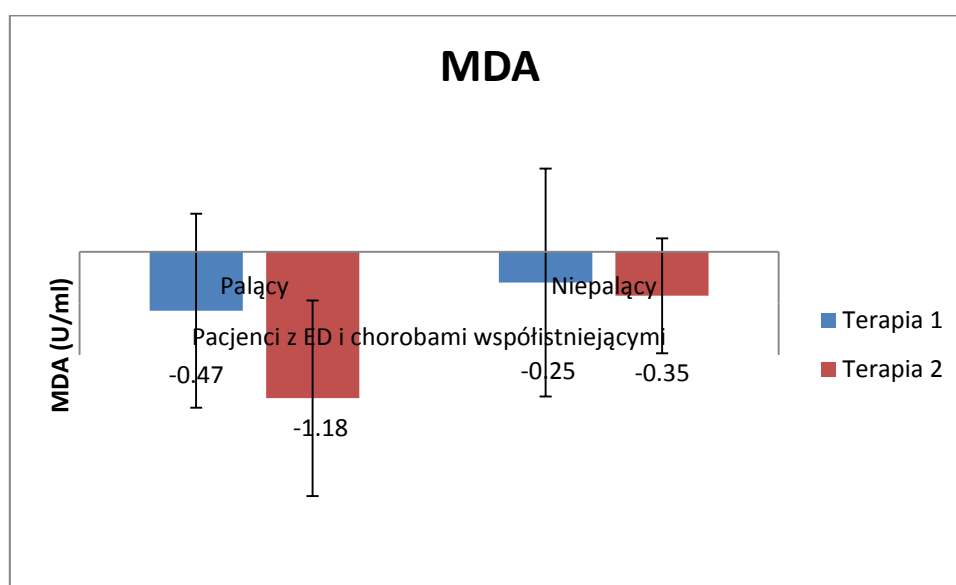
Rysunek 23 Średnia zmiana wartości CAT razem z odchyleniem standardowym w grupach pacjentów z zaburzeni erekcji i chorobami towarzyszącymi w zależności od palenia papierosów i stosowanej terapii

Po 3 miesięcznym leczeniu terapią 1 i terapią 2 zaobserwowano wzrost średniej aktywności katalazy we wszystkich badanych grupach pacjentów. Rysunek 23 pokazuje, że największe zmiany aktywności tego enzymu stwierdzone zostały wśród pacjentów poddanych terapii 2, zarówno u palaczy jak i niepalących. Różnice pomiędzy grupami, pomimo dwu – i trzykrotnie wyższych wartości średniej aktywności enzymu po leczeniu terapią 2 nie potwierdziły się jako statystycznie istotne.



Rysunek 24 Średnia zmiana wartości GPX razem z odchyleniem standardowym w grupach pacjentów z zaburzeni erekcji i chorobami towarzyszącymi w zależności od palenia papierosów i stosowanej terapii

Aktywność peroksydazy glutationowej po 3 miesięcznej terapii spadła we wszystkich grupach pacjentów z zaburzeniami erekcji oprócz grupy palaczy tytoniu ze współistniejącymi chorobami cywilizacyjnymi leczonych terapią 2, u których średni wzrost wyniósł 11,17 mU/ml. Zmiany stężenia aktywności GPX po leczeniu były istotne statystycznie wyłącznie pomiędzy grupami palących leczonych terapią 2 a niepalących leczonych terapią 1. Test Scheffe nie potwierdził różnicy istotnej statystycznie przy porównaniu pozostałych grup pacjentów.



Rysunek 25 Średnia zmiana wartości MDA razem z odchyleniem standardowym w grupach pacjentów z zaburzeniami erekcji i chorobami towarzyszącymi w zależności od palenia tytoniu i stosowanej terapii

Wśród grup badanych palaczy i pacjentów niepalących z dodatkowymi chorobami cywilizacyjnymi stwierdzono obniżenie średniego stężenia malonyldialdehydu niezależnie od rodzaju stosowanej terapii (1 vs 2). Największy, ponad dwukrotny spadek poziomu MDA zanotowano u chorych palących papierosy, którzy otrzymali terapię 2. Różnica stężeń pomiędzy wyodrębnionymi grupami pacjentów nie przeszła jednak próby istotności statystycznej.

Dyskusja i omówienie wyników

Strukturalne i czynnościowe zmiany w obrębie naczyń krwionośnych stanowią jedną z ważniejszych przyczyn zaburzeń erekcji u chorych na cukrzycę, nadciśnienie tętnicze, arteriosklerozę, jak również u osób w podeszłym wieku oraz osób palących papierosy [70]. Obecnie sugeruje się, że z uwagi na fakt, iż prącie jest organem bogato unaczynionym, a erekcja procesem naczyniozależnym, zaburzenia erekcji mogą być wczesnym objawem chorób układu krążenia [71]. Przypuszcza się, że czynnikami odpowiedzialnymi za powstawanie dysfunkcji naczyniowych, a tym samym zwiększającymi ryzyko wystąpienia ED, są stres oksydacyjny i uszkodzenie śródbłonna naczyń. Skutkuje to zaburzeniem równowagi pomiędzy uwalnianymi przez śródbłonek substancjami rozszerzającymi i kurczącymi naczynia oraz uruchomieniem prozapalnej i prozakrzepowej odpowiedzi organizmu [72]. Ograniczenie dostępności biologicznej tlenu azotu i prostacykliny, które w warunkach fizjologicznych powodują rozkurcz komórek mięśni gładkich i hamują ich proliferację, a także wykazują działanie przeciwzakrzepowe, może prowadzić do wzrostu napięcia i przebudowy ściany naczynia krwionośnego, nasilenia adhezji i agregacji płytek krwi, a w efekcie do zmniejszenia przepływu krwi przez naczynia.

Dlatego też, w pracy poddano analizie zmiany poziomu tlenu azotu, enzymów antyoksydacyjnych (CAT, SOD, GPX), MDA oraz wpływ palenia papierosów, u chorych z zaburzeniami erekcji. Parametry te zostaną omówione poniżej.

Tlenek azotu

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że trzymiesięczna terapia sildenafilem spowodowała wzrost poziomu tlenu azotu we krwi pacjentów z zaburzeniami erekcji bez chorób towarzyszących oraz w grupie pacjentów niepalących w stosunku do wartości określonych przed leczeniem. Jednocześnie stwierdzono obniżenie poziomu NO u osób z zaburzeniami erekcji i chorobami towarzyszącymi oraz u pacjentów palących papierosy.

Aby wyjaśnić stwierdzone obniżenie poziomu tlenu azotu należy odnieść się do procesu powstawania NO i (O_2^-) w organizmie.

Tlenek azotu jest transmitterem wytwarzanym z L-argininy przy udziale trzech, kodowanych przez odrębne geny, izoform syntazy tlenu azotu (*nitric oxide synthase*, NOS) [73] [42]: neuronalnej (nNOS), śródbłonkowej (eNOS) oraz indukowanej (iNOS). Za podstawowe źródło tlenu azotu w naczyniach uznaje się izoformę śródbłonkową. Funkcja indukowanej postaci syntazy tlenu azotu związana jest z odpowiedzią immunologiczną organizmu. W aktywacji tej formy enzymu uczestniczą głównie prozapalne mediatory i lipopolisacharydy bakteryjne [74] [75].

W warunkach fizjologicznych biodostępność tlenu azotu jest wypadkową procesu jego syntezy oraz unieczynniania przez powstający w organizmie anionorodnik nadadtlenkowy. Wielkość śródbłonkowej produkcji NO przy udziale eNOS zależy od laminarnego przepływu krwi w naczyniach i siły ścinającej [76] [77], od działania substancji czynnych (amin katecholowych, acetylocholino, bradykininy, substancji P i in.), a także od podaży substratów i kofaktorów niezbędnych w procesie syntezy NO. Reakcja tlenu azotu z anionorodnikiem nadadtlenkowym prowadzi do utworzenia nadadtlenoazotynu ($ONOO^-$) i w efekcie do ograniczenia dostępności biologicznej transmittera. Reaktywne formy tlenu (RFT) nie tylko inaktywują w ten sposób cząsteczkę NO, ale również zmniejszają produkcję NO przez eNOS działając uszkodzająco na komórki śródbłonka.

Dane z piśmiennictwa sugerują, że głównymi źródłami anionorodnika nadadtlenkowego (O_2^-) w układzie krążenia są reakcje katalizowane przez naczyniową oksydazę NADPH (NOX), oksydazę ksantynową (XO) oraz śródbłonkową syntazę tlenu azotu, przy czym najistotniejszą rolę przypisuje się oksydazie NADPH [78] [79] [80] [81]. Coraz więcej doniesień wskazuje, że dysfunkcja śródbłonka naczyniowego, która występuje u pacjentów z cukrzycą, hipercholesterolemią, nadciśnieniem tętniczym, miażdżycą, czy niewydolnością serca, ale również u osób palących papierosy jest spowodowana nadprodukcją anionorodnika nadadtlenkowego przez naczyniową NOX. W badaniach doświadczalnych na zwierzętach stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy zwiększoną

aktywnością oksydazy NADPH w prąciu, a poziomem RFT oraz występowaniem zaburzeń erekcji [82] [83] [84] [85]. Sildenafil hamuje ekspresję oksydazy NADPH [86] [87] [88], a także zmniejsza aktywność oksydazy ksantynowej [89] [90], co może prowadzić do ograniczenia wytwarzania reaktywnych form tlenu i zahamowania procesu inaktywacji tlenku azotu. Sildenafil wykazuje również działanie przeciwzapalne. Bowiem inaktywacja NO i zwiększona naczyniowa produkcja RFT mogą prowadzić, poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, do rozwoju prozapalnego fenotypu śródbłónka. Występuje wówczas nasilona ekspresja cząstek adhezyjnych: międzykomórkowych (*intercellular cell adhesion molecule 1*, ICAM-1) i naczyniowych (*vascular cell adhesion molecule 1*, VCAM-1), oraz selektyn E i P, na powierzchni śródbłónka. Zwiększa się uwalnianie interleukin (IL-1, IL-6) oraz cytokin [91] [92] [93]. Wiele doniesień z piśmiennictwa wskazuje na stan zapalny jako patofizjologiczny mechanizm łączący zaburzenia erekcji, zespół metaboliczny oraz chorobę niedokrwienną serca [94] [95] [96] [97]. Sugeruje się, że zaburzenia erekcji są bezpośrednio związane z rozwojem ogólnoustrojowego i lokalnego, subklinicznego odczynu zapalnego oraz zwiększeniem stężenia wskaźników i mediatorów zapalenia. Stwierdzono również, że u mężczyzn z ED, u których nie obserwowano występowania czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych oraz patologicznych zmian w obrębie naczyń krwionośnych stężenie ICAM-1 oraz VCAM-1 było podwyższone [98]. Należy także zauważyć, że jeden z głównych mediatorów zapalenia - TNF- α może aktywować oksydazę NADPH zmniejszając w ten sposób ekspresję enzymu eNOS w ciałach jamistych.

Z przedstawionych powyżej rozważań wynika, że dysfunkcja śródbłónka naczyń spowodowana rozwojem stanu zapalnego może być czynnikiem ograniczającym syntezę i nasilającym degradację tlenku azotu [99] [100] [101]. Stwierdzono, że w warunkach in vitro sildenafil, zmniejsza ekspresję białka i/lub mRNA dla mediatorów zapalenia interleukiny 1 oraz TNF- α , a także inaktywuje jądrowy czynnik transkrypcyjny- κ B (NF- κ B) [102]. Morano i wsp. wykazali, że u pacjentów z zaburzeniami erekcji i chorych na cukrzycę typu 2, zarówno trzymiesięczna terapia sildenafilem w dawce 50 mg/dobę, dwa razy w tygodniu, jak również addycyjna terapia sildenafilem i związkiem o właściwościach antyoksydacyjnych obniżyły poziom markerów uszkodzenia śródbłónka: ICAM-1

i selektyny P we krwi pacjentów. Większą skutecznością w odniesieniu do poprawy czynności śródbłónka cechowała się terapia addycyjna [103]. Sugeruje się, że inhibitory PDE-5 zwiększają ilość śródbłonkowych komórek progenitorowych zarówno u młodych, zdrowych mężczyzn [104], jak również u pacjentów z zaburzeniami erekcji [105] [106]. Może to świadczyć o pozytywnym wpływie tej grupy leków na regenerację i poprawę funkcji śródbłónka naczyniowego.

Pomimo wykazanego w piśmiennictwie pozytywnego wpływu sildenafilu na normalizację czynności śródbłónka, w prezentowanej pracy, w grupie mężczyzn z zaburzeniami erekcji i chorobami towarzyszącymi oraz w grupie palących papierosy stwierdzono obniżenie poziomu NO. Może być to związane z większym natężeniem stresu oksydacyjnego oraz stanu zapalnego u tych chorych [107] [108] [109] [110]. Trzeba pamiętać też, że dodatkowymi czynnikami uszkadzającymi śródbłonek u pacjentów z hipercholesterolemią i cukrzycą są utlenione cząsteczki LDL oraz produkty końcowe zaawansowanej glikozylacji, które hamują aktywację enzymu eNOS [111] [112] [113].

Analizując wyniki poziomu NO w prezentowanej pracy można przypuszczać, że u pacjentów z ED obciążonych dodatkowo chorobami towarzyszącymi, niekorzystne działanie czynników inaktywujących eNOS przeważa nad protekcyjnym wpływem sildenafilu. Innym wytłumaczeniem może być teoria, że wzrost poziomu enzymów antyoksydacyjnych obniża poziom iNOS [114], czyli obniża stężenie NO, którego produkcja może być indukowana przez makrofagi jako odpowiedź na stan zapalny.

Przyczyną obniżenia poziomu tlenu azotu w badanych grupach pacjentów może być również zwiększona aktywność arginazy i/lub niedobór L-argininy. Jak wspomniano L-arginina jest substratem dla eNOS w śródbłonkowej syntezie tlenu azotu. Należy jednak zaznaczyć, że aminokwas ten jest również substratem dla arginazy, enzymu, przekształcającego L-argininę do L-ornityny, w cyklu moczniowym. Arginaza konkuruje zatem z syntazą tlenu azotu o substrat. Oznacza to, że produkcja NO jest wypadkową ekspresji i aktywności obu tych enzymów [115] [116]. Badania przeprowadzone przez Bivalacqua i wsp. wykazały obecność arginazy w komórkach endotelialnych pozyskanych z ciał jamistych myszy, jak również prącia człowieka [117] [118]. Dane z piśmiennictwa

wskazują, że podwyższona aktywność arginazy i obniżony poziom L-argininy są cechami charakterystycznymi dla wielu chorób, którym towarzyszy dysfunkcja śródbłónka i które mogą stanowić przyczynę zaburzeń erekcji o podłożu naczyniowym. Wyższą aktywność tego enzymu i niskie stężenie argininy stwierdzono w nadciśnieniu tętniczym [119] [120], miażdżycy [121], oraz cukrzycy [122].

Inną jeszcze przyczyną ograniczenia produkcji tlenu azotu w analizowanych grupach może być hamowanie aktywności endotelialnej syntazy tlenu azotu przez niesymetryczną dimetyloargininę (*asymmetric dimethyloarginine*, ADMA). ADMA jest kompetycyjnym, endogennym inhibitorem eNOS, analogiem L-argininy. Wykazuje zdolność do rozprężania syntazy NO, czego efektem jest zmniejszenie wytwarzania tlenu azotu i wzrost stężenia anionorodnika ponadtlenkowego. Stwierdzono, że stężenie ADMA dodatnio koreluje z poziomem cholesterolu, wiekiem, paleniem papierosów, a także upośledzoną tolerancją glukozy [123] [124] [125] [126]. Podwyższone stężenie ADMA we krwi jest często powiązane z dysfunkcją śródbłónka i progresją nadciśnienia tętniczego oraz cukrzycy, a także hipercholesterolemią [120] [127] [128] [129]. Wyższy poziom niesymetrycznej dimetyloargininy zaobserwowano również u mężczyzn z zaburzeniami erekcji, przy czym u pacjentów z ED o podłożu naczyniowym wzrost stężenia ADMA był większy niż u chorych o innej niż naczyniowa etiopatogenezie zaburzeń [130]. Wierzbicki i wsp. analizując zależność pomiędzy występowaniem czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych oraz stężeniem ADMA i selektyny E u pacjentów z ED stwierdzili istnienie wyraźnej korelacji poziomu tych osoczowych wskaźników z nadciśnieniem tętniczym, paleniem papierosów oraz stężeniem lipoprotein. Jednocześnie wykazali, że 70-cio dniowa terapia sildenafilem nie spowodowała zmiany poziomu ADMA i selektyny E w badanej grupie mężczyzn [131].

Kolejną przyczyną obniżenia poziomu tlenu azotu może być działanie układu renina-angiotensyna (rennin-angiotensin system, RAS), który odgrywa istotną rolę w patomechanizmie zaburzeń erekcji. Charakterystyka receptorów angiotensynowych zlokalizowanych w naczyniach prącia wskazuje, że komórki śródbłónka ciał jamistych mogą posiadać lokalny, niezależny od ogólnoustrojowego, system wydzielniczy produkujący angiotensynę II (lokalny RAS) [132] [133]. Wykazano, że poziom

Angiotensyny II u mężczyzn z zaburzeniami erekcji o podłożu organicznym jest podwyższony [134]. Angiotensyna II za pośrednictwem receptora AT₁ aktywuje oksydazę NADPH, a w efekcie zwiększa naczyniową produkcję anionorodnika ponadtlenkowego i nasila proces inaktywacji tlenu azotu [135]. Ekspresję receptorów AT₁ mogą również zwiększać podwyższone poziomy LDL, interleukina 6, a także hiperglikemia. Czynniki te nasilają wytwarzanie O₂⁻ i ograniczają biodostępność NO [136] [137] [138].

Pomimo stwierdzonego w przeprowadzonych badaniach obniżenia poziomu tlenu azotu po terapii sildenafilem, w grupach pacjentów z chorobami towarzyszącymi oraz u pacjentów palących papierosy zaobserwowano, że ocena jakości życia płciowego wyrażona za pomocą kwestionariusza IIEF-5 uległa u tych chorych podwyższeniu. Może to wskazywać na dodatkowy, nie związany z układem NO/sGC/cGMP mechanizm terapeutycznego działania sildenafilu w zaburzeniach erekcji. Przykładem takiego mechanizmu jest wpływ sildenafilu na układ RhoA/ROCK.

W procesie skurczu mięśni gładkich, zarówno naczyń jak i tkanki jamistej prącia, uczestniczy białko RhoA oraz będąca efektem dla tego białka kinaza Rho-zależna (ROCK). Układ RhoA/ROCK bezpośrednio i pośrednio stymuluje powstawanie aktywnego kompleksu aktyna-miozyna i inicjuje skurcz komórek mięśni gładkich [139] [140]. Wskazuje się, że aktywność układu RhoA/ROCK, odgrywającego istotną rolę w utrzymaniu prącia w stanie nieerekcyjnym, jest zwiększona u pacjentów z ED [140] [141]. Doniesienia z piśmiennictwa sugerują, że sildenafil może inaktywować kinazę Rho, jednak mechanizm tego procesu nie został do końca wyjaśniony. Chau i wsp., analizując wyniki badań przeprowadzonych na szczurach, stwierdzili, że sildenafil zwiększa aktywność kinazy białkowej G (*protein kinase G*, PKG), która wykazuje działanie hamujące w stosunku do ROCK [142]. Guilluy i wsp. natomiast udowodnili, że działanie sildenafilu ogranicza zdolność białka RhoA do aktywacji kinazy Rho i prowadzi do zmniejszenia kurczliwości mięśni gładkich [143].

Efektom zwiększenia aktywności PKG pod wpływem sildenafilu może być również indukcja syntezy siarkowodoru (H₂S). Związek ten, podobnie jak tlenek azotu działa rozkurczająco na komórki mięśni gładkich ciał jamistych, a jego podstawowy mechanizm

działania jest inny niż NO [144] [145] [146]. Prowadzone badania wskazują na produkcję H₂S w ciałach jamistych prącia [147] [148] [149].

Poprawa wskaźnika IIEF-5 w analizowanych grupach pacjentów może być również związana z wpływem sildenafilu na poziom endoteliny 1 (ET-1) – jednego ze śródbłonkowych czynników wazokonstrykcyjnych. Wykazano, że u pacjentów z cukrzycą, nadciśnieniem tętniczym, hipercholesterolemią oraz u osób palących papierosy poziom ET-1 jest podwyższony [150] [151] [152] [153]. Endotelina 1 aktywuje dwa szlaki sygnałowe m. in. szlak RhoA/ROCK, wywołując skurcz komórek mięśni gładkich prącia [154] [155]. Aversa i wsp. stwierdzili, że przewlekła terapia sildenafiliem poprawia funkcję śródbłonka i powoduje obniżenie poziomu ET-1 u pacjentów z cukrzycą typu II [156].

Mimo prób wytłumaczenia zaobserwowanej w naszych badaniach poprawy erekcji pacjentów, u których, po leczeniu stwierdzono obniżenie poziomu NO, zjawisko to jest zastanawiające i wydaje się niezgodne z przewidywaniami. Jednak w 2013 roku Muniz i wsp. opublikowali pracę, w której uzyskali podobne wyniki. Stwierdzili, że zmniejszony poziom tlenu azotu we krwi jest związany z lepszą odpowiedzią na leczenie sildenafiliem, pacjentów z zaburzeniami erekcji [69].

Należy również zaznaczyć, że istnieją w piśmiennictwie doniesienia sugerujące, że oznaczanie stężenia metabolitów tlenu azotu we krwi obwodowej, a nawet we krwi pobranej z ciał jamistych prącia nie powinno być wyznacznikiem oceny erekcji z uwagi na fakt, że źródłem azotanów i azotynów w surowicy krwi może być wiele reakcji zachodzących w organizmie [157]. W związku z tym pomiar tego typu należy traktować jako informację o poziomie NO, a nie o jego dostępności biologicznej.

W przeprowadzonych przez nas badaniach, równoczesne podawanie sildenafilu i antyoksydantów skutkowało wzrostem poziomu tlenu azotu we wszystkich badanych grupach pacjentów, z wyjątkiem grupy mężczyzn z zaburzeniami erekcji bez chorób towarzyszących. Fakt ten można wiązać z ograniczeniem rozwoju stresu oksydacyjnego i normalizacją czynności śródbłonka naczyniowego przez zastosowane w leczeniu antyoksydanty. Wykazano, że witaminy C i E regulują aktywność śródbłonkowej syntazy tlenu azotu oraz oksydazy NADPH [158]. Witamina C jest związkiem chroniącym eNOS

przed destrukcją i co za tym idzie zwiększającym endotelialną syntezę NO [159] [160]. Stwierdzono także, że witamina E poprawia indukowaną przez NO relaksację mięśni gładkich naczyń krwionośnych, utrzymuje morfologiczną integralność błon komórkowych i stabilizuje białka [161] [162]. Badania immunohistochemiczne przeprowadzone na zwierzętach z cukrzycą wykazały zwiększenie poziomu nNOS, poprawę integralności komórek śródbłonna naczyń oraz wzrost ilości α -aktyny w komórkach mięśni gładkich tkanki jamistej prącia w odpowiedzi na terapię witaminą E, a także terapię kombinowaną witaminą E i sildenafilem [63].

Zarówno witamina C jak i E ograniczają proces proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, nasilają proces reendotelizacji i zapobiegają destrukcji śródbłonna przez utlenione cząsteczki LDL [163]. Należy przy tym zaznaczyć, że witamina E jest także związkiem zapobiegającym utlenianiu cholesterolu frakcji LDL i powstawaniu oksy-LDL [164]. Zastosowanym przez nas witaminom C i E przypisuje się również właściwości przeciwzapalne [165] [166] [167] [168]. Istnieją w piśmiennictwie doniesienia o związku pomiędzy suplementacją witaminą E i aktywnością arginazy. Dowiedziono na modelu zwierzęcym, że podanie witaminy E zmniejsza aktywność arginazy w stosunku do grupy zwierząt bez suplementacji [169]. Ponadto stwierdzono, że kombinowana suplementacja witaminą E i C u zwierząt z cukrzycą spowodowała przywrócenie aktywności arginazy do poziomu obserwowanego u zwierząt kontrolnych [170]. Wskazuje się również, że witamina E obniża poziom ADMA u szczurów z dysfunkcją śródbłonna indukowaną dożylną iniekcją LDL [171]. W badaniach prowadzonych wśród ludzi stwierdzono, że witamina C działa normalizująco na stężenie ET-1, u osób palących papierosy [172]. Kondoh i wsp. wykazali także, że w przypadkach zaburzeń erekcji opornych na terapię inhibitorami fosfodiesterazy 5, równoczesne zastosowanie α - tokoferolu spowodowało poprawę wartości wskaźnika IIEF u badanych pacjentów [173].

W prezentowanej pracy, w grupie pacjentów z zaburzeniami erekcji, nie obciążonych dodatkowymi chorobami, nie stwierdzono normalizującego oddziaływania antyoksydantów na stężenie tlenu azotu. Podobnie Meagher i wsp., stosując suplementację witaminą E, nie zaobserwowali jej wpływu na poziom wykładników stresu

oksydacyjnego u osób zdrowych [174]. Można w związku z tym przypuszczać, że pacjenci poddani działaniu stresu oksydacyjnego o dużym natężeniu odnoszą większe korzyści ze stosowania antyoksydantów.

Poziom enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPX) oraz MDA

Dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza i peroksydaza glutationowa są najlepiej zbadanymi i stąd najczęściej oznaczanymi enzymami do badania obrony antyoksydacyjnej organizmu. Dialdehyd malonowy powstający w wyniku peroksydacji lipidów na skutek działania wolnych rodników tlenowych pokazuje poziom uszkodzenia komórek. Oznaczenie poziomów SOD, CAT, GPX oraz MDA może więc odzwierciedlać stan oksydacyjny organizmu.

W dotychczas publikowanych wynikach badań, zarówno na modelu zwierzęcym jak i w badaniach przeprowadzonych wśród ludzi, zmniejszenie stresu oksydacyjnego opisuje się jako wzrost aktywności SOD i CAT oraz spadek poziomu MDA [175] [176] [177]. Natomiast zmniejszoną obronę przed stresem oksydacyjnym charakteryzuje obniżony poziom SOD, CAT i podwyższona wartość MDA w surowicy krwi [178] [179]. Podwyższony poziom GPX może być odpowiedzią na duży stres oksydacyjny [180].

W prezentowanej pracy, poprzez oznaczenie parametrów opisujących równowagę redoks (SOD, CAT, GPX, MDA), wykazano zmniejszenie nasilenia stresu oksydacyjnego i peroksydacji lipidów po terapii sildenafilem i antyoksydantami w grupie chorych na zaburzenia erekcji z towarzyszącymi chorobami cywilizacyjnymi w stosunku do grupy chorych z ED, bez towarzyszących chorób. Wyniki te są zgodne z dotychczas prowadzonymi badaniami na modelach zwierzęcych. De Young i wsp., opublikowali pierwsze badanie z zastosowaniem terapii sildenafilem, w połączeniu z witaminą E. Praca przeprowadzona na szczurach wykazała, że zastosowanie antyoksydantów w połączeniu z IPDE-5 może przynieść poprawę erekcji u diabetyków z ED [63].

Perk i wsp. przeprowadzili badanie, w którym porównano wykładniki stresu oksydacyjnego w dwóch grupach zdrowych mężczyzn. Jedna grupa zażywała sildenafil,

druga stanowiła grupę kontrolną. Oceniono poziom SOD, CAT, GPX oraz MDA. Autorzy wykazali wzrost stężenia SOD i CAT oraz obniżenie poziomu MDA we krwi pacjentów leczonych sildenafilem co wyraźnie pokazuje potencjał antyoksydacyjny IPDE-5. W badaniu tym zaobserwowano spadek poziomu GPX [177], co znalazło również potwierdzenie w niniejszej pracy. Stwierdzono, że poziom SOD i CAT obniżał się lub nie ulegał zmianie do dwóch godzin, od podania sildenafilu, podczas gdy po 6 i 24 godzinach notowano znamieny wzrost poziomu SOD i CAT, w erytrocytach badanych pacjentów [177].

W niniejszej pracy nie wykazano istotności statystycznej w przeprowadzonych analizach poziomu wybranych enzymów antyoksydacyjnych i MDA, ale wyraźnie zarysowane trendy poprawy parametrów stresu oksydacyjnego. Nierówne ilościowo grupy chorych oraz w niektórych przypadkach mała liczebność grup mogą być przyczyną braku istotności statystycznej uzyskanych wyników oraz nie uzyskania oczekiwanych wyników we wszystkich badanych parametrach. Jak donoszą Kawakami i wsp., którzy stosowali analog SOD w terapii ED u diabetyków - uzyskano poprawę stężenia SOD i CAT lecz stężenie tych enzymów było mniejsze niż w grupie kontrolnej. Autorzy nie obserwowali różnic w poziomie GPX pomiędzy grupą kontrolną, a grupą chorych na cukrzycę [181] [182]. Te badania pokazują, że nawet stosowanie analogów „wymiataczy” wolnych rodników tlenowych nie doprowadza do wyrównania wykładników stresu oksydacyjnego. Odpowiedź na pytanie dlaczego tak się dzieje wymaga osobnych badań.

W prezentowanych tutaj wynikach badań stwierdzono mniejszą poprawę po stosowaniu antyoksydantów z sildenafilem w stosunku do terapii bez antyoksydantów w grupie chorych z ED bez towarzyszących chorób cywilizacyjnych, co może się wiązać z występowaniem mniejszego stresu oksydacyjnego w tej grupie. Średnia wieku chorych z ED bez chorób towarzyszących wynosiła 32 lata. Średnia wieku chorych u których stwierdzano cukrzycę, nadciśnienie tętnicze lub hipercholesterolemię wynosiła 49 lat. Massudi i współautorzy potwierdzili, że wraz z wiekiem narastają wykładniki stresu oksydacyjnego w organizmie ludzkim, co też tłumaczy różnicę w wynikach pomiędzy badanymi grupami chorych [183]. W grupie młodszych chorych z ED, bez chorób towarzyszących przyczyny ED mogą być w większym procencie psychogenne, stąd

mniejsza różnica odpowiedzi na leczenie pomiędzy terapią IPDE-5, a terapią IPDE-5 z antyoksydantami.

Jak wspomniano wcześniej inhibitory PDE-5 wykazują działanie antyoksydacyjne. Sugeruje się, że sildenafil zwiększa aktywność syntazy tlenku azotu (eNOS) [184]. Syntaza tlenku azotu przy udziale NADPH jako donora elektronów, w obecności nukleotydów flawinowych, hemu, kalmoduliny, tetrahydrobiopteriny (BH4), które pełnią funkcję kofaktorów, katalizuje utlenianie L-argininy do cytruliny i NO [185]. Wykazano, że BH4 hamuje wytwarzanie O_2^- , a jej niedobór prowadzi do wzrostu syntezy tej reaktywnej formy tlenu [186] [187]

Wykazano, że sildenafil może nasilać biosyntezę tetrahydrobiopteryny de novo [188], ponadto, jak już wspomniano, zwiększając dostępność cGMP wykazuje pośrednie działanie antyoksydacyjne poprzez hamowanie wytwarzania oksydazy NADPH [88]. Stąd jest możliwe, że poziom wykładników stresu oksydacyjnego, w grupie chorych, bez współistniejących chorób cywilizacyjnych- został zmniejszony już przez działanie sildenafilu.

W prezentowanym tutaj badaniu stwierdzono obniżony poziom peroksydazy glutationowej we wszystkich grupach badanych oprócz grupy pacjentów palących z ED i chorobami towarzyszącymi poddanych terapii 2 (wynik GPX w tej grupie omówiono w akapicie dot. omówienia wpływu palenia papierosów). Uzyskano podobne wyniki do opublikowanych przez Yun i wsp. Autorzy ci wywoływali u badanych zwierząt stres oksydacyjny. Odpowiedzią na stres był wzrost zawartości GPX w badanej tkance. Zaobserwowali oni jednak zmniejszenie poziomu GPX w grupie zwierząt poddanych stresowi z suplementacją witaminą C. Fakt ten można tłumaczyć antyoksydacyjną rolą witaminy C, która zmniejsza ilość RFT co powoduje zmniejszone wydzielanie GPX w badanej grupie [189]. Dane z piśmiennictwa wskazują, że podanie sildenafilu powoduje zmniejszenie poziomu zredukowanego glutationu (GSH) [190] [191] [192]. Wykazano, że efektem obniżenia poziomu GSH o 80-90% jest zahamowanie aktywności peroksydazy glutationowej [193]. Peroksydaza glutationowa jest enzymem zawierającym w centrum aktywnym selen w formie selenocysteiny. Sugeruje się, że zarówno tlenek azotu jak

i nadtlendioazotyn mogą utleniać selenocysteinę czego konsekwencją może być inaktywacja GPX [194].

Jak wcześniej zaznaczono sildenafil zwiększa biosyntezę BH₄, przy udziale NADPH [195]. Zużycie NADPH w tym procesie może ograniczać resyntezę zredukowanego glutationu, a w efekcie zmniejszać aktywność peroksydazy glutationowej.

Wpływ palenia papierosów w badanych grupach chorych

Palenie tytoniu jest czynnikiem zwiększającym stres oksydacyjny [196]. W niniejszej pracy stwierdzono wzrost poziomu NO w grupie chorych niepalących poddanych leczeniu zarówno terapią 1 jak i terapią 2, podczas gdy w grupach palących poziom NO obniżył się w stosunku do wartości wyjściowej. Można to interpretować tak, że obciążenie chorobami cywilizacyjnymi i nałogiem nikotynowym jest zbyt duże w stosunku do zastosowanej terapii w aspekcie zwiększenia poziomu NO w surowicy krwi.

Wpływ palenia papierosów na poziom SOD, CAT i GPX jest w literaturze przedstawiany różnie. Istnieją starsze doniesienia o podwyższeniu poziomu tych enzymów w wyniku nikotynizmu [197], jednak obecnie przeważa pogląd, że pod wpływem palenia papierosów poziom SOD i CAT maleje, a poziom GPX może wzrastać [179].

Uzyskane przez nas wyniki pokazują trend zmniejszenia stresu oksydacyjnego wśród pacjentów z chorobami cywilizacyjnymi, tak palących jak i niepalących, poddanych zarówno terapii 1 jak i 2. Największy wzrost SOD i CAT uzyskano u pacjentów niepalących, leczonych sildenafilem i antyoksydantami. Wy tłumaczeniem tego wyniku może być doniesienie Wurzel i wsp. Stwierdzili oni w swojej pracy, że oprócz nasilenia stresu oksydacyjnego palenie tytoniu powoduje obniżenie stężenia witamin C i E w badanych tkankach, a to może być przyczyną mniejszej dostępności tych antyoksydantów u palaczy [198]

Aktywność peroksydazy glutationowej po 3-miesięcznej terapii spadła we wszystkich badanych przez nas grupach pacjentów palących papierosy z zaburzeniami erekcji oprócz grupy palaczy tytoniu ze współistniejącymi chorobami cywilizacyjnymi leczonych terapią sildenafilem z witaminami C i E. Można to ponownie tłumaczyć faktem zbyt dużego obciążenia organizmu chorobami cywilizacyjnymi i nikotynizmem, w stosunku do zastosowanej terapii. Dowiedziono bowiem, że podwyższony poziom GPX jest odpowiedzią na duży stres oksydacyjny [180].

Palenie tytoniu inicjuje także proces peroksydacji tłuszczów, który jest uważany za przyczynę powstania arteriosklerozy [199], chorobę w największym stopniu zaburzającą

prawidłową erekcję. Dowiedziono, że poziom MDA u palaczy znacznie wzrasta, w stosunku do niepalących [199]. W prezentowanym przeze mnie badaniu, poziom malonyldialdehydu obniżył się po leczeniu zarówno u pacjentów palących jak i niepalących, co świadczy o tym, że zarówno terapia samym sildenafilem jak i w połączeniu z zastosowanymi antyoksydantami zmniejszyła poziom peroksydacji tłuszczów. Dowiedziono bowiem, że poprzez wzrost cGMP i hamowanie oksydazy NADPH sildenafil ogranicza peroksydację tłuszczów [177]. Wyniki naszej pracy pokazują, że największy, ponad dwukrotny spadek poziomu MDA zanotowano u chorych palących papierosy, którzy otrzymali terapię 2. Wynik ten jest zgodny z publikowanym, pozytywnym wpływem antyoksydantów na proces peroksydacji tłuszczów, u palaczy [200].

Badając skuteczność zastosowanej terapii stopniem zadowolenia z poziomu życia płciowego pacjentów niepalących i palących papierosy – największą poprawę wg kwestionariusza IIEF-5 odnotowano u chorych palących papierosy leczonych terapią 2. Może to dowodzić słuszności koncepcji dodania antyoksydantów do IPDE-5 w terapii tych chorych. Jak wiadomo w mięśniach gładkich ciał jamistych prącia po ekspozycji nikotynowej stwierdza się zwiększoną produkcję anionorodnika ponadtlenkowego, który jest hamowany przez inhibicję PDE5. Sildenafil obniża aktywność iNOS, O_2^- oraz poziom nadtlendioazotynu w prąciu zwierząt poddanych inhalacji nikotynowej. Dodatkowo sildenafil zwiększa aktywność eNOS w tkance prącia przywracając prawidłową funkcję nabłonka i poprawiając erekcję [201]. Działanie sildenafilu jest potęgowane przez antyoksydacyjne właściwości witamin C i E.

Uzyskane wyniki można uzasadnić doniesieniami naukowymi. Istnieje bowiem teoria, że palenie papierosów jest jednym z czynników powodujących postępujące zwłóknienie tkanki mięśni gładkich w ciałach jamistych prącia, co może być procesem odpowiedzialnym za występowanie naczyniopochodnego ED [202]. Tłumaczy się to tym, że pod wpływem wolnych rodników tlenowych następuje aktywacja enzymów proteolitycznych uczestniczących w degradacji kolagenu. Jednym z tych enzymów jest prolidaza. Wykazano, że aktywność prolidazy jest statystycznie znamienne związane z istnieniem i nasileniem naczyniopochodnych zaburzeń erekcji i może być traktowana

jako niezależny wskaźnik ED [203]. Wykazano, że zarówno IPDE-5 jak i kwas askorbinowy, oraz a-tokoferol, istotnie zmniejszają aktywność prolidazy [203] [204] [205].

Analizując wpływ palenia papierosów zarówno na erekcję jak i przebieg leczenia ED, wiele niejasności w uzyskanych wynikach może być związanych z bardzo złożonym wpływem nikotynizmu na komórki organizmu. W zaproponowanych podziałach badanych chorych z ED, bez lub z towarzyszącymi chorobami cywilizacyjnymi, palacze występowali w obu grupach, w różnej liczbie. Ilość spalanych papierosów i czas trwania nałogu były różne.

Ocena jakości życia płciowego pacjentów objętych badaniem

Klinicznie, w leczeniu pacjentów z zaburzeniami erekcji, najistotniejsza jest poprawa jakości życia seksualnego po zastosowanej terapii. Ocenę taką w niniejszej pracy uzyskano za pomocą kwestionariusza IIEF-5. Stwierdzono trend poprawy samooceny erekcji we wszystkich grupach chorych niezależnie od zastosowanej terapii. Trend poprawy oceny zadowolenia z życia płciowego był największy u pacjentów z ED, z towarzyszącymi chorobami cywilizacyjnymi oraz u pacjentów obciążonych tymi chorobami, palących papierosy, u których zastosowano terapię IPDE-5 z antyoksydantami. To można tłumaczyć tym, że u chorych ze zwiększonym poziomem stresu oksydacyjnego addycyjne stosowanie antyoksydantów z mającym między innymi również antyoksydacyjne działanie sildenafilem przynosi większe efekty niż leczenie samym IPDE-5.

Wpływ addycyjnego stosowania antyoksydantów w terapii zaburzeń erekcji oraz najczęściej występujących chorób cywilizacyjnych wymaga dalszych badań na dużych kohortach pacjentów. Obiecujące wyniki, które zostały osiągnięte w pracach na modelach zwierzęcych powinny stać się czynnikiem stymulującym do rozszerzenia badań wśród ludzi. Niniejsze badanie i pokazane w nim pozytywne trendy suplementacji antyoksydantami na zmniejszenie stresu oksydacyjnego pozwalają stwierdzić, że taka forma terapii może pełnić w przyszłości istotną rolę szczególnie w leczeniu pacjentów, u których zaburzenia erekcji współwystępują z chorobami cywilizacyjnymi.

Niniejsze badanie zostało zaprojektowane przed wprowadzeniem do stosowania inhibitorów PDE-5 o długim czasie półtrwania. Wiadomo, że okres półtrwania sildenafilu wynosi 4 godziny. Stąd bardzo prawdopodobne jest, że nie stwierdzono istotności statystycznej w długotrwałej poprawie erekcji, parametrach stresu oksydacyjnego, tlenku azotu i poziomie malonylodialdehydu, z powodu zbyt krótkiego czasu działania sildenafilu. Uzyskane wyniki, trendy poprawy erekcji w badanych grupach chorych pozwalają przypuszczać, że zastosowanie preparatu IPDE-5 o dłuższym czasie działania, w połączeniu z antyoksydantami, przyniesie trwalsze i istotne statystycznie efekty

leczenia pacjentów, u których zaburzeniom erekcji towarzyszą inne choroby cywilizacyjne.

Montorsi i wsp. obliczyli, że średni czas występowania ED przed wystąpieniem objawów choroby tętnic wieńcowych wynosi około 38 miesięcy [206]. Wykazanie zatem dobroczynnego wpływu IPDE-5 i antyoksydantów w leczeniu ED może opóźnić i złagodzić wystąpienie chorób serca.

Wnioski

1. Wyniki wykonanych badań pokazują tendencje poprawy subiektywnej oceny życia płciowego oraz zmniejszenia stresu oksydacyjnego i peroksydacji lipidów u chorych z zaburzeniami erekcji leczonych sildenafilem i antyoksydantami w odniesieniu do pacjentów, u których stosowano tylko sildenafil.
2. Zaobserwowano trend poprawy subiektywnej oceny życia płciowego oraz zmniejszenia stresu oksydacyjnego i peroksydacji lipidów u pacjentów z zaburzeniami erekcji i chorobami towarzyszącymi (nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą, hipercholesterolemią) leczonych sildenafilem.
3. Uzyskane wyniki sugerują, że pacjenci z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą oraz hipercholesterolemią, w mniejszym stopniu reagują na leczenie jedynie sildenafilem, w porównaniu do badanych, u których stosowano terapię skojarzoną – sildenafil z antyoksydantami.
4. W leczeniu chorych z zaburzeniami erekcji palących papierosy, u których stwierdzono choroby cywilizacyjne, stosowanie antyoksydantów wykazuje tendencje poprawy działania sildenafilu w zakresie zmniejszenia stresu oksydacyjnego i peroksydacji lipidów oraz poprawy subiektywnej oceny życia płciowego.

Piśmiennictwo

- 1 Tatarkiewicz, W. *O szczęściu*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2005.
- 2 Lizza, EF and Rosen, RC. Definition and classification of erectile dysfunction: Report of the Nomenclature Committee of the International Society of Impotence. *International Journal of Impotence Research*, 11, 3 (1999), 141-143.
- 3 Lue, TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism. In Walsh, P, Retik, AB, Vaughan, ED, and Wein, AJ, eds., *Campbell's Urology*. Elsevier Science, USA, 2002.
- 4 Garcia, EL, Irribaren, IM, and De Tejada, IS. An update on physiology of erection. In Morales, A, ed., *Erectile Dysfunction. Issues in Current Pharmacotherapy*. Martin Dunitz Ltd., Londyn (UK), 1998.
- 5 Fazio, L and Brock, G. Erectile dysfunction: management update. *Canadian Medical Association Journal*, 170, 9 (2004), 1429-1437.
- 6 Dobruch, J and Borówka, A. Fizjologia wzwodu prącia. *Przegląd Urologiczny*, 30, 2 (2005), 28-31.
- 7 ELI LILLY POLSKA. *Mały poradnik zaburzeń erekcji*. Lilly, CIA/024/11/06, 2006.
- 8 Heaton, JP and Morales, A. Endocrine causes of impotence (nondiabetes). *Urologic Clinics of North America*, 30, 1 (2003), 73-81.
- 9 Jabaloyas, JM. Hormonal etiology in erectile dysfunction. *Archivos Españoles de Urología*, 63, 8 (2010), 621-627.
- 10 Bochenek, A and Reicher, M. *Anatomia Człowieka*. PZWL, Warszawa, 1992.
- 11 Kwias, Z, Woźniak, W, Bruska, M, and Woźniak, WT. Patofizjologia erekcji i ejakulacji. In *Andrologia*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2006.
- 12 Lee, SW and Kang, TM. Effects of nitric oxide on the Ca²⁺ activated potassium channels in smooth muscle cells of the human corpus cavernosum. *Urological Research*, 29, 5 (2001), 359-365.
- 13 Burnett, AL. Nitric oxide regulation of penile erection:biology and therapeutic implications. *Journal of Andrology*, 23, 5 (2002), 20-26.
- 14 Sullivan, ME, Keoghane, SR, and Miller, MAW. Vascular risk factors and erectile dysfunction. *BJU International*, 87, 9 (2001), 838-845.
- 15 Sieradzki, J. Zaburzenia erekcji w cukrzycy. *Diabetologia Praktyczna*, 2, 2 (2001), 93-98.
- 16 Jaffe, A, Chen, Y, Kisch, ES, Fischel, B, Alon, M, and Stern, N. Erectile dysfunction in hypertensive subjects. Assessment of potential determinants. *Hypertension*, 28, 5 (1996), 859-862.
- 17 Rabijewski, M. Zaburzenia erekcji - etiologia i leczenie. *Przegląd Urologiczny*, 38, 4 (2006), 46-50.
- 18 Rouprêt, M, Seisen, T, De La Taille, A, and Desgrandchamps, F. Sexual dysfunctions linked with prostatic diseases. *Progrès en Urologie*, 22, S2 (2012), S14-20.

- 19 Levy, J. Impotence and its medical and psychosocial correlates: result of the Massachusetts Male Aging Study. *Journal of Urology*, 151, 1 (1994), 54-61.
- 20 Harte, CB and Meston, CM. Acute effects of nicotine on physiological and subjective sexual arousal in nonsmoking men: A randomized, double-blind, placebo- controlled trial. *The Journal of Sexual Medicine*, 5, 1 (2008), 110-121.
- 21 Feldman, HA, Goldstein, I, Hatzichristou, DG, Krane, RJ, and McKinlay, JB. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *The Journal of Urology*, 151, 1 (1994), 54-61.
- 22 Levy, J. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *The British Journal of Diabetes & Vascular Disease*, 278, 2 (2002), 278-280.
- 23 Johannes, CB, Araujo, AB, Feldman, HA, Derby, CA, Kleinman, KP, and McKinlay, JB. Incidence of erectile dysfunction in men ages 40–69: Longitudinal results from the Massachusetts male aging study. *The Journal of Urology*, 163, 2 (2000), 460-463.
- 24 Starowicz, L. Nie szukaj wymówek, porozmawiaj z lekarzem. (Warszawa 2010), Polskie Towarzystwo Medycyny Seksualnej.
- 25 Dadej, R. Zaburzenia erekcji - fizjologia, epidemiologia, patofizjologia, diagnostyka i leczenie. *Przewodnik Lekarza*, 4, 10 (2001), 106-111.
- 26 Eardley, I, Morgan, R, Dinsmore, W, Yates, P, and Boolell, M. Efficacy and safety of sildenafil citrate in the treatment of men with mild to moderate erectile dysfunction. *The British Journal of Psychiatry*, 178 (2001), 325-330.
- 27 Rosen, RC, Cappelleri, JC, Smith, MD, Lipsky, J, and Pena, BM. Development and evaluation of an abridged, 5-item version of the International Index of Erectile Function (IIEF-5) as a diagnostic tool for erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, 11, 6 (1999), 319-326.
- 28 Rosen, RC, Riley, A, Wagner, G, Osterloh, IH, Kirkpatrick, J, and Mishra, A. The International Index of Erectile Function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. *Urology*, 49, 6 (1997), 822-830.
- 29 Guidelines, Board EAU. *Guidelines*. EAU, Anhem, 2011.
- 30 Hackett, G, Dean, J, Kell, P, Price, D, Ralph, D, Speakman, M, and Wylie, K. *British Society for Sexual Medicine Guidelines on the Management of ED*. 2007.
- 31 Broderick, GA and Lue, TF. Evaluation and nonsurgical management of erectile dysfunction and priapism. In Walsh, P, Retik, AB, Vaughan, ED, and Wein, AJ, eds., *Campbell's Urology*. Elsevier Science, USA, 2002.
- 32 Chun, J and Carson, CC III. Physician- patient dialogue and clinical evaluation of erectile dysfunction. *Urologic Clinics of North America*, 28, 2 (2001), 249-258.
- 33 Meuleman, EJH, Bemelmans, BLH, Doesburg, WH, van Asten, WNJC, Skotnicki, SH, and Debruyne, FMJ. Penile pharmacological duplex ultrasonography: a dose-effect study comparing papaverine, papaverine/phentolamine and prostaglandin E1. *The Journal of Urology*, 148, 1 (1992), 63-66.
- 34 Linet, OI and Neff, LL. Intracavernous prostaglandin E 1 in erectile dysfunction. *Clinical Investigation*, 72, 2 (1994), 139-149.

- 35 Babaei, AR, Safarinejad, MR, and Kolahi, AA. Penile revascularization for erectile dysfunction: a systematic review and meta-analysis of effectiveness and complications. *Journal of Urology*, 6, 1 (2009).
- 36 Tkocz, M, Ziaja, D, and Nowakowski, P. Zaburzenia erekcji w zespole miednicznego podkradania. *Urologia Polska*, 58, 3 (2005).
- 37 Irvin, MB and Kata, EJ. High attrition rate with intracavernous injection of prostaglandin E1 for impotency. *Urology*, 43, 1 (1994), 84-87.
- 38 Bartosz, G. Życiodajny i zabójczy. *Wiedza i Życie*, 5 (1999).
- 39 Bartosz, G. *Druga twarz tlenu, Wolne rodniki w przyrodzie*. PWN, Warszawa, 2004.
- 40 Skalska, A. Wolne rodniki tlenowe a nadciśnienie tętnicze. *Nadciśnienie tętnicze*, 5, 2 (2001), 147-158.
- 41 Kulbacka, J, Saczko, J, and Chwiłkowska, A. Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek. *Polski Merkuriusz Lekarski*, 157, 44 (2009), 44-47.
- 42 Torregrossa, AC, Aranke, M, and Bryan, NS. Nitric oxide and geriatrics: Implications in diagnostics and treatment of the elderly. *Journal of Geriatric Cardiology*, 8, 4 (2011), 230-242.
- 43 Deruelle, F and Baron, B. Vitamin C: Is Supplementation Necessary for Optimal Health? *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 14, 10 (2008), 1291-1298.
- 44 Braakhuis, AJ. Effect of vitamin C supplements on physical performance. *Current Sports Medicine Reports*, 11, 4 (2012), 180-184.
- 45 Park, JY, Ha, SW, and King, GL. The role of protein kinase C activation in the pathogenesis of diabetic vascular complications. *Peritoneal Dialysis International*, 19, S2 (1999), S222-S227.
- 46 Price, JE and Fowkes, FG. Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease. The epidemiological evidence. *European Heart Journal*, 18, 5 (1997).
- 47 Miller, ER III, Pastor-Barriuso, R, Dalal, D, Riemersma, RA, Appel, LJ, and Guallar, E. Meta-Analysis: High-Dosage Vitamin E Supplementation May Increase All-Cause Mortality. *Annals of Internal Medicine*, 142, 1 (2005), 37-46.
- 48 Helmy, MM and Senbel, AM. Evaluation of vitamin E in the treatment of erectile dysfunction in aged rats. *Life Sciences*, 90, 13-14 (2012), 489-489.
- 49 Piwowar, A, Knapik-Kordecka, M, and Warwas, M. Stres oksydacyjny a dysfunkcja śródbłónka w cukrzycy typu 2. *Polski Merkuriusz Lekarski*, 146 (2008), 120-123.
- 50 Seals, DR, Jablonski, KR, and Donato, AJ. Aging and vascular endothelial function in humans. *Clinical Science*, 120, 9 (2011), 357-375.
- 51 Gawęł, S, Wardas, M, Niedworok, E, and Wardas, P. Dialdehyd malonowy (MDA) jako wskaźnik procesów peroksydacji lipidów w organizmie. *Wiadomości lekarskie*, 57, 9-10 (2004), 453-455.
- 52 Gutteridge, JM and Hallwell, B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends in Biochemical Sciences*, 15, 4 (1990), 129-135.
- 53 Strzyżewski, K, Pioruńska-Stolzmann, M, and Majewski, W. Ocena peroksydacji lipidów i stężenia wybranych antyoksydantów w surowicy pacjentów z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych.

Nowiny Lekarskie, 77, 1 (2008), 8-11.

- 54 Schachter, M. Erectile dysfunction and lipid disorders. *Current Medical Research and Opinion*, 16, S1 (2000), 9-12.
- 55 Berliner, JA and Heinecke, JW. The role of oxidized lipoproteins in arterogenesis. *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 5 (1996), 707-727.
- 56 Jeremy, JY, Angelini, GD, Khan, M, Mikhailidis, DP, Morgan, RJ, and Thompson, CS. Platelets, oxidant stress and erectile dysfunction: an hypothesis. *Cardiovascular Research*, 46, 1 (2000), 50-54.
- 57 Agarwal, A, Nandipati, KC, Sharma, RK, Zippe, CD, and Raina, R. Role of oxidative stress in pathophysiological mechanism of erectile dysfunction. *Journal of Andrology*, 27, 3 (2006), 335-347.
- 58 Billups, KL. Erectile dysfunction as an early sign of cardiovascular disease. *Int. J of Imp. Res* (2005).
- 59 Sasaki, K, Yoshimura, N, and Chancellor, MB. Implications of diabetes mellitus in urology. *Urologic Clinics of North America*, 30, 1 (2003), 1-12.
- 60 Naziroğlu, M, Butterworth, PJ, and Sonmez, TT. Dietary vitamin C and E modulates antioxidant levels in blood, brain, liver, muscle, and testes in diabetic aged rats. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 81, 6 (2011), 347-357.
- 61 Meldrum, DR, Gambone, JC, Morris, MA, Esposito, K, Giugliano, D, and Ignarro, LJ. Lifestyle and metabolic approaches to maximizing erectile and vascular health. *International Journal of Impotence Research*, 24, 2 (2012), 61-68.
- 62 De Tejada, S. Therapeutic strategies for optimizing PDE-5 inhibitor therapy in patients with erectile dysfunction considered difficult or challenging to treat. *International Journal of Impotence Research*, 16, S1 (2004), 40-42.
- 63 De Young, L, Yu, D, Bateman, RM, and Brock, GB. Oxidative Stress and Antioxidant Therapy: Their Impact in Diabetes-Associated Erectile Dysfunction. *Journal of Andrology*, 25, 5 (2004), 830-836.
- 64 OXISRESEARCH. *BIOXYTECH SOD-525™ Spectrophotometric Assay for Superoxide Dismutase*. Catalog Number 21010, Portland, 2001.
- 65 OXISRESEARCH. *BIOXYTECH Catalase-520™ Spectrophotometric Assay for Catalase*. Catalog Number 21042, Portland, 2001.
- 66 OXISRESEARCH. *BIOXYTECH GPx-340™ Colorimetric Assay for Cellular Glutathione Peroxidase*. Catalog Number 21017, Portland, 2001.
- 67 OXIS HEALTH PRODUCTS, INC. *BIOXYTECH® MDA-586 Assay Kit*. 21044, Portland, 2002.
- 68 OXISRESEARCH. *BIOXYTECH Nitric Oxide Assay*. Catalog Number 22110, Portland, 2004.
- 69 Muniz, JM, Lacchini, R, Sertorio, JTC, Jordao, AA Jr, Nobre, YTDA, Tucci, S Jr, Martins, ACP, and Tanus-Santoz, JE. Low nitric oxide bioavailability is associated with better responses to sildenafil in patients with erectile dysfunction. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 386, 9 (2013), 805-811.
- 70 Mulcahy, JJ. *Male Sexual Function. A Guide to Clinical Management*. Humana Press, 2006.

- 71 Gazzaruso, C, Solerte, SB, Pujia, A, Coppola, A, Vezzoli, M, Salvucci, F, Valenti, C, Giustina, A, and Garzaniti, A. Erectile dysfunction as a predictor of cardiovascular events and death in diabetic patients with angiographically proven asymptomatic coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 51, 21 (2008), 2040-2044.
- 72 Bivalacqua, TJ, Usta, MF, Champion, HC, Kadowitz, PJ, and Hellstrom, WJG. Endothelial Dysfunction in Erectile Dysfunction: Role of the Endothelium in Erectile Physiology and Disease. *Journal of Andrology*, 24, 6 (2003), 17-37.
- 73 Włodek, L and Sokołowska, M. Dobrze i źle strony tlenu azotu. *Folia Cardiologica*, 8, 5 (2001), 467-477.
- 74 Liew, FY. Regulation of nitric oxide synthesis in infectious and autoimmune diseases. *Immunology Letters*, 43, 1-2 (1994), 95-98.
- 75 Morris, SM and Billiar, TR. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *American Journal of Physiology*, 266, 6 Pt 1 (1994), E829-E839.
- 76 Pohl, U and de Vitt, C. A unique role of NO in the control of blood flow. *News in Physiological Science*, 14 (1999), 74-80.
- 77 Chang, YS, Yaccino, JA, Lakshminarayanan, S, Frangos, JA, and Tarbell, JM. Shear-induced increase in hydraulic conductivity in endothelial cells is mediated by a nitric oxide dependent mechanism. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20, 1 (2000), 35-42.
- 78 Cai, H, Griendling, KK, and Harrison, DG. The vascular NAD(P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Trends in Pharmacological Sciences*, 24, 9 (2003:), 471-478.
- 79 Jeremy, JR, Shukla, N, Muzaffar, S, Handley, A, and Angelini, GD. Reactive oxygen species, vascular disease and cardiovascular surgery. *Current Vascular Pharmacology*, 2, 3 (2004), 229-236.
- 80 Cosentino, F, Patton, S, d'Uscio, LV, Werner, ER, Werner-Felmayer, G, Moreau, P, Malinski, T, and Lüscher, TF. Tetrahydrobiopterin alters superoxide and nitric oxide release in prehypertensive rats. *The Journal of Clinical Investigation*, 101, 7 (1998), 1530-1537.
- 81 Guzik, TJ, West, NEJ, Black, E, McDonald, D, Ratnatunga, C, Pillai, R, and Channon, KM. Vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase association with endothelial dysfunction and clinical risk factors. *Circulation Research*, 86, 9 (2000), E85-90.
- 82 Jin, L, Lagoda, G, Leite, R, Webb, RC, and Burnett, AL. NADPH oxidase activation: a mechanism of hypertension-associated erectile dysfunction. *The Journal of Sexual Medicine*, 5, 3 (2008), 544-551.
- 83 Jin, HR, Kim, WJ, Song, JS, Piao, S, Choi, MJ, Tumurbaatar, M, Shin, SH, Yin, GN, Koh, GY, Ryu, JK, and Suh, JK. Intracavernous delivery of a designed angiopoietin-1 variant rescues erectile function by enhancing endothelial regeneration in the streptozotocin-induced diabetic mouse. *Diabetes*, 60, 3 (2011), 969-980.
- 84 Shukla, N, Hotston, M, Persad, R, Angelini, GD, and Jeremy, JY. The administration of folic acid improves erectile function and reduces intracavernosal oxidative stress in the diabetic rabbit. *BJU International*, 103, 1 (2009), 98-103.
- 85 Musicki, B, Liu, T, Lagoda, GA, Strong, TD, Sezen, SF, Johnson, JM, and Burnett, AL. Hypercholesterolemia-induced erectile dysfunction: endothelial nitric oxide synthase (eNOS) uncoupling in the mouse penis by NAD(P)H oxidase. *The Journal of Sexual Medicine*, 7, 9 (2010), 3023-3032.

- 86 Muzaffar, S, Shukla, N, Srivastava, A, Angelini, GD, and Jeremy, JY. Sildenafil citrate and sildenafil nitrate (NCX 911) are potent inhibitors of superoxide formation and gp91phox expression in porcine pulmonary artery endothelial cells. *British Journal of Pharmacology*, 146, 1 (2005), 109-117.
- 87 Luo, L, Dai, D, Cheng, Y, Zhang, Q, Yuan, W, and Dai, Y. Sildenafil improves diabetic vascular activity through suppressing endothelin receptor A, iNOS and NADPH oxidase which is comparable with the endothelin receptor antagonist CPU0213 in STZ-injected rats. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 63, 7 (2011), 943-951.
- 88 Koupparis, AJ, Jeremy, JY, Muzaffar, S, Persad, R, and Shukla, N. Sildenafil inhibits the formation of superoxide and the expression of gp47phox NAD[P]H oxidase induced by the thromboxane A2 mimetic, U46619, in corpus cavernosal smooth muscle cells. *BJU International*, 96, 3 (2005), 423-427.
- 89 Mohamed, AM and Faddah, LM. Therapeutic effects of sildenafil citrate (Viagra) and/or vitamin E on some brain disorders of alloxan induced diabetes mellitus rats. *Journal of Medical Sciences*, 7, 6 (2001), 932-941.
- 90 Hotston, MR, Jeremy, JY, Bloor, J, Koupparis, A, Persad, R, and Shukla, N. Sildenafil inhibits the up-regulation of phosphodiesterase type 5 elicited with nicotine and tumour necrosis factor- α in cavernosal vascular smooth muscle cells: mediation by superoxide. *BJU International*, 99, 3 (2007), 612-618.
- 91 Tsao, PS, Wang, B, Buitrago, R, Shyy, JY, and Cooke, JP. Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein-1. *Circulation*, 96, 3 (1997), 934-940.
- 92 Yazici, ZA, Raschi, E, Patel, A, Testoni, C, Borghi, MO, Graham, AM, Meroni, PL, and Lindsey, N. Human monoclonal anti-endothelial cell IgG derived from a systemic lupus erythematosus patient binds and activates human endothelium in vitro. *International Immunology*, 13, 3 (2001), 349-357.
- 93 Libby, P and Ridker, PM. Novel inflammatory markers of coronary risk: theory versus practice. *Circulation*, 100, 11 (1999), 1148-1150.
- 94 Vlachopoulos, C, Aznaouridis, K, Ioakeimidis, N, Rokkas, K, Vasiliadou, C, Alexopoulos, N, Stefanadi, E, Askitis, A, and Stefanadis, C. Unfavourable endothelial and inflammatory state in erectile dysfunction patients with or without coronary artery disease. *European Heart Journal*, 27, 22 (2006), 2640-2648.
- 95 Giugliano, F, Esposito, K, Di Palo, C, Ciotola, M, Giugliano, G, Marfella, R, D'Armiento, M, and Giugliano, D. Erectile dysfunction associates with endothelial dysfunction and raised proinflammatory cytokine levels in obese men. *Journal of Endocrinological Investigation*, 27, 7 (2004), 665-669.
- 96 Esposito, K, Giugliano, F, Martedì, E, Feola, G, Marfella, R, D'Armiento, M, and Giugliano, D. High proportions of erectile dysfunction in men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 28, 5 (2005), 1201-1203.
- 97 Vlachopoulos, C, Rokkas, K, Ioakeimidis, N, and Stefanadis, C. Inflammation, metabolic syndrome, erectile dysfunction, and coronary artery disease: Common links. *European Urology*, 52, 6 (2007), 1590-600.
- 98 Bocchio, M, Desideri, G, Scarpelli, P, Necozone, S, Properzi, G, Spartera, C, Francavilla, F, Ferri, C, and Francavilla, S. Endothelial cell activation in men with erectile dysfunction without cardiovascular risk factors and overt vascular damage. *Journal of Urology*, 171, 4 (2004), 1601-1604.
- 99 Carneiro, FS, Zemse, S, Giachini, FR, Carneiro, ZN, Lima, VV, Webb, RC, and Tostes, RC. TNF- α infusion impairs corpora cavernosa reactivity. *The Journal of Sexual Medicine*, 6, S3 (2009), 311-319.
- 100 Long, T, Liu, G, Wang, Y, Chen, Y, Zhang, Y, and Qin, D. TNF- α , erectile dysfunction, and NADPH oxidase-mediated ROS generation in corpus cavernosum in high-fat diet/streptozotocin-induced diabetic rats. *The*

Journal of Sexual Medicine, 9, 7 (2012), 1801-1814.

- 101 Yoshizumi, M, Perrella, MA, Burnett, JC Jr, and Lee, ME. Tumor necrosis factor downregulates an endothelial nitric oxide synthase mRNA by shortening its half-life. *Circulation Research*, 73, 1 (1993), 205-209.
- 102 Zhao, S, Zhang, L, Lian, G, Wang, X, Zhang, H, Yao, X, Yang, J, and Wu, C. Sildenafil attenuates LPS-induced pro-inflammatory responses through down-regulation of intracellular ROS-related MAPK/NF- κ B signaling pathways in N9 microglia. *International Immunopharmacology*, 11, 4 (2011), 468-474.
- 103 Morano, S, Mandosi, E, Fallarino, M, Gatti, A, Tiberti, C, Sensi, M, Gandini, L, Buchetti, B, Lenti, L, Jannini, EA, and Lenzi, A. Antioxidant treatment associated with sildenafil reduces monocyte activation and markers of endothelial damage in patients with diabetic erectile dysfunction: a double-blind, placebo-controlled study. *European Urology*, 52, 6 (2007), 1768-1774.
- 104 Foresta, C, De Toni, L, Di Mambro, A, Garolla, A, Ferlin, A, and Zuccarello, D. The PDE5 inhibitor sildenafil increases circulating endothelial progenitor cells and CXCR4 expression. *The Journal of Sexual Medicine*, 6, 2 (2009), 369-372.
- 105 Foresta, C, Ferlin, A, De Toni, L, Lana, A, Vinanzi, C, Galan, A, and Caretta, N. Circulating endothelial progenitor cells and endothelial function after chronic tadalafil treatment in subjects with erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, 18, 5 (2006), 484-488.
- 106 Foresta, C, Caretta, N, Lana, A, De Toni, L, Biagioli, A, Vinanzi, C, and Ferlin, A. Relationship between vascular damage degrees and endothelial progenitor cells in patients with erectile dysfunction: effect of vardenafil administration and PDE5 expression in the bone marrow. *European Urology*, 51, 5 (2007), 1411-1419.
- 107 Maritim, AC, Sanders, RA, and Watkins, JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 17, 1 (2003), 24-38.
- 108 Harrison, DG and Gongora, MC. Oxidative stress and hypertension. *Medical Clinics of North America*, 93, 3 (2009), 621-635.
- 109 Furukawa, S, Fujita, T, Shimabukuro, M, Iwaki, M, Yamada, Y, Nakajima, Y, Nakayama, O, Makishima, M, Matsuda, M, and Shimomura, I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, 114, 12 (2004), 1752-1761.
- 110 Griendling, KK and FitzGerald, GA. Oxidative Stress and Cardiovascular injury. Part II: animal and human studies. *Circulation*, 108, 17 (2003), 2034-2040.
- 111 Musicki, B, Kramer, MF, Becker, RE, and Burnett, AL. Inactivation of phosphorylated endothelial nitric oxide synthase (Ser-1177) by O-GlcNAc in diabetes-associated erectile dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 102, 33 (2005), 11870-1187.
- 112 Wells, L, Vosseller, K, and Hart, GW. Glycosylation of nucleocytoplasmic proteins: signal transduction and O-GlcNAc. *Science*, 291, 5512 (2001), 2376-2378.
- 113 Fleming, I, Mohamed, A, Galle, J, Turchanowa, L, Brandes, RP, Fisslthaler, B, and Busse, R. Oxidized low-density lipoprotein increases superoxide production by endothelial nitric oxide synthase by inhibiting PKC α . *Cardiovascular Research*, 65, 4 (2005), 897-906.
- 114 Hana, YJ, Kwonb, YG, Chungc, HT, Leed, SK, Simmonse, RL, Billiare, TR, and Kima, YM. Antioxidant Enzymes Suppress Nitric Oxide Production through the Inhibition of NF- κ B Activation: Role of H₂O₂ and Nitric Oxide

- in Inducible Nitric Oxide Synthase Expression in Macrophages. *Nitric Oxide*, 5, 5 (2001), 504-513.
- 115 Durante, W, Johnson, FK, and Johnson, RA. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34, 9 (2007), 906-911.
 - 116 Mielczarek-Puta, M, Chrzanowska, A, Graboń, W, and Barańczyk-Kuźma, A. Nowe oblicza arginazy. Część II. Rola w fizjologii i patologii. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 62 (2008), 214-221.
 - 117 Bivalacqua, TJ, Burnett, AL, Ignarro, LJ, Hellstrom, W, and Champion, HC. Increased gene expression and enzyme activity of arginase impairs erectile function in aged mice. *International Journal of Impotence Research*, 14: B1.5. (2002).
 - 118 Bivalacqua, TJ, Hellstrom, WJ, Kadowitz, PJ, and Champion, HC. Increased expression of arginase II in human diabetic corpus cavernosum: in diabetic-associated erectile dysfunction. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 283, 4 (2001), 923-927.
 - 119 Michell, DL, Andrews, KL, and Chin-Dusting, JP. Endothelial dysfunction in hypertension: the role of arginase. *Frontiers in bioscience (Scholar edition)*, 3 (2011), 946-960.
 - 120 Perticone, F, Sciacqua, A, Maio, R, Perticone, M, Maas, R, Boger, RH, Tripepi, G, Sesti, G, and Zoccali, C. Asymmetric dimethylarginine, L-arginine, and endothelial dysfunction in essential hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, 46, 3 (2005), 518-523.
 - 121 Ryoo, S, Lemmon, CA, Soucy, KG, Gupta, G, White, AR, Nyhan, D, Shoukas, A, Romer, LH, and Berkowitz, DE. Oxidized low-density lipoprotein-dependent endothelial arginase II activation contributes to impaired nitric oxide signaling. *Circulation Research*, 99, 9 (2006), 951-960.
 - 122 Romero, MJ, Platt, DH, Tawfik, HE, Labazi, M, El-Remessy, AB, Bartoli, M, Caldwell, RB, and Caldwell, RW. Diabetes-induced coronary vascular dysfunction involves increased arginase activity. *Circulation Research*, 102, 1 (2008), 95-102.
 - 123 Miyazaki, H, Matsuoka, H, Cooke, JP, Usui, M, Ueda, S, Okuda, S, and Imaizumi, T. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation*, 99, 9 (1999), 1141-1146.
 - 124 Böger, RH, Bode-Böger, SM, Szuba, A, Tsao, PS, Chan, JR, Tangphao, O, Blaschke, TF, and Cooke, JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation*, 98, 18 (1998), 1842-1847.
 - 125 Wascher, TC, Schmoelzer, I, Wiegatz, A, Stuehlinger, M, Mueller-Wieland, D, Kotzka, J, and Enderle, M. Reduction of postchallenge hyperglycaemia prevents acute endothelial dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance. *European Journal of Clinical Investigation*, 35, 9 (2005), 551-557.
 - 126 Zhang, WZ, Venardos, K, Chin-Dusting, J, and Kaye, DM. Adverse effects of cigarette smoke on NO bioavailability. role of arginine metabolism and oxidative stress. *Hypertension*, 48, 2 (2006), 278-285.
 - 127 Wang, H and Liu, J. Plasma asymmetric dimethylarginine and L-arginine levels in Chinese patients with essential hypertension without coronary artery disease. *Journal of Cardiovascular Disease Research*, 2, 3 (2011), 177-180.
 - 128 Eid, HM, Eritsland, J, Larsen, J, Arnesen, H, and Seljeflot, I. Increased levels of asymmetric dimethylarginine in populations at risk for atherosclerotic disease. Effects of pravastatin. *Atherosclerosis*, 166, 2 (2003), 279-284.

- 129 Abbasi, F, Asagmi, T, Cooke, JP, Lamendola, C, McLaughlin, T, Reaven, GM, Stuehlinger, M, and Tsao, PS. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Cardiology*, 88, 10 (2001), 1201–1203.
- 130 Paroni, R, Barassi, A, Ciociola, F, Dozio, E, Finati, E, Fermo, I, Ghilardi, F, Colpi, GM, Corsi, MM, and Melzi d'Eril, GV. Asymmetric dimethylarginine (ADMA), symmetric dimethylarginine (SDMA) and L-arginine in patients with arteriogenic and non-arteriogenic erectile dysfunction. *International Journal of Andrology*, 35, 5 (2012), 660-667.
- 131 Wierzbicki, AS, Solomon, H, Lumb, PJ, Lyttle, K, Lambert-Hamill, M, and Jackson, G. Asymmetric dimethyl arginine levels correlate with cardiovascular risk factors in patients with erectile dysfunction. *Atherosclerosis*, 185, 2 (2006), 421-425.
- 132 Becker, AJ, Ückert, S, Stief, CG, Truss, MC, Machtens, S, Scheller, F, Knapp, WH, Hartmann, U, and Jonas, U. Possible role of bradykinin and angiotensin II in the regulation of penile erection and detumescence. *Urology*, 57, 1 (2001), 193–198.
- 133 Park, JK, Kim, SZ, Kim, SH, Park, YK, and Cho, KW. Renin angiotensin system in rabbit corpus cavernosum: functional characterization of angiotensin II receptors. *The Journal of Urology*, 158, 2 (1997), 653-658.
- 134 Becker, AJ, Uckert, S, Stief, CG, Scheller, F, Knapp, WH, Hartmann, U, and Jonas, U. Plasma levels of angiotensin II during different penile conditions in the cavernous and systemic blood of healthy men and patients with erectile dysfunction. *Urology*, 58, 5 (2001), 805–810.
- 135 Griendling, KK, Minieri, D, Ollerenshaw, D, and Alexander, RW. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cell. *Circulation Research*, 74, 6 (1994), 1141-1148.
- 136 Strehlow, K, Wassmann, S, Böhm, M, and Nickenig, G. Angiotensin AT1 receptor over-expression in hypercholesterolaemia. *Annals of Medicine*, 32, 6 (2000), 386-389.
- 137 Harrison-Bernard, LM, Imig, JD, and Carmines, PK. Renal AT1 receptor protein expression during the early stage of diabetes mellitus. *International Journal of Experimental Diabetes Research*, 3, 2 (2002), 97-108.
- 138 Wassmann, S, Stumpf, M, Strehlow, K, Schmid, A, Böhm, M, and Nickenig, G. Interleukin-6 Induces Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction by Overexpression of the Angiotensin II Type 1 Receptor. *Circulation Research*, 94, 4 (2004), 534-541.
- 139 Nowak, JM, Grzanka, A, Żuryń, A, and Stępień, A. Rodzina białek Rho i ich rola w cytoszkielecie komórki. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 62 (2008), 110-117.
- 140 Jin, L and Burnett, AL. RhoA/Rho-kinase in erectile tissue: mechanisms of disease and therapeutic insights. *Clinical Science*, 110, 2 (2006), 153-165.
- 141 Andersson, KE. Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. *The Journal of Urology*, 170, 2 (2003), 6–14.
- 142 Chau, VQ, Salloum, FN, Hoke, NN, Abbate, A, and Kukreja, RC. Mitigation of the progression of heart failure with sildenafil involves inhibition of RhoA/Rho-kinase pathway. *Heart and Circulatory Physiology - American Journal of Physiology*, 300, 6 (2011), H2272–H2279.
- 143 Guilluy, C, Sauzeau, V, Rolli-Derkinderen, M, Guérin, P, Sagan, C, Pacaud, P, and Loirand, G. Inhibition of RhoA/Rho kinase pathway is involved in the beneficial effect of sildenafil on pulmonary hypertension. *British Journal of Pharmacology*, 146, 7 (2005), 1010-1018.

- 144 Zhao, WM and Wang, R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Heart and Circulatory Physiology - American Journal of Physiology*, 283, 2 (2002), H474-H480.
- 145 Zhao, W, Zhang, J, Lu, Y, and Wang, R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. *The EMBO Journal*, 20, 21 (2001), 6008-6016.
- 146 Liaw, RL, Srilatha, B, and Adaikan, PG. Effects of hydrogen sulfide on erectile function and its possible mechanism(s) of action. *The Journal of Sexual Medicine*, 8, 7 (2011), 1853-1864.
- 147 Srilatha, B, Adaikan, PG, Li, L, and Moore, PK. Hydrogen sulphide: a novel endogenous gasotransmitter facilitates erectile function. *The Journal of Sexual Medicine*, 4, 5 (2007), 1304-1311.
- 148 Srilatha, B, Adaiken, PG, Li, L, and Moore, PK. Possible role for the novel gasotransmitter hydrogen sulphide in erectile dysfunction – a pilot study. *European Journal of Pharmacology*, 535, 1-3 (2006), 280-282.
- 149 Di Villa Bianca, R, Sorrentino, R, Maffia, P, Mirone, V, Imbimbo, C, Fusco, F, De Palma, R, Ignarro, LJ, and Cirino, G. Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 11 (2009), 4513-4518.
- 150 Dhaun, N, Goddard, J, Kohan, DE, Pollock, DM, Schiffrin, EL, and Webb, DJ. Role of endothelin-1 in clinical hypertension. *Hypertension*, 52, 3 (2008), 452-459.
- 151 Haak, T, Jungmann, E, Raab, C, and Usadel, KH. Elevated endothelin-1 levels after cigarette smoking. *Metabolism*, 43, 3 (1994), 267-269.
- 152 Schneider, JG, Tilly, N, Hierl, T, Sommer, U, Hamann, A, Dugi, K, Leidig-Bruckner, G, and Kasperk, C. Elevated plasma endothelin-1 levels in diabetes mellitus. *American Journal of Hypertension*, 15, 11 (2002), 967-972.
- 153 Cardillo, C, Kilcoyne, CM, Cannon, RO 3rd, and Panza, JA. Increased activity of endogenous endothelin in patients with hypercholesterolemia. *Journal of the American College of Cardiology*, 36, 5 (2000), 1483–1488.
- 154 Granchi, S, Vannelli, GB, Vignozzi, L, Crescioli, C, Ferruzzi, P, Mancina, R, Vinci, MC, Forti, G, S, Filippi, Luconi, M, Ledda, F, and Maggi, M. Expression and regulation of endothelin-1 and its receptors in human penile smooth muscle cells. *Molecular Human Reproduction*, 8, 12 (2002), 1053-1064.
- 155 Wingard, CJ, Husain, S, Williams, J, and James, S. RhoA-Rho kinase mediates synergistic ET-1 and phenylephrine contraction of rat corpus cavernosum. *Regulatory, Integrative and Comparative Physiology - American Journal of Physiology*, 285, 5 (2003), R1145-R1152.
- 156 Aversa, A, Vitale, C, Volterrani, M, Fabbri, A, Spera, G, Fini, M, and Rosano, GMC. Chronic administration of Sildenafil improves markers of endothelial function in men with Type 2 diabetes. *Diabetic Medicine*, 25, 1 (2008), 37-44.
- 157 Moriel, EZ, Gonzales-Cadavid, N, Ignarro, LJ, Byrns, R, and Rajfer, J. Levels of nitric oxide metabolites do not increase during penile erection. *Urology*, 42, 5 (1993), 551-553.
- 158 Ülker, S, McKeown, PP, and Bayraktutan, U. Vitamins reverse endothelial dysfunction through regulation of eNOS and NAD(P)H oxidase activities. *Hypertension*, 41 (2003), 534-539.
- 159 Heller, R, Unbehauen, A, Schellenberg, B, Mayer, B, Werner-Felmayer, G, and Werner, ER. L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *The*

Journal of Biological Chemistry, 276, 1 (2001), 40-47.

- 160 Kuzkaya, N, Weissmann, N, Harrison, DG, and Dikalov, S. Interactions of peroxynitrite, tetrahydrobiopterin, ascorbic acid, and thiols: implications for uncoupling endothelial nitric-oxide synthase. *The Journal of Biological Chemistry*, 278, 25 (2003), 22546-22554.
- 161 Karasu, C, Ozansoy, G, Bozkurt, O, Erdogan, D, and Omeroglu, S. Antioxidant and triglyceride-lowering effects of vitamin E associated with the prevention of abnormalities in the reactivity and morphology of aorta from streptozotocin-diabetic rats. *Metabolism*, 46, 8 (1997), 872-879.
- 162 Keegan, A, Walbank, H, Cotter, MA, and Cameron, NE. Chronic vitamin E treatment prevents defective endothelium-dependent relaxation in diabetic rat aorta. *Diabetologia*, 38, 12 (1995), 1475-1478.
- 163 Ulrich-Merzenich, G, Metzner, C, Schiermeyer, B, and Vetter, H. Vitamin C and vitamin E antagonistically modulate human vascular endothelial and smooth muscle cell DNA synthesis and proliferation. *European Journal of Nutrition*, 41, 1 (2002), 27-34.
- 164 Brockes, C, Buchli, C, Locher, R, Koch, J, and Vetter, W. Vitamin E prevents extensive lipid peroxidation in patients with hypertension. *British Journal of Biomedical Science*, 60, 1 (2003), 5-8.
- 165 Saldeen, T, Li, D, and Mehta, JL. Differential effects of alpha- and gammatocopherol on low-density lipoprotein oxidation, superoxide activity, platelet aggregation and arterial thrombogenesis. *Journal of the American College of Cardiology*, 34, 4 (1999), 1208-1215.
- 166 Mabile, L, Bruckdorfer, KR, and Rice-Evans, C. Moderate supplementation with natural alpha-tocopherol decreases platelet aggregation and lowdensity lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis*, 147, 1 (1999), 177-185.
- 167 Wannamethee, SG, Lowe, G, Rumley, A, Bruckdorfer, KR, and Whincup, PH. Associations of vitamin C status, fruit and vegetable intakes, and markers of inflammation and hemostasis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 3 (2006), 567-574.
- 168 Singh, U, Devaraj, S, and Jialal, I. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annual Review of Nutrition*, 25 (2005), 151-174.
- 169 Park, JR and Tappel, AL. Protein damage and lipid peroxidation: effects of diethyl maleate, bromotrichloromethane and vitamin E on ammonia, urea and enzymes involved in ammonia metabolism. *Toxicology Letters*, 58, 1 (1991), 29-36.
- 170 Naziroglu, M, Simsek, M, and Kutlu, M. Moderate exercise with a dietary vitamin C and E combination protects streptozotocin-induced oxidative damage to the blood and improves fetal outcomes in pregnant rats. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 42, 5 (2004), 511-517.
- 171 Jiang, JL, Li, NS, Li, YJ, and Deng, HW. Probucol preserves endothelial function by reduction of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *British Journal of Pharmacology*, 135, 5 (2002), 1175-1182.
- 172 Fennessy, FM, Moneley, DS, Wang, JH, Kelly, CJ, and Bouchier-Hayes, DJ. Taurine and vitamin C modify monocyte and endothelial dysfunction in young smokers. *Circulation*, 107, 3 (2003), 410-415.
- 173 Kondoh, N, Higuchi, Y, Maruyama, T, Nojima, M, Yamamoto, S, and Shima, H. Salvage therapy trial for erectile dysfunction using phosphodiesterase type 5 inhibitors and vitamin E: preliminary report. *Aging Male*, 11, 4 (2008), 167-170.

- 174 Meagher, EA, Barry, OP, Lawson, JA, Rokach, J, and FitzGerald, GA. Effects of vitamin E on lipid peroxidation in healthy persons. *The Journal of the American Medical Association*, 285, 9 (2001), 1178-1182.
- 175 Chen, Y, Xiaoxin, L, Xuefeng, Q, Weidon, Z, and Yutian, D. ED 05. Protective effect of L - Arginine on oxidative stress in cavernous tissue of diabetic rats. *Translational Andrology and Urology*, 1, S1 (2012).
- 176 Chen, Y, Li, X, Lin, H, Qiu, X, Gao, J, Dai, Y, and Wang, R. ED 06. The long-term administration of tadalafil on STZ - induced diabetic rats with erectile dysfunction via local antioxidative mechanism. *Translational Andrology and Urology*, 1, S1 (2012).
- 177 Perk, H, Armagan, A, Naziroğlu, M, Soyupek, S, Hoscan, MB, Sütcü, R, Ozorak, A, and Delibas, N. Sildenafil citrate as a phosphodiesterase inhibitor has an antioxidant effect in the blood of men. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 33, 6 (2008), 635-640.
- 178 Armutcu, F, Ataymen, M, Atmaca, H, and Gurel, A. Oxidative stress markers, C-reactive protein and shock protein 70 levels in subject with metabolic syndrome. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.*, 46, 6 (2008), 785-790.
- 179 Yildiz, L, Kayaog, N, and Aksoy, H. The Changes of Superoxide Dismutase, Catalase and Glutathione. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 40, 6 (2002), 612-615.
- 180 Jacobson, GA, Yee, KC, and Ng, CH. Elevated plasma glutathione peroxidase concentration in acute severe asthma: comparison with plasma glutathione peroxidase activity, selenium and malondialdehyde. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 67, 4 (2007), 423-430.
- 181 Kawakami, T, Urakami, S, Tanaka, Y, Deguchi, M, Nakajima, K, Enokida, H, Shiina, H, Ogishima, T, Tokizane, T, Kawamoto, K, Hirata, H, Miura, K, Konety, BR, Kane, CJ, and Carrol, PR. Superoxide dismutase analog (TEMPOL: 4-HYDROXY-2, 2, 6, 6-TETRAMETHYLPYPERIDINE 1-OXYL) treatment restores erectile function in diabetes- induced impotence. (San Francisco, CA 2006), AUA.
- 182 Kawakami, T, Urakami, S, Hirata, H, Tanaka, Y, Nakajima, K, Enokida, H, Shiina, H, Ogishima, T, Tokizane, T, Kawamoto, K, Miura, K, Ishii, N, and Dahiya, R. Superoxide dismutase analog (Tempol: 4-hydroxy-2, 2, 6, 6-tetramethylpiperidine 1-oxyl) treatment restores erectile function in diabetes-induced impotence. *International Journal of Impotence Research*, 21, 6 (2009), 348-355.
- 183 Massudi, H, Grant, R, Braid, N, Guest, J, Farnsworth, B, and Guillemin, GJ. Age-Associated Changes In Oxidative Stress and NAD Metabolism In Human Tissue. *Plos One*, 7, 7 (2012).
- 184 García-Cardoso, J, Vela, R, Mahillo, E, Mateos-Cáceres, PJ, Modrego, J, Macaya, C, and López-Farré, AJ. Increased cyclic guanosine monophosphate production and endothelial nitric oxide synthase level in mononuclear cells from sildenafil citrate-treated patients with erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, 22, 1 (2010), 68-76.
- 185 Pou, S, Pou, WS, Bredt, DS, Snyder, SH, and Rosen, GM. Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase. *The Journal of Biological Chemistry*, 267, 34 (1992), 24173-24176.
- 186 Vásquez-Vivar, J, Kalyanaraman, B, and Martíásek, P. The role of tetrahydrobiopterin in superoxide generation from eNOS: enzymology and physiological implications. *Free Radical Research*, 37, 2 (2003), 121-127.
- 187 Vásquez-Vivar, J, Martíásek, P, Whitsett, J, Joseph, J, and Kalyanaraman, B. The ratio between tetrahydrobiopterin and oxidized tetrahydrobiopterin analogues controls superoxide release from

- endothelial nitric oxide synthase: an EPR spin trapping study. *Biochemical Journal*, 362, Pt 3 (2002), 733-739.
- 188 Lee, KC, Yang, YY, Huang, YT, Lee, FY, Hou, MC, Lin, HC, and Lee, SD. Administration of a low dose of sildenafil for 1 week decreases intrahepatic resistance in rats with biliary cirrhosis: the role of NO bioavailability. *Clinical Science*, 119, 1 (2010), 45-55.
 - 189 Yun, SH, Moon, YS, Sohn, SH, and Jang, IS. Effect of Cyclic Heat Stress or Vitamin C Supplementation during Cyclic Heat Stress on HSP70, Inflammatory Cytokines, and the Antioxidant Defense System in Sprague Dawley Rats. *Journal of Experimental Animal Science*, 61, 5 (2012), 543-553.
 - 190 Abdel-Hamid, NM, Faddah, LM, Al-Rehany, MA, and Awad, AA. Oxidative stress in the liver of diabetic rats treated with a combination of sildenafil citrate and a free radical scavenger. *Asian Journal of Biochemistry*, 3, 1 (2008), 32-37.
 - 191 Ali, SH, Abdelrahman, AN, Al-Salam, S, Sudhadevi, M, AlMahruqi, AS, Al-Husseni, IS, Beegam, S, Dhanasekaran, S, Nemmar, A, and Al-Moundhri, M. The effect of sildenafil on cisplatin nephrotoxicity in rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 109, 4 (2011), 300-308.
 - 192 Jeong, KH, TW, Lee, Ihm, CG, Lee, SH, Moon, JY, and Lim, SJ. Effects of sildenafil on oxidative and inflammatory injuries of the kidney in streptozotocin-induced diabetic rats. *American Journal of Nephrology*, 29, 3 (2009), 274-282.
 - 193 Liu, H and Kehrer, JP. The reduction of glutathione disulfide produced by t-butyl hydroperoxide in respiring mitochondria. *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 3 (1996), 433-442.
 - 194 Padmaja, S, Squadrito, GL, and Pryor, WA. Inactivation of glutathione peroxidase by peroxynitrite. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 349, 1 (1998), 1-6.
 - 195 Thöny, B, Auerbach, G, and Blau, N. Tetrahydrobiopterin biosynthesis, regeneration and functions. *Biochemical Journal*, 347, Pt 1 (2000), 1-16.
 - 196 Pryor, WA. Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. *Environmental Health Perspectives*, 105, S4 (1997), 875-882.
 - 197 Brown, KM, Morrice, PC, Arthur, JR, and Duthie, GC. Effects of vitamin E supplementation on erythrocyte antioxidant defense in smoking and non-smoking men. *Clinical Science*, 91, 1 (1996), 107-11.
 - 198 Wurzel, H, Yeh, CC, Gairola, C, and Chow, CK. Oxidative damage and antioxidant status in the lungs and bronchoalveolar lavage fluid of rats exposed chronically to cigarette smoke. *Journal of Biochemical Toxicology*, 10, 1 (1995), 11-17.
 - 199 Lykkesfeldt, J, Viscovich, M, and Poulsen, HE. Plasma malondialdehyde is induced by smoking: a study with balanced antioxidant profiles. *British Journal of Nutrition*, 92, 2 (2004), 203-206.
 - 200 Dietrich, M, Block, G, Hudes, M, Morrow, JD, Norkus, EP, Traber, MG, Cross, CE, and Packer, L. Antioxidant supplementation decreases lipid peroxidation biomarker F(2)-isoprostanes in plasma of smokers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 11, 1 (2002), 7-13.
 - 201 Bivalacqua, TJ, Sussan, TE, Gebeska, MA, Strong, TD, Berkowitz, DE, Biswal, S, Burnett, AL, and Champion, HC. Sildenafil inhibits superoxide formation and prevents endothelial dysfunction in a mouse model of secondhand smoke induced erectile dysfunction. *Journal of Urology*, 181, 2 (2009), 899-906.

- 202 Kovanecz, I, Nolzco, G, Ferrini, MG, Toblli, JE, Heydarkhan, S, Vernet, D, Rajfer, J, and Gonzalez-Cadavid, NF. Early onset of fibrosis within the arterial media in a rat model of type 2 diabetes mellitus with erectile dysfunction. *BJU International*, 103, 10 (2009), 1396-404.
- 203 Savas, M, Yeni, E, Verit, A, Gulum, M, Aksoy, N, Ciftci, H, Celik, H, Altunkol, A, and Oncel, H. Acute effect of phosphodiesterase type 5 inhibitor on serum oxidative status and prolidase activities in men with erectile dysfunction. *Clinics*, 65, 12 (2010), 1311-1314.
- 204 Aysin, K, Tamer, IK, Guliz, I, and Aynur, K. Prolidase deficiency. *International Journal of Dermatology*, 41, 1 (2002), 45-48.
- 205 Gencer, M, Aksoy, N, Dagli, EC, Uzer, E, Aksoy, S, Selek, S, Celik, H, and Cakir, H. Prolidase activity dysregulation and its correlation with oxidative-antioxidative status in chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 25, 1 (2011), 8-13.
- 206 Montorsi, F, Briganti, A, Salonia, A, Rigatti, P, Margonato, A, Macchi, A, Galli, S, Ravagnani, PM, and Montorsi, P. Erectile dysfunction prevalence, time of onset and association with risk factors in 300 consecutive patients with acute chest pain and angiographically documented coronary artery disease. *European Urology*, 44, 3 (2003), 360-365.

Streszczenie

Zaburzenia erekcji (ED) stanowią ogólnoswiatowy problem. Szacuje się, że w 2025 roku liczba mężczyzn zgłaszających zaburzenia erekcji osiągnie około 332 miliony. Najczęściej zaburzeniom erekcji towarzyszą choroby, które można określić mianem chorób cywilizacyjnych. Do chorób tych zaliczamy cukrzycę, nadciśnienie tętnicze i hipercholesterolemię prowadzącą do miażdżycy naczyń. Uważa się, że jednym z czynników sprawczych wymienionych chorób jest występowanie stresu oksydacyjnego. Jedną z przyczyn ED doszukuje się również w szkodliwości palenia papierosów. Palenie papierosów jest również czynnikiem nasilającym poziom stresu oksydacyjnego w organizmie. Pierwszą linią terapii ED według rekomendacji EAU jest stosowanie inhibitorów fosfodiesterazy typu 5 (IPDE-5). Stwierdzono jednak, że u pacjentów z chorobami cywilizacyjnymi efektywność terapii IPDE-5 jest mniejsza.

Celem niniejszej pracy jest ocena wpływu suplementacji preparatami o działaniu antyoksydacyjnym (witaminy C i E) na wyniki 3-miesięcznej terapii IPDE-5 (sildenafil) u chorych z zaburzeniami erekcji. Oceniono wpływ współwystępujących chorób cywilizacyjnych na leczenie sildenafilem oraz leczenie sildenafilem suplementowanym antyoksydantami. Zbadano także wpływ palenia papierosów na skuteczność obu terapii w grupie chorych, u których zaburzeniom erekcji towarzyszyły choroby cywilizacyjne. Badaniu poddanych zostało 52 pacjentów z ED podzielonych na grupy ze względu na zastosowaną terapię, występowanie towarzyszących chorób cywilizacyjnych oraz palenie papierosów. Wyniki zastosowanych terapii oceniono za pomocą skróconego kwestionariusza oceny życia płciowego (IIEF-5). Stopień nasilenia stresu oksydacyjnego przed i po leczeniu porównano na podstawie pomiaru stężeń enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPX). Dodatkowo oznaczono poziom malonyldialdehydu jako wskaźnika peroksydacji lipidów oraz poziom tlenku azotu w surowicy krwi badanych chorych.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że suplementacja antyoksydantami chorych leczonych z powodu zaburzeń erekcji może nasilać pozytywne działanie sildenafilu. Choć

nie stwierdzono istotności statystycznej uzyskanych wyników, wskazują one, że pacjenci z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą i hipercholesterolemią reagują słabiej na leczenie sildenafilem w porównaniu do terapii sildenafilem oraz antyoksydantami. Stosowanie antyoksydantów w połączeniu z sildenafilem okazało się szczególnie efektywne w grupie pacjentów z ED i chorobami towarzyszącymi, palących papierosy. Wyniki uzyskane w niniejszym badaniu wskazują na celowość przeprowadzenia badań na większych grupach pacjentów. W badaniach tych oprócz antyoksydantów mógłby być stosowany inhibitor IPDE-5 o dłuższym czasie działania.

Summary

Erectile dysfunction (ED) is a global problem. It is estimated that by 2025, 322 million men will be affected by ED worldwide. Frequently, ED co-occurs with diabetes, arterial hypertension, and hypercholesterolemia, which are often referred to as civilization diseases. It is believed that one of the causative factors of the mentioned diseases is oxidative stress. Another cause of ED is cigarette smoking, which is also a factor intensifying the level of oxidative stress in human body. According to EAU recommendation, the first-line therapy of ED is the use of phosphodiesterase type 5 inhibitors (IPDE-5). However, it was found that in patients with civilization diseases, the effectiveness of this therapy is lower.

The aim of this study is to evaluate the effectiveness of antioxidant supplementation (vitamin C and E) in patients with erectile dysfunction treated for three months with phosphodiesterase type-5 inhibitor (sildenafil). Furthermore, the influence of the aforementioned civilization diseases on treatment with sildenafil and sildenafil supplemented with antioxidants is analyzed. Another objective of this study is to verify how does cigarette smoking effect the efficiency of both of these therapies (sildenafil with and without antioxidants) in a group of patients with ED and civilization diseases. The subjects in the study were 52 men with ED divided into groups according to the applied therapy, the incidence of associated civilization diseases and cigarette smoking. The applied therapy was assessed using standardized shortened (5 questions) version of the International Index of Erectile Function Questionnaire (IIEF-5). The degree of oxidative stress before and after treatment was compared by measuring concentrations of antioxidant enzymes (SOD, CAT and GPX) in blood hemolysates. Additionally, levels of malondialdehyde (as an indicator of lipid peroxidation) and nitric oxide were measured.

The results of this study indicate that supplementation with antioxidants increases the positive effect of sildenafil in patients treated for erectile dysfunction. Although no statistical significance was found, the results indicate that patients with hypertension, diabetes, and hypercholesterolemia respond better to treatment with sildenafil

supplemented with antioxidants than to sildenafil alone. The use of antioxidants in combination with sildenafil proved particularly effective in patients with ED and comorbidities smokers. The obtained results encourage to conduct a study with a larger group of patients. Furthermore, it would be interesting to see the effect of the antioxidant supplementation on other PDE-5 inhibitors with longer half-life.