POVEZANOST EREKTILNE DISFUNKCIJE I SERUMSKE VRIJEDNOSTI VITAMINA

Sudarevuć, Bojan

Doctoral thesis / Disertacija

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:534616

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Bojan Sudarević

POVEZANOST EREKTILNE DISFUNKCIJE I SERUMSKE VRIJEDNOSTI VITAMINA D

Doktorska disertacija

Osijek 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Bojan Sudarević

POVEZANOST EREKTILNE DISFUNKCIJE I SERUMSKE VRIJEDNOSTI VITAMINA D

Doktorska disertacija

Osijek 2016.

Mentor doktorskog rada: prof. prim. dr. sc. Lada Zibar, dr. med.

Rad ima 84 lista.

Umjesto predgovora, zahvaljujem osobama koje su pomogle u ostvarenju ove doktorske disertacije i bez kojih njezina izrada ne bi bila moguća:

- mentorici prof. prim. dr. sc. Ladi Zibar na "nepodnošljivoj lakoći" mentorstva, ideji, vodstvu i uvijek spremnom rješenju,
- doc. dr. sc. Vatroslavu Šeriću, dr. sc. Sanji Mandić, dr. sc. Vesni Horvat i doc. dr. sc. Željku Debeljaku sa Zavoda za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek za svesrdnu pomoć pri prikupljanju uzoraka i njihovoj laboratorijskoj analizi,
- prim. dr. sc. Hrvoju Kuveždiću i dr. sc. Daliboru Šimunoviću sa Zavoda za urologiju KBC-a Osijek za početni interes i usmjeravanje prema znanstveno-istraživačkom radu, pomoć pri znanstvenom usavršavanju te za uvijek dostupan savjet.

SADRŽAJ

POPIS OZNAKA I KRATICA III
POPIS SLIKA V
POPIS TABLICA VI

1. UVOD 1
   1.1. Erekcija 1
   1.2. Erektilna disfunkcija (ED) 2
   1.3. Dijagnostika ED-a 3
   1.4. Vitamin D (VD) 5
   1.5. Određivanje statusa VD-a u organizmu 6
   1.6. Biološke uloge VD-a 7
   1.7. NVD i povezanost NVD-a s RČ ED-a 8

2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA 12

3. CILJ ISTRAŽIVANJA 13

4. ISPITANICI I POSTUPCI 14
   4.1. Ispitanici 14
   4.2. Postupci 15
   4.3. Statistička raščlamba 16

5. REZULTATI 18
   5.1. Klinička obilježja ispitivane populacije 18
   5.2. Laboratorijska obilježja ispitivane populacije 21
   5.3. Podjela ispitanika po skupinama s obzirom na rezultat upitnika IIEF-5 i jačinu izraženosti simptoma ED-a 25
   5.4. Usporedba ispitanika bez ED-a i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (2 - 4) 26

5.5. Usporedba ispitanika s umjerenim i teškim ED-om (ED 3 + 4) s ostalim skupinama ED-a 30

6. RASPRAVA 32
6.1. Serumska koncentracija VD-a u ispitanika s ED-om i bez ED-a 32
6.2. Glikemija, ED i NVD 35
6.3. Poveznica dobi, erektilne funkcije i NVD-a 38
6.4. ITM i NVD 39
6.5. Analiza serumske koncentracije PTH u ispitanika s ED-om i bez ED-a 41
6.6. Hormoni štitnjače i ED 45
6.7. Upala i ED 46
6.8. Utjecaj životnih navika i tjelesne aktivnosti na ED 48
6.9. Popratni poboli, AH i ED 50
6.10. Pušenje i ED 51
6.11. PTSP i ED 52
6.12. Trajanje simptoma ED-a i vrijeme do javljanja bolesnika liječniku 53
6.13. Korištenje inhibitora PDE-5 i edukacijski status ispitanika 53

7. ZAKLJUČCI 55

8. SAŽETAK 61

9. SUMMARY 63

10. POPIS LITERATURE 65

11. ŽIVOTOPIS 78

POPIS OZNAKA I KRATICA

(prema redoslijedu pojavljivanja u tekstu)

SŽS	središnji živčani sustav
NO	dušikov oksid (od engl. *nitric oxide*)
cGMP	ciklički gvanozin monofosfat
cAMP	ciklički adenozin monofosfat
END	endotelna disfunkcija
ED	erektilna disfunkcija
AH	arterijska hipertenzija
SŽB	srčanožilne bolesti
ŠB	šećerna bolest
MU	moždani udar
RČ	rizični čimbenik
IIEF	upitnik *International Index of Erectile Function*
DPCD	dinamički penilni color doppler
PDE-5	fosfodiesteraza tipa 5
VD	vitamin D
UVB	ultraljubičasto B (od engl. *ultraviolet B*)
PTH	paratireoidni hormon
NVD	nedostatak vitamina D
HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (od engl. *high performance liquid chromatography*)
LC-MS/MS	tekućinska kromatografija s masenom spektrometrijom (od engl. *liquid chromatography-tandem mass spectrometry*)
VDR	receptor vitamina D (od engl. *vitamin D receptor*)
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
ITM	indeks tjelesne mase
CRP	C-reaktivni protein
hs-CRP	CRP visoke osjetljivosti (od engl. *high-sensitivity* CRP)
KBCO	Klinički bolnički centar Osijek
IPSS	upitnik *International Prostate Symptom Score*

GUK	glukoza u krvi
HbA1c	hemoglobin A1c
PSA	prostata specifični antigen
FSH	hormon koji stimulira folikule (od engl. *follicule stimulating hormone*)
LH	luteinizirajući hormon
TSH	tireotropin (od engl. *thyroid stimulating hormone*)
T3	trijodtironin
T4	tiroksin
IQR	interkvartilni raspon (od engl. *interquartile range*)
CI	interval pouzdanosti (od engl. *confidence interval*)
PTSP	posttraumatski stresni poremećaj
AST	aspartat transaminaza
ALT	alanin transaminaza
GGT	gama-glutamil transpeptidaza
AP	alkalna fosfataza
CK	kreatin kinaza
HDL	lipoprotein velike gustoće (od engl. *high density lipoprotein*)
LDL	lipoprotein male gustoće (od engl. low *density lipoprotein*)
DXA	dvoenergijska rendgenska denzitometrija (od engl. *dual energy X-ray absorptiometry*)
mRNA	glasnička ribonukleinska kiselina (od engl. m*essenger ribonucleic acid)*
IL-6	interleukin 6
TNF-α	čimbenik tumorske nekroze alfa (od engl. *tumor necrosis factor alpha*)

POPIS SLIKA

Slika 5.1. Razlika u koncentraciji VD-a između dijabetičara s erektilnom disfunkcijom (1) i ostalih ispitanika (0).....19
Slika 5.2. Razlika u koncentraciji PTH između "zdravih" ispitanika (0) i oboljelih od erektilne disfunkcije (1).....23

POPIS TABLICA

Tablica 5.1. Usporedba kliničkih obilježja između ispitanika bez ED-a (ED 0) i oboljelih od ED-a (N = 60) 20
Tablica 5.2. Usporedba laboratorijskih obilježja između ispitanika bez ED-a (ED 0) i oboljelih od ED-a (N = 60) 22
Tablica 5.3. Multivarijatna raščlamba usporedbe ispitivanih skupina, uz izuzeće dvojice ispitanika s "ekstremnim" koncentracijama PTH (N = 58) 24
Tablica 5.4. Usporedba kliničkih obilježja između pojedinih kategorija ED-a (N = 60) 26
Tablica 5.5. Usporedba kliničkih obilježja između ispitanika bez ED-a i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (ED 2 - 4) (N = 60) 27
Tablica 5.6. Usporedba laboratorijskih obilježja između ispitanika bez ED-a i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (ED 2 - 4) (N = 60) 28
Tablica 5.7. Multivarijatna raščlamba usporedbe ispitanika bez ED-a i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (ED 2 - 4) (N = 60) 29
Tablica 5.8. Multivarijatna raščlamba usporedbe ispitanika bez ED-a i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (ED 2 - 4), uz izuzete ispitanike s "ekstremnim" koncentracijama PTH (N = 58) 30
Tablica 5.9. Multivarijatna raščlamba usporedbe ispitanika s umjerenim i teškim ED-om (ED 3 + 4) s ostalim skupinama ED-a (N = 60) 31

1. UVOD

1.1. Erekcija

Erekcija penisa je neurovaskulotkivni događaj pod hormonskim nadzorom. Složeni mehanizam nastanka erekcije ovisi o interakciji i neometanom djelovanju središnjeg živčanog sustava (SŽS), autonomnih i somatskih vlakana perifernog živčanog sustava, hemodinamici glatkog mišićja endotela krvnih žila kavernoznih tijela te posebnoj građi erektilnog tkiva penisa, uz održanu hormonsku ravnotežu.

Seksualna stimulacija aktivira erekciju otpuštanjem dušikova oksida (NO) s neadrenergičkih, nekolinergičkih živčanih završetaka autonomnih kavernoznih živaca, što dovodi do relaksacije glatkih mišića sinusoida kavernoznih tijela i endotela arterija koje opskrbljuju penis krvlju. Rezultat relaksacije i dilatacije navedenih struktura povećani je dotok krvi koja ostaje "zarobljena" u kavernoznim tijelima zbog povećanog tlaka i posljedične kompresije venskih pleksusa ispod čvrste tunike albugineje, ovojnice kavernoznih tijela penisa. Venski odtok dodatno je sveden na minimum kompresijom emisarnih vena između dvaju slojeva tunike albugineje. Za održavanje rigiditeta erekcije odgovorno je stvaranje NO u krvožilnom endotelu kavernoznih tijela penisa preko enzima sintetaze NO. Erekcija prestaje postupnim snižavanjem intrakorporalnog tlaka, što omogućuje ponovnu uspostavu venskog odtoka i vraćanje arterijskog dotoka krvi na početnu razinu (1, 2). Na molekulskoj razini, međudjelovanje čimbenika koji utječu na stupanj kontrakcije glatkih mišića kavernoznih tijela određuje trenutačno funkcionalno stanje penisa. Najvažniji posrednik u relaksaciji kavernoznih tijela jest prethodno spomenut NO, sa sekundarnim glasnicima cikličkim gvanozin i adenozin monofosfatom (cGMP; cAMP). U konačnici, svi molekulski posrednici utječu na promjenu unutarstaničnih koncentracija kalcija ili mijenjaju kalcijsku osjetljivost kontraktilnih bjelančevina (1). Upravo je krvožilni endotel, s održanom mogućnošću relaksacije i dilatacije, ključan za nastanak erekcije, a oštećenja endotela i rezultirajuća endotelna disfunkcija (END) krvnih žila penisa, najvažniji je čimbenik u patofiziologiji nastanka erektilne disfunkcije (ED) (3).

No, erekcija penisa nije isključivo refleksni, periferni odgovor na podražaj nego nastaje nakon interpretacije i obrade dodirnih, mirisnih, vizualnih te imaginativnih aferentnih podražaja u SŽS-u, koji potom koordinira autonomnim i somatskim eferentnim odgovorom

(1). Definirano je nekoliko anatomskih područja SŽS-a kao središta povezivanja informacija vezanih uza seksualno djelovanje i penilnu erekciju (medijalno preoptičko područje, paraventrikularna jezgra hipotalamusa i hipokampus) (4-6), no složenost ljudskih emocija i seksualne reakcije, što je vidljivo u brojnim istraživanjima sa slikovnim prikazivanjem (PET, MRI) aktivacije mozga prilikom seksualne stimulacije (2), onemogućuje strogo ograničenje seksualnosti na samo nekoliko centara SŽS-a. Na spinalnoj razini, aferentna vlakna iz genitalnog područja završavaju u simpatičkim, parasimpatičkim i somatskim jezgrama koje imaju sposobnost povezivanja informacija s periferije i izazivanja refleksne erekcije te primanja supraspinalnih, "nadređenih" informacija (1, 7).

Somatska živčana vlakna odgovorna su za osjet te inervaciju ishiokavernoznog i bulbospongioznog mišića koji sudjeluju u mehanizmu erekcije. Živčana se vlakna brojnih osjetnih receptora, smještenih na glansu i koži penisa, oko mokraćne cijevi i unutar kavernoznih tijela, sjedinjuju i tvore nervus dorsalis penis koji proksimalnije postaje pudendalni živac i ulazi u kralježničnu moždinu preko korijena S2 - S4. U navedenim spinalnim segmentima je i središte eferentne somatomotorne inervacije ishiokavernoznog i bulbospongioznog mišića. Autonomna simpatička inervacija proizlazi iz jedanaestog torakalnog do drugog lumbalnog spinalnog segmenta, a parasimpatička iz drugog do četvrtog sakralnog segmenta kralježnične moždine. Parasimpatička i simpatička vlakna zajedno formiraju zdjelični pleksus, iz kojega potom proizlaze kavernozni živci, odgovorni za autonomnu inervaciju penisa i prethodno navedeni fiziološki slijed zbivanja nastanka erekcije (2).

1.2. Erektilna disfunkcija (ED)

Poremećaji organskih sustava ili dijelova sustava koji sudjeluju u nastanku erekcije dovode do ED-a koji je definiran kao trajna nemogućnost postizanja i održavanja erekcije dovoljne za zadovoljavajući spolni čin (8). Uzroci ED-a mogu biti krvožilni (arterijska hipertenzija [AH], srčanožilne bolesti [SŽB], šećerna bolest [ŠB], hiperlipidemija), neurološki (moždani udar [MU], multipla skleroza, tumori SŽS-a i perifernog živčanog sustava, polineuropatije), anatomski (Peyronijeva bolest, kurvature penisa, hipo- i epispadije), hormonski (hipogonadizam, hipertireoza), psihogeni te ED uzrokovan lijekovima (beta-blokatori, antidepresivi, antipsihotici) (9). Složenost mehanizma nastanka penilne erekcije,

sudjelovanje i međudjelovanje brojnih organskih sustava i dijelova sustava, od kojih posebno građeno erektilno tkivo, krvožilni, živčani i hormonski sustav imaju najveći značaj, čini erekciju podložnom brojnim utjecajima koji mogu dovesti do ED-a. Dijelom poznati rizični čimbenici (RČ) ED-a često djeluju višestruko i sinergistički na slabljenje erektilne funkcije te se rjeđe pronalazi samo jednostruki, jasno definirani uzrok. Slabljenje erektilne funkcije u oboljelih od ŠB-a najbolje ilustrira višestruke uzroke ED-a, gdje postoji neurološka, krvožilna i hormonska sastavnica te pojava ED-a nakon kirurških zahvata u maloj zdjelici (kompromitirana neurovaskularna opskrba).

Iako ED izravno ne ugrožava život, on može imati jak negativan utjecaj na životnu kakvoću oboljeloga, njegovo samopouzdanje i psihosocijalno zdravlje. Nadalje, metaanalize su dokazale da je u bolesnika s ED-om, neovisno o uobičajenim čimbenicima, povećan rizik za SŽB, uključujući koronarnu srčanu bolest i MU te smrtnost općenito (10). Procjenjuje se da je nakon javljanja ED-a potrebno 2 - 3 godine kako bi se razvili prvi simptomi koronarne srčane bolesti, a 3 - 5 godina za potpuno očitovanje SŽB-a događajima poput srčanog udara ili MU-a (11). Navedeni intervali naglašavaju ulogu ED-a kao pretkazatelja za zdravlje ozbiljnijih stanja te istodobno omogućavaju intervenciju u obliku uklanjanja RČ za SŽB, rizika koje navedene bolesti dijele s ED-om (pretilost, manjak tjelovježbe, metabolički sindrom, pušenje, hiperkolesterolemija). Patofiziološki, razlog zbog kojega ED prethodi SŽB-u je u manjem promjeru penilnih arterija koje su izložene istom RČ-u i zahvaćene istim sustavnim procesom, no zbog razlike u promjeru ranije izražavaju simptome (12). Mehanizam nastanka ED-a ujedno je i mehanizam nastanka bolesti drugih krvnih žila ljudskog tijela. Upravo oštećenja endotela i END-a krvnih žila penisa ometaju adekvatnu vazodilataciju i imaju ključnu ulogu u nastanku ED-a (3).

1.3. Dijagnostika ED-a

Rosen je sa suradnicima (13) 1997. godine razvio multidimenzionalni i validirani upitnik IIEF (*International Index of Erectile Function)* koji je kasnije odobrio *National Institutes of Health* (14), a sa svojih 15 pitanja pokriva cijelu seksualnu domenu (erektilna i orgazmička funkcija, seksualna želja, zadovoljstvo spolnim odnosom i opće seksualno zadovoljstvo). Dvije godine kasnije razvijena je i "skraćena" verzija, odnosno upitnik IIEF-5 (15), također validirani, specifičan i senzitivan upitnik, koji se u kliničkim istraživanjima koristi upravo kao

dijagnostički alat za otkrivanje ED-a, a koncentrira se na 5 pitanja o erektilnoj funkciji ispitanika u proteklih 6 mjeseci. Na temelju postignutog rezultata upitnika IIEF-5, ispitanike se može kategorizirati s obzirom na jačinu izraženosti simptoma, odnosno s obzirom na "težinu" ED-a (15, 16). Ispitanici najvišeg rezultata od 22 do 25 bodova nemaju ED (ED 0), blagi ED (ED 1) nosi rezultat 17 - 21 bodova, blagi do umjereni ED (ED 2) 12 - 16 bodova, umjereni (ED 3) 8 - 11 bodova, dok se bolesnici s rezultatom ≤ 7 bodova svrstavaju u skupinu ED 4, odnosno imaju izrazito teški ED. Svrha upitnika IIEF-5 jest ujediniti kriterije za postavljanje dijagnoze ED-a, omogućiti točnije definiranje prevalencije ED-a u različitim populacijama te metodički olakšati usporedbu rezultata dobivenih različitim znanstvenim istraživanjima. Iako postoje i klinički dijagnostički testovi u sklopu obrade ED-a, dovodi se u pitanje interpretacija nalaza umjetno postignute erekcije u odnosu na osobnu procjenu "prirodne" erektilne funkcije ispitanika preko upitnika (17). Nadalje, color doppler ultrazvuk penisa u opuštenom, flakcidnom stanju ima malu, gotovo nikakvu dijagnostičku težinu. Naprotiv, dinamički penilni color doppler (DPCD), uz interpretaciju iskusnog urologa ili radiologa, može poslužiti točnijem definiranju uzroka ED-a i u odabiru adekvatnog modaliteta liječenja (18). Bez obzira na neinvazivnu prirodu samog ultrazvučnog pregleda penisa, neophodna je i prethodna intrakavernozna injekcija prostaglandina, što ovu pretragu ipak čini invazivnom i neatraktivnom za većinu bolesnika, pogotovo u početnoj procjeni ED-a i uz dostupnu i učinkovitu oralnu terapiju prve linije, inhibitorima fosfodiesteraze tipa 5 (PDE-5). Dodatni problem jest, prema mišljenju autora preglednog članka o navedenoj temi, što za kvalitetno izvođenje i interpretaciju nalaza DPCD-a operater treba učiniti više od 200 pretraga godišnje, uz nezanemarive troškove pretrage i upitan *cost-benefit*. Pretragu DPCD treba omogućiti mlađim bolesnicima s trajnim ED-om, anamnezom zdjelične traume, nakon frakture penisa ili pri drugim anatomskim uzrocima ED-a poput Peyronijeve bolesti, pogotovo ako se planira rekonstruktivni kirurški zahvat (18, 19). Za *screening* teškoća u obliku ED-a stoga je dovoljan intervju s ispitanikom, uz ispunjavanje adekvatnog, validiranog upitnika, koje treba provesti uz prisutnost kliničara - istraživača jer ne razumiju svi bolesnici na što se točno pitanja odnose ili ne prave distinkciju između ED-a i npr. prematurne ejakulacije, što može utjecati na rezultate upitnika.

1.4. Vitamin D (VD)

VD je sekosteroid koji se pod utjecajem sunčeva ultraljubičastog B (UVB, od engl. *ultraviolet* B) zračenja sintetizira u koži te se upravo zbog svoje steroidne strukture i endogenog nastanka s pravom naziva hormonom. Može se unositi i hranom, no rijetki su prirodni izvori VD-a (skuša, losos, tuna) (20). Analiza unosa VD-a hranom u djece i odraslih u Sjedinjenim Američkim Državama dokazala je da nijednom prehrambenom namirnicom nije moguće zadovoljiti preporučene dnevne potrebe za VD-om (21), stoga se glavnina VD-a proizvodi endogeno. Tijekom izlaganja kože sunčevim zrakama, 7-dehidrokolesterol iz epidermisa se pretvara u previtamin D_3, koji fotokonverzijom može prijeći u metabolički neaktivne spojeve lumisterol i tahisterol ili izomerizacijom u vitamin D_3 (kolekalciferol) (20, 22). Nastanak lumisterola i tahisterola pri duljem izlaganju kože suncu sprečava suncem uzrokovanu intoksikaciju VD-a i predstavlja kutanu regulaciju proizvodnje VD-a.

Mnogi čimbenici utječu na količinu proizvedenog VD-a u epidermisu. Pojačana pigmentacija kože, odnosno tamnija put, primjena zaštitnih krema za sunčanje, onečišćenost zraka te starija životna dob smanjuju apsorpciju UV zraka, a time i proizvodnju VD-a u koži (23). Nadalje, ulogu u količini sintetiziranog VD-a u koži imaju nadmorska visina i geografska širina, dob dana te godišnje doba (22, 24). To potvrđuje i istraživanje iz Velike Britanije gdje su zabilježene 50 % veće serumske vrijednosti VD-a koncem ljeta u usporedbi sa svršetkom zime (25). Navedeni su rezultati potvrđeni i za populaciju žena u Hrvatskoj, gdje su pronađene razlike u koncentraciji 25(OH)D između proljeća i ljeta te zime i ljeta (26). Među navedenim utjecajima ključan je zenitni kut sunčeva UVB zračenja, čije promjene zbog različite nadmorske visine i geografske širine, različitog doba dana te godišnjeg doba (22-24), uvelike određuju status VD-a u organizmu. U područjima geografskih širina udaljenih od ekvatora (iznad 35° sjeverno i južno), a tako i u Republici Hrvatskoj, (42° - 46° sjeverne geografske širine) vrlo se malo VD-a proizvodi od listopada do ožujka s obzirom na kosiji zenitni kut, a neovisno o vremenu izlaganja kože suncu. Za dovoljnu endogenu sintezu VD-a tijekom ostatka godine potrebno je tek nekoliko minuta dnevnog izlaganja kože suncu, u kasnim prijepodnevnim ili ranim poslijepodnevnim satima (10 - 15 h) (24, 27).

Nakon što se vitamin D_3 stvori u keratinocitima, prenosi se u jetru, gdje se hidroksilira u 25-hidroksikolekalciferol (25(OH)D, kalcidiol), koji je glavni cirkulirajući oblik VD-a i služi za određivanja serumske koncentracije VD-a (24). Kalcidiol se kasnije u bubrezima

daljnjom hidroksilacijom pretvara u biološki aktivni oblik 1,25-dihidroksikolekalciferol ($1,25(OH)_2D$, kalcitriol).

1.5. Određivanje statusa VD-a u organizmu

Iako je kalcitriol glavni aktivni oblik VD-a, s 500 do 1000 puta većom biološkom aktivnošću u odnosu na 25(OH)D, nije podoban za određivanje statusa VD-a u organizmu jer je strogo homeostatički reguliran serumskim vrijednostima fosfata, kalcija i paratireoidnog hormona (PTH), ne odražava pričuvu VD-a u organizmu te zbog nerijetko normalne ili povišene koncentracije u osoba s nedostatkom VD-a (NVD), a zbog sekundarnog hiperparatireoidizma (23, 24). Nadalje, cirkulirajuće vrijeme poluživota kalcitriola je tek 4 sata, za razliku od vremena poluživota 25(OH)D, koji iznosi 2 do 3 tjedna, a i koncentracija 25(OH)D u krvi 1000 je puta veća u odnosu na koncentraciju kalcitriola. Sve navedeno čini 25(OH)D podobnijim za određivanje statusa VD-a u organizmu, premda je određivanje koncentracije $1,25(OH)_2D$ korisno u posebnim situacijama, odnosno u praćenju uspješnosti terapije pri nasljednim i stečenim poremećajima metabolizma VD-a i fosfata (23, 24, 27).

Svi su laboratorijski postupci za određivanje 25(OH)D podložni varijabilnosti, uključujući radio- i enzimske imunoeseje, tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (HPLC, od engl. *high performance liquid chromatography*) i tekućinsku kromatografiju s masenom spektrometrijom (LC-MS/MS, od engl. *liquid chromatography-tandem mass spectrometry*) te ne postoji suglasje koji je postupak optimalan s obzirom na točno definiranje *cut point* vrijednosti niske koncentracije VD-a (23, 24). S kliničkog stajališta, svi postupci određivanja serumske koncentracije VD-a mogu se adekvatno interpretirati ako rezultat pretrage pokazuje vrijednost za 10 ng/ml veću od definirane dostatne vrijednosti VD-a od 30 ng/ml. Sa znanstvenog pak stajališta, ovisno o laboratoriju i postupku analize VD-a, rezultati mogu varirati čak od 17,1 do 35,6 ng/mL (28), što otežava interpretaciju rezultata i usporedbu istraživanja različite metodike. Problem gotovo svih imunoeseja u određivanju koncentracije 25(OH)D jest u "podcjenjivanju", odnosno u neadekvatnoj procjeni sudjelovanja $25(OH)D_2$ frakcije u ukupnoj 25(OH)D koncentraciji. Stoga su noviji postupci analize, poput LC-MS/MS, zlatni standard jer osim ukupne koncentracije VD-a kvantificiraju i udjele $25(OH)D_2$ i $25(OH)D_3$ frakcija.

1.6. Biološke uloge VD-a

Glavna i "klasična" uloga VD-a je u održavanju homeostaze serumskog kalcija i fosfora te metabolizma i integriteta skeleta, a u posljednje je vrijeme sve više dokaza za izvankoštane učinke VD-a, poput učinaka na akutne i kronične bolesti. Kalcitriol regulira genski prijepis preko receptora VD-a (VDR, od engl. *vitamin D receptor*) koji se nalazi u staničnoj jezgri (29). Kompleks kalcitriol - VDR veže se s retinoidnim X-receptorom čineći heterodimer, koji se potom veže na specifične VD "osjetljive" nukleotidne sljedove (od engl. *vitamin D response elements)* deoksiribonukleinske kiseline (DNA, od engl. *deoxyribonucleic acid*) i na taj način povećava ili smanjuje aktivnost određenog gena (24). VDR je prisutan u većini stanica i tkiva ljudskog organizma (uključujući i glatke mišiće endotela krvnih žila, prostatu, mozak, dojke, makrofage), od kojih većina imaju mogućnost i sami proizvesti biološki aktivni oblik VD-a (24, 30-34). Svoje "klasične" metaboličke uloge kalcitriol ostvaruje upravo interakcijom s VDR-om: povećanje crijevne apsorpcije kalcija i fosfora, održavanje homeostaze serumskih koncentracija kalcija i fosfora stimulacijom osteoklasta preko interakcije s VDR osteoblasta, reapsorpcija kalcija iz glomerulskog filtrata u bubrezima (20, 24, 35). Procjenjuje se da postoji 200 do 2000 gena koji imaju VD "osjetljive" nukleotidne DNA sljedove (24, 29) i na taj način VD ostvaruje svoje brojne izvankoštane učinke. Navedeni geni imaju širok raspon bioloških učinaka, uključujući inhibiciju stanične proliferacije i stimulaciju terminalne diferencijacije, inhibiciju angiogeneze, induciranje apoptoze, stimuliranje proizvodnje inzulina i inhibiciju proizvodnje renina te stimuliranje stvaranja kathelicidina (antimikrobni polipeptidi u lizosomima) u makrofagima (24, 29, 36, 37). Nedavno su randomiziranim dvostruko slijepim istraživanjem dokazani molekulski "otisci prstiju" VD-a, koji objašnjavaju njegovu izvankoštanu korist. Hossein-Nezhad i suradnici uočili su promjenu ekspresije 291 gena nakon poboljšanja serumskih vrijednosti 25(OH)D oralnom suplementacijom. Navedeni rezultati sugeriraju da poboljšanjem serumskog VD statusa možemo mijenjati ekspresiju gena s raznolikim biološkim učincima, povezanima s tumorogenezom, autoimunim bolestima i SŽB-om, koje su dovedene u vezu s NVD-om (36).

1.7. NVD i povezanost NVD-a s RČ ED-a

NVD je definiran kao serumska koncentracija 25(OH)D od 20 ng/ml ili manje, a insuficijencija VD-a koncentracijama od 21 do 29 ng/ml. Dostatna serumska koncentracija 25(OH)D je 30 ng/ml ili veća, s time da su sugerirane "idealne" koncentracije od 40 do 60 ng/ml i da su koncentracije VD-a do 100 ng/ml sigurne (23). Epidemiološki se u posljednja dva desetljeća prati porast NVD-a te je od 1988. do 1994. godine 45 % populacije SAD-a imalo dostatne ili više vrijednosti VD-a, dok je u razdoblju od 2001. do 2004. godine ta vrijednost snižena na 23 % (38, 39). Usporedno, raste i globalna incidencija ED-a te se procjenjuje porast sa 152 milijuna oboljelih 1995. godine na 322 milijuna 2025. godine (39, 40). Glavni izvor VD-a u organizmu je endogena sinteza zbog izlaganja kože prirodnom sunčevom zračenju jer je samo mali broj prehrambenih namirnica dovoljan izvor VD-a. Iz navedenoga proizlazi i najbitniji uzrok NVD-a, a to je nedovoljno izlaganje kože suncu. Kao što je prethodno spomenuto, onečišćenost zraka, tamnija pigmentacija kože i primjena zaštitnih krema za sunčanje, smanjuju proizvodnju vitamina D_3 u koži (22, 24, 41). Osobe s visokim indeksom tjelesne mase (ITM), oboljeli od sindroma malapsorpcije masti, primarnog hiperparatiroidizma te nefrotskog sindroma, bolesnici koji su na terapiji antikonvulzivima ili retroviralnim lijekovima, neke su od skupina posebno sklonih NVD-u (23). Posljedica NVD-a je poremećaj metabolizma kalcija, fosfora i kosti. Zbog nedostatka VD-a smanjena je apsorpcija kalcija i fosfora u crijevu, što za posljedicu ima pojačano lučenje PTH. Nastali sekundarni hiperparatiroidizam održava normokalcemiju tako što pojačanom osteoklastičnom aktivnošću mobilizira kalcij iz kosti i na taj način "slabi" kost te dovodi do osteopenije i osteoporoze u odraslih, a u djece do rahitisa.

NVD je već otprije povezan s klasičnim RČ SŽB-a - AH, ŠB, arterijskom kalcifikacijom u sklopu ateroskleroze te upalom krvožilnog endotela (39), koji su ujedno RČ i ED-a. Morfološka i funkcionalna homeostaza promjerom malih krvnih žila penisa ima presudnu ulogu u održavanju adekvatne vazodilatacije i neometane erektilne funkcije, a čimbenici koji dovode do narušavanja navedene ravnoteže patofiziološki vode u END i kliničku sliku ED-a. Porast incidencije SŽB-a na svjetskoj razini prati i usporedni porast incidencije ED-a, što ne začuđuje ako END shvatimo kao patofiziološki mehanizam nastanka oštećenja svih krvnih žila u organizmu s očekivanim i znanstvenim istraživanjima dokazanim ranijim ispoljavanjem kliničkih simptoma što je promjer krvnih žila manji. Otkrićem izvankoštanih učinaka VD-a na ekspresiju gena s brojnim biološkim učincima (24, 29, 36, 37)

i istraživanjima koja potvrđuju ulogu nedostatka VD-a u patofiziologiji nastanka kliničkih entiteta usko vezanih s rizikom razvoja ED-a (39, 42) te porastom incidencije kako ED-a, tako i NVD-a (38-40), otvara se pitanje neposrednog utjecaja serumske koncentracije VD-a na erektilnu funkciju koje do sada nije istraženo.

Jedan od istraženih utjecaja VD-a jest utjecaj na razvoj arterijskih kalcifikacija, glavnog obilježja ateroskleroze, koje su RČ i SŽB-a (43, 44) i ED-a (45). Gotovo 90 % oboljelih od SŽB-a ima izražene kalcifikacije koronarnih arterija (46), a prisutnost kalcifikacija je RČ neovisan o drugim poznatim utjecajima na navedene bolesti (47), dok je u oboljelih od ED-a 40 % veća šansa mjerljivih arterijskih kalcifikacija na radiološkim slikovnim prikazima u odnosu na zdrave ispitanike (45). Ono što je poznato o utjecaju koncentracije VD-a na pojavnost arterijskih kalcifikacija jest da pri niskim ili vrlo visokim koncentracijama VD-a dolazi do pojačane krvožilne kalcifikacije, s napomenom da su ekscesivne koncentracije VD-a rijetko zabilježene u općoj humanoj populaciji i da je upravo nedostatak VD-a na animalnom modelu bio uzrok pojačane kalcifikacije (48, 49).

Još jedno obilježje ateroskleroze jest upala endotela krvnih žila, koja uzrokuje funkcionalna oštećenja, odnosno END. Nakon upalnih procesa endotela i pri povećanom oksidativnom stresu, normalna endotelna funkcija slabi i dolazi do strukturalnih promjena endotela zbog pokušaja cijeljenja mikroozljeda. Takav endotel više nije "podatan" za adekvatan odgovor relaksacije i dilatacije te dolazi do razvoja END-a. U oboljelih od ED-a su, u odnosu na zdrave ispitanike, u nekoliko istraživanja pronađene povišene koncentracije C-reaktivnog proteina (CRP), što je pokazatelj povezanosti ED-a sa subkliničkim upalnim procesom malih krvnih žila penisa (50, 51). Verma i suradnici (52) dokazali su da i sam CRP neposredno slabi produkciju endotelnog NO, čineći korak dalje u razjašnjavanju povezanosti upale i ED-a. Rezultati drugih istraživanja upućuju pak na protektivnu, antiupalnu ulogu VD-a jer su se nadoknadom VD-a vrijednosti CRP-a snižavale i do 40 % (53) te se omjer produkcije citokina mijenjao u korist antiupalnih citokina (54). Pokazatelj povezanosti serumskog VD statusa i ED-a jest i VD stimulirana produkcija NO sintetaze, a posljedično i NO, što djeluje protektivno na vazodilataciju i urednu funkciju krvožilnog endotela (55). Dodatno, VD zaustavlja proliferaciju glatkog mišićja endotela koja se inače događa u sklopu aterosklerotskog procesa (56).

Nadalje, ŠB, neovisno o kojem tipu bolesti se radi, nosi povećan rizik i za SŽB i za ED jer povećane serumske vrijednosti glukoze inhibiraju endotelnu produkciju NO i vazodilataciju te tako vode u vazokonstrikciju, upalu i proliferaciju glatkih mišića stijenke

krvnih žila te konačno u aterosklerozu (39, 57) i END (58), a bolja kontrola glikemije povezana je s manjom učestalošću ili odgodom javljanja mikrovaskularnih komplikacija bolesti (59). Navedeni proces događa se kako u cerebralnim i koronarnim, tako i u promjerom manjim penilnim krvnim žilama, predisponirajući javljanje ED-a u oboljelih od ŠB 10 - 15 godina ranije (60) i uopće 3 - 4 puta veći rizik javljanja ED-a u odnosu na normoglikemične osobe (39, 61), s ukupnom vjerojatnošću javljanja ED-a u oboljelih od ŠB do 90 % (62). VD je u dosadašnjim istraživanjima višestruko doveden u vezu sa ŠB-om (30). Intervencijska istraživanja s oralnom suplementacijom VD-a dokazala su poboljšanje sekrecije inzulina i snižavanje glikemije te smanjenje inzulinske rezistencije u odnosu na ispitanike koji su primali placebo (63, 64). Surogat endogene sinteze VD-a jest izlaganje kože suncu. Stoga istraživanja koja dokazuju bolju glikemiju ljeti nego zimi (65) te pojačanu inzulinsku sekreciju pod utjecajem UVB zračenja (66), impliciraju i indirektan pozitivan utjecaj VD-a na kontrolu glikemije. Zaključak nedavno učinjene metaanalize 11 prospektivnih istraživanja dovodi incidenciju tipa II ŠB-a u inverznu vezu sa serumskom vrijednošću 25(OH)D, sugerira smanjenje rizika obolijevanja za 41 % u slučaju vrijednosti kalcidiola iznad 32 ng/ml u odnosu na vrijednosti manje od 19,5 ng/ml, no navodi i manjak randomiziranih istraživanja o navedenoj temi (24, 67).

END uzrokuje i AH i to posljedično oslabljenoj raspoloživosti NO nakon oksidativnog stresa (68). Nedostatak VD receptora u animalnim istraživanjima uzrokuje pojačanu produkciju renina i angiotenzina, što vodi u AH (69), a VD je i endogeni supresor biosinteze renina (70) te na taj način može modulirati djelovanje osovine renin - angiotenzin - aldosteron i suprimirati AH. Klinička istraživanja ukazuju i na utjecaj UVB zračenja (surogat sinteze VD-a) na snižavanje krvnog tlaka (71, 72). Slično kao za glikemiju, poznate su sezonske varijacije i u vrijednostima krvnog tlaka te je prosječni sistolički tlak mjeren ljeti iznosio do 30 mmHg manje, a dijastolički do 15 mmHg manje u odnosu na vrijednosti izmjerene zimi (73), što pojačava poveznicu između VD-a i AH. Nadalje, Forman i suradnici navode 6,13 puta veći rizik za razvoj AH u muškaraca s najnižom koncentracijom 25(OH)D (< 15 ng/mL) i 2,67 puta veći rizik u žena s istim vrijednostima (74).

S obzirom na već spomenutu "isprepletenost" RČ i patofiziologije nastanka ED-a i SŽB-a te gore navedeni utjecaj VD-a na te iste RČ, NVD bi se mogao dovesti u izravnu vezu i s ED-om, što do sada nije istraženo. Postoji i cijeli niz nekrvožilnih bolesti (Alzheimerova i Parkinsonova bolest, depresija, multipla skleroza, psorijaza, astma, metabolički sindrom i dr.) koje mogu uzrokovati ili utjecati na ED, a dovedene su u vezu s NVD-om (39), ali serumska

koncentracija VD-a u oboljelih od ED-a u trenutku prijave teme ove doktorske disertacije još uvijek nije istražena.

2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA

Hipoteza ovog istraživanja jest da oboljeli od ED-a imaju manju serumsku koncentraciju 25(OH)D u usporedbi s kontrolnom skupinom zdravih ispitanika.

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja je ispitati serumsku koncentraciju VD-a u oboljelih od ED-a i provjeriti imaju li oboljeli od ED-a manju serumsku koncentraciju 25(OH)D u usporedbi s kontrolnom skupinom zdravih ispitanika, kako je na temelju dosadašnjih spoznaja pretpostavljeno. Na temelju prethodno navedenih istraživanja o zajedničkim RČ i mehanizmu nastanka ED-a i drugih bolesti koje su dovedene u vezu s NVD-om, može se očekivati potvrda hipoteze o povezanosti ED-a s NVD-om, što bi značilo i određenu ulogu VD-a u patofiziologiji nastanka ED-a.

Nadalje, može se pretpostaviti da bi intenzitet ED-a mogao negativno korelirati sa serumskom koncentracijom VD-a. U istraživanju je korišten međunarodni validirani specifičan i senzitivan upitnik koji se u kliničkim istraživanjima koristi kao dijagnostički alat za otkrivanje ED-a te je na temelju rezultata upitnika moguće kategorizirati bolesnike s obzirom na intenzitet simptoma, odnosno kvantificirati stupanj ED-a. Cilj istraživanja je stoga bio i ispitati je li serumska koncentracija VD-a u korelaciji s intenzitetom ED-a.

U nekoliko je istraživanja upala endotela, jedno od glavnih obilježja ateroskleroze, već povezana s pojavom ED-a mehanizmima opisanim u prethodnom, uvodnom poglavlju. U oboljelih od ED-a zabilježene su veće serumske koncentracije CRP-a u odnosu na zdrave ispitanike. Sekundarni cilj ovog istraživanja jest provjeriti i potvrditi takve rezultate koristeći CRP visoke osjetljivosti (hs-CRP, od engl. *high-sensitivity* CRP).

ED je visoko prevalentna bolest čija incidencija raste starenjem populacije i sjedilačkim, "zapadnjačkim" načinom života. Osim što utječe na životnu kakvoću, nosi sa sobom i povećan rizik obolijevanja od SŽB-a, koje mogu završiti smrtno. Ako ED shvatimo kao simptom, odnosno kao prvo upozorenje o generaliziranoj bolesti krvnih žila (zajednički RČ ED-a i SŽB-a), koja slijedi ako utjecaj RČ ostane isti, otvara nam se prostor za intervenciju. Krajnji cilj ovog istraživanja, ako se dokaže povezanost ED-a i NVD-a, bio bi otvoriti put sljedećim istraživanjima o utjecaju nadoknade VD-a na usporavanje, ublažavanje ili odgodu javljanja ED-a. U budućnosti bi takav oblik liječenja ED-a mogao biti alternativa današnjem samo simptomatskom "liječenju", odnosno zlatnom standardu - inhibitorima PDE-5 koji, osim visoke cijene i nuspojava, mogu svojom učinkovitošću "zamaskirati" prijeteću koronarnu srčanu bolest ili pak MU.

4. ISPITANICI I POSTUPCI

4.1. Ispitanici

U presječno je istraživanje uključeno 60 ispitanika: 32 oboljela od ED-a i 28 zdravih kontrolnih ispitanika čija će dob odgovarati ispitivanoj skupini. Prema G-power izračunu statističke jačine za određivanje razlike između dvaju neovisnih uzoraka u kategorijskoj varijabli, uz α=0,05 i snagu 0,8 te veličinu efekta 0,95, potrebna je veličina uzorka od ukupno 38 ispitanika, odnosno najmanje 19 ispitanika po glavnim skupinama, čemu odgovara planirani broj ispitanika u istraživanju.

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo za istraživanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku te Etičko povjerenstvo za istraživanja Kliničkog bolničkog centra Osijek (KBCO). U provođenju istraživanja vezanog uz izradu doktorske disertacije, pridržavalo se etičkih načela Kodeksa medicinske etike i deontologije Hrvatskog liječničkog zbora od veljače 2007. godine te preporuka Helsinške deklaracije iz 2000. godine i njezinih revizija, vezano uz biomedicinska istraživanja.

U istraživanje su uključeni bolesnici s ED-om koji su ambulantno liječeni na Zavodu za urologiju KBCO. Kontrolnu skupinu čine dobno odgovarajuće osobe bez ED-a, koje su u ambulantu došle iz drugih razloga. Isključni kriteriji su anatomski uzrokovan ED (fraktura penisa, Peyronijeva bolest, kongenitalna inkurvacija penisa), poslijeoperacijski ED (nakon zahvata u maloj zdjelici ili retroperitoneumu, npr. nakon radikalne prostatektomije ili operacije kolorektuma), jasno neurološki uzrokovan ED (tumor mozga, ozljeda kralježnične moždine, MU), a isključeni su i bolesnici s dokazanim karcinomom prostate, sa simptomima infekcije urogenitalnog sustava te oni bolesnici koji nisu pristali sudjelovati u istraživanju. Ispitanici koji su uzimali neke od lijekova koji mogu utjecati na erektilnu funkciju (triciklički antidepresivi, neuroleptici, tijazidski diuretici, beta-blokatori) također nisu uključeni u istraživanje. Nijedan od uključenih ispitanika nije uzimao oralnu nadomjesnu terapiju VD-a.

4.2. Postupci

Za uključivanje ispitanika u istraživanje potpisan je obrazac informiranog pristanka, nakon što je ispitaniku dano detaljno pisano i usmeno obrazloženje istraživanja. Slijedila je anamneza, klinički urološki pregled, uključujući i digitorektalni pregled, te ispunjavanje upitnika anamneze, zatim upitnika IIEF-5 i, samo u slučaju prisutnosti smetnji mokrenja, upitnika *International Prostate Symptom Score* (IPSS). IIEF-5 se, kako je u uvodnom dijelu spomenuto, u kliničkim istraživanjima koristi kao dijagnostički alat za otkrivanje ED-a, a na temelju rezultata upitnika IIEF-5 ispitanici su kategorizirani s obzirom na jačinu izraženosti simptoma ED-a. Ispitanici s rezultatom od 22 do 25 bodova nemaju ED i svrstani su u skupinu ED 0, rezultat 17 - 21 bodova rezultirao je svrstavanjem ispitanika u skupinu blagog ED-a (ED 1), 12 - 16 bodova imali su ispitanici blagog do umjerenog ED-a (ED 2), 8 - 11 bodova ispitanici umjerenog ED-a (ED 3), dok su ispitanici s rezultatom ≤ 7 bodova svrstani u skupinu ED 4, odnosno imaju izrazito teški ED. IPSS upitnik (75) služi za procjenu jačine bolesnikovih tegoba s mokrenjem, odnosno simptoma donjeg mokraćnog sustava, a čine ga sedam pitanja o kakvoći mokrenja, s mogućim ocjenama od 0 do 5. U konačnici, ukupni rezultat upitnika od 0 do 7 bodova odgovara blagim, 8 - 19 umjerenim, a 20 - 35 teškim simptomima donjeg mokraćnog sustava. Klinički pregled i intervju s potpisivanjem informiranog pristanka i ispunjavanjem upitnika provodio je istraživač sa svakim ispitanikom pojedinačno, izvan ambulante, odnosno u neometanom okružju unutar Zavoda za urologiju KBCO. U takvom je okruženju ispitanicima bilo lakše otvoreno progovoriti o "osjetljivim" problemima, a istraživaču je omogućeno eventualno dodatno tumačenje anketnih pitanja ispitaniku.

Krvni uzorci za analizu serumskih koncentracija 25(OH)D i laboratorijskih obilježja za istraživanje (hs-CRP, crvena i diferencijalna krvna slika te trombociti, urea, kreatinin, urati, ionogram, glukoza [GUK], hemoglobin A1c [HbA1c], jetreni enzimi, alkalna fosfataza, bilirubin, lipidogram, prostata specifični antigen [PSA] te hormonske analize - PTH, testosteron, hormon koji stimulira folikule [FSH, od engl. *follicule stimulating hormone*], luteinizirajući hormon [LH], tireotropin [TSH, od engl. *thyroid stimulating hormone*], trijodtironin [T3], tiroksin [T4], prolaktin) uzeti su iz kubitalne vene ispitanika uobičajenim postupkom i analizirani, kao i neposredno uzorkovani urin, na Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBCO, uz prethodnu pisanu suglasnost pročelnika Zavoda. Uzorkovanje je u svih 60 ispitanika učinjeno u kratkom vremenskom razdoblju (veljača i

ožujak 2015. godine) kako bi se izbjegao utjecaj sunčeva UVB zračenja na sintezu VD-a u koži ispitanika. Naime, kako je u uvodnom dijelu već spomenuto, u područjima geografskih širina iznad 35° sjeverno i južno, gdje pripada i Republika Hrvatska smještena između 42° i 46° sjeverne geografske širine, vrlo se malo VD-a proizvodi u koži tijekom zimskih mjeseci s obzirom na kosiji zenitni kut, a neovisno o vremenu izlaganja kože suncu.

Analiza serumske koncentracije VD-a učinjena je HPLC postupkom pomoću Shimadzu HPLC sistema (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) uz Chromsystems reagens (Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH, München, Njemačka), prema uputama proizvođača. Za koncentracije testosterona, prolaktina, FSH i LH korištena je kemiluminiscentna mikroimunokemijska tehnologija (CMIA, od engl. *chemiluminiscent microparticle immunoassay*) pomoću ARHITECT i1000SR uređaja (Abbott Diagnostics, Lake Forest, USA), a za koncentraciju PSA elektrokemiluminiscentni imunoesej (ECLIA, od engl. *electrochemiluminescence immunoassay*) pomoću COBAS 6000 uređaja (Roche Diagnostics GmbH). Analiza serumskih koncentracija PTH, TSH, T3 i T4 učinjena je pomoću kemiluminiscentnog imunoeseja (CLIA, od engl. *chemiluminescence immunoassay*) pomoću UniCel DxI600 uređaja (Beckman Coulter Inc., Brea, USA). Za određivanje HbA1c pomoću turbidimetrijsko-inhibicijskog imunotesta korišten je imunokemijski reagens i Dimension EXL 200 instrument proizvođača Siemens Healthcare Diagnostics Inc. (Newark, DE, USA).

Nakon prikupljanja rezultata učinjenih pretraga, uslijedili su oblikovanje baze ispitanika sa svim relevantnim podatcima, statistička raščlamba te interpretacija rezultata.

4.3. Statistička raščlamba

Statistička raščlamba podataka učinjena je pomoću kompjutorskog programa SPSS verzije 15.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA), postupcima ispitivanja razlika i povezanosti. Prosječne vrijednosti numeričkih podataka prikazane su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom za obilježja koja se normalno raspodjeljuju, a medijanom i interkvartilnim rasponom (IQR, od engl. *interquartile range*) za obilježja koje nemaju normalnu raspodjelu i za male uzorke (manje od 30). Normalnost raspodjele ispitana je Kolmogorov-Smirnofljevim testom. Nominalni pokazatelji prikazani su apsolutnim i relativnim frekvencijama.

Razlika između više od dvaju neovisnih uzoraka ispitana je ANOVA testom za parametrijsku (s *post hoc* Scheffeovim testom), a Kruskal-Wallisovim testom za neparametrijsku statistiku (s *post hoc* Mann-Whitneyjevim testom).

Razlike između dvaju neovisnih uzoraka ispitane su pomoću Studentovog t-testa u parametrijskoj, a pomoću Mann-Whitneyjevog testa u neparametrijskoj statistici. Razlike između dvaju ovisnih uzoraka ispitane su parametrijskim t-testom za parne uzorke ili Wilcoxonovim neparametrijskim testom. Razlike u nominalnim pokazateljima (proporcijama) između dvaju uzoraka ispitane su pomoću χ^2 testa (i Fisherovog egzaktnog testa). Razlike u nominalnim pokazateljima između više od dva uzorka ispitane su pomoću χ^2 testa. Korelacije su ispitane pomoću neparametrijskog Spearmanovog *rho* koeficijenta korelacije. U slučaju statističkih pozitivnih linearnih korelacija, odnos je prikazan linearnom regresijskom analizom. Prediktorne varijable testirane su određivanjem rizika (OR s 95 % intervalom pouzdanosti [CI, od engl. *confidence interval*]) i multivarijatnom raščlambom pomoću binarne logističke regresije Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testom, pri čemu su kovarijate za multivarijatnu raščlambu birane na razini značajnosti $P < 0,1$. Značajnost je prihvaćena na razini $P < 0,05$, dvosmjernim testom.

5. REZULTATI

5.1. Klinička obilježja ispitivane populacije

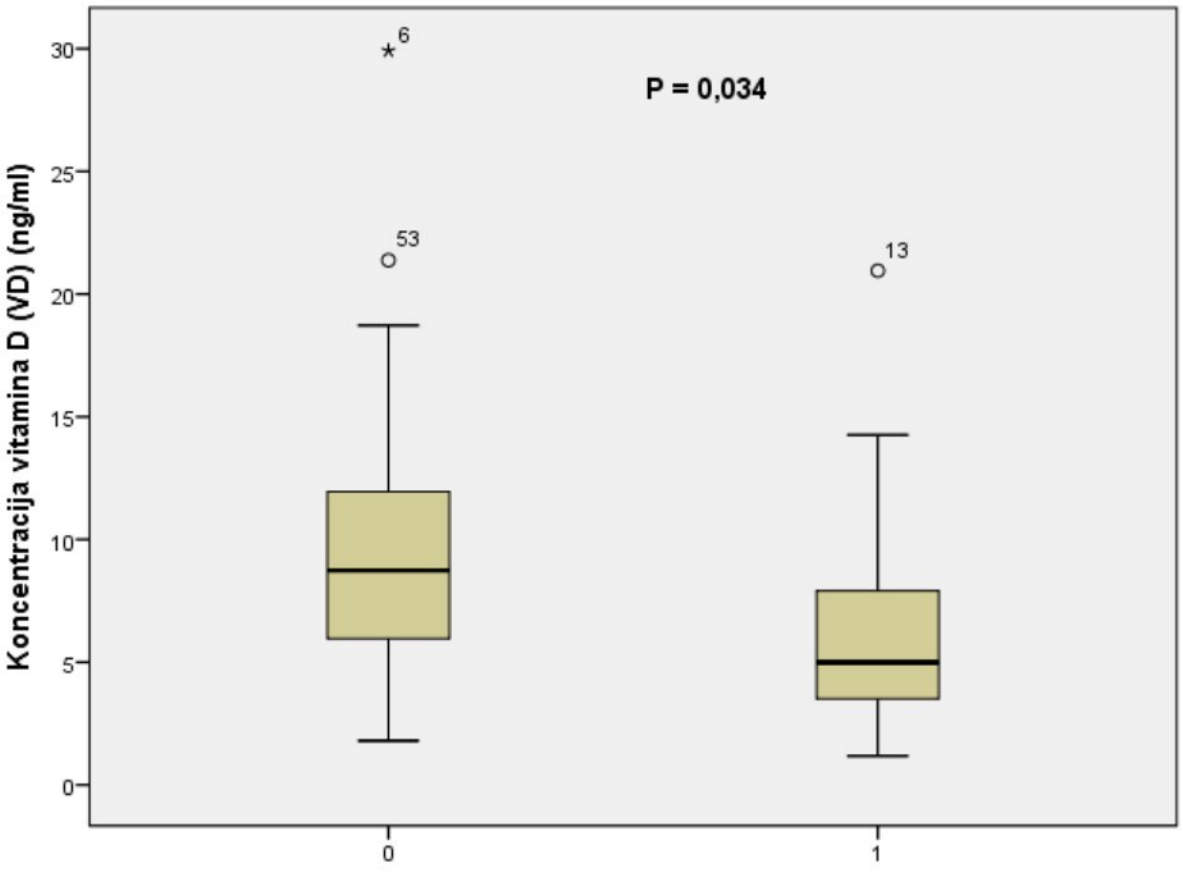
Ukupno 60 muškaraca uključeno je u istraživanje. U skupinu oboljelih od ED-a su prema upitniku IIEF-5 svrstana 32 ispitanika, dok je 28 ispitanika svrstano u kontrolnu skupinu bez ED-a (ED 0). Ukupni rezultat IIEF-5 testa za sve ispitanike iznosio je 18,5 bodova, odnosno ispitanici bez ED-a imali su prosječni rezultat 23, a oboljeli od ED-a 10 bodova. Simptomi pojedinih oboljelih od ED-a trajali su i do 16 godina (prosječno 4,5 godina), a do javljanja bolesnika urologu prošlo je u prosjeku godinu i pol dana od nastupa tegoba. Ukupno 14 ispitanika (23 %) pokušalo je uzeti jedan od inhibitora PDE-5, od kojih su dvanaestorica pripadali skupini s izraženim ED-om, dok su dvojica ispitanika bez tegoba ED-a probali lijek "rekreacijski". Od navedenih 12 bolesnika (37 % oboljelih od ED-a) koji su pokušali medikamentozno liječenje, njih sedmorica izrazili su zadovoljstvo učinkom samog lijeka (58 %).

Medijan dobi svih ispitanika iznosio je 55,5 godina. Najmlađi ispitanik ima je 42, a najstariji 74 godine, bez značajne razlike u dobi između ispitivanih skupina (P = 0,295). Većina je ispitanika, što se obrazovanja tiče, srednje stručne spreme, po dvojica ispitanika niske i više, a jedan ispitanik visoke stručne spreme. Prema ITM-u, ispitanici su bili visokog ITM-a (medijan 28,2; IQR 26,3 - 31,5), bez značajne razlike između skupina (P = 0,589).

Nijedan ispitanik uključen u istraživanje nije imao simptome mokraćne infekcije niti je u analizi mokraćnog sedimenta uočena značajna leukociturija. Nadalje, nijedan ispitanik se nije žalio na izrazite tegobe donjeg dijela urogenitalnog sustava, 6 ispitanika je prema IPSS rezultatu imalo blage, a 3 umjerene navedene simptome (prosječni IPSS rezultat 1,43, medijan 0). Kako bi se izbjeglo uključivanje ispitanika s poslijeoperacijskim ED-om, gdje je uzrok simptoma rezultat kompromitiranja neurovaskularne opskrbe penisa, samo su bolesnici s anamnezom "manjih" kirurških zahvata u trbuhu (kolecistektomije i apendektomije) uključeni u istraživanje.

Više od trećine ispitanika (37 %) imalo je dva ili više popratna pobola (uključuje AH, ŠB, poremećaje srčanog ritma, posttraumatski stresni poremećaj [PTSP]), češće u oboljelih od ED-a (P = 0,007). Gotovo polovina ispitanika (48 %) bolovala je od AH, kao najčešćeg popratnog pobola, a 28 % ispitanika od ŠB-a, od kojih je 29 % na inzulinskoj terapiji. Razlika

između ispitanika bez ED-a i s ED-om u navedenim obilježjima nije pronađena (P = 0,077 za AH, P = 0,15 za ŠB i P = 0,055 za inzulinsku terapiju), premda je uočen jasan trend na štetu oboljelih od ED-a. Međutim, oboljeli od ŠB-a imali su znatno lošiji rezultat upitnika IIEF-5 (medijan 15; IQR 5,5 - 22) u odnosu na ispitanike bez ŠB-a (medijan 22; IQR 10 - 24), P = 0,028. Nadalje, u oboljelih od ŠB-a pronađene su značajno manje koncentracije VD-a (medijan 6,09 ng/ml; IQR 3,5 - 9,6 vs. medijan 8,72 ng/ml; IQR 5,8 - 12,7), P = 0,048. Oboljeli od ŠB-a, koji su ujedno imali i ED (12 ispitanika), razlikovali su se od ostalih ispitanika po manjoj koncentraciji VD-a (medijan 5 ng/ml; IQR 3,4 - 8,3 vs. medijan 8,74 ng/ml; IQR 5,9 - 12), P = 0,034 i lošijem rezultatu upitnika IIEF-5 (medijan 8,5; IQR 5 - 16,5 vs. medijan 22; IQR 11 - 24), P = 0,001, dok se po dobi nisu razlikovali (P = 0,579). Slika 5.1. grafički prikazuje navedenu razliku u koncentraciji VD-a između dijabetičara s ED-om i ostalih ispitanika.



Slika 5.1. Razlika u koncentraciji VD između dijabetičara s erektilnom disfunkcijom (1) i ostalih ispitanika (0)

Ispitanici koji su bolovali od AH bili su stariji (medijan 59 godina, IQR 54,5 - 62,5 vs. medijan 52 godine, IQR 49 - 60); *P* = 0,007), većeg ITM-a (medijan 30,4, IQR 27,4 - 32,9 vs. medijan 27,7, IQR 25,5 - 29,1); *P* = 0,005), većih koncentracija GUK-a (medijan 7,1, IQR 5,6 - 10,2 vs. medijan 5,6, IQR 5,2 - 6,4); *P* = 0,005) i HbA1c (medijan 6,1, IQR 5,6 - 7 vs. medijan 5,5, IQR 5,1 - 5,9); *P* = 0,003) te lošijeg rezultata upitnika IIEF-5 (medijan 10 bodova, IQR 7 - 22 vs. medijan 22 boda, IQR 13 - 24); *P* = 0,001), što znači i lošije erektilne funkcije. U ispitanika s AH pronađena je i manja koncentracija magnezija u odnosu na normotenzivne ispitanike (medijan 0,78, IQR 0,75 - 0,86 vs. medijan 0,85, IQR 0,81 - 0,88); *P* = 0,028), dok razlike u koncentraciji VD-a nije bilo (*P* = 0,882).

Ispitanika s dijagnozom PTSP-a bilo je više u skupini oboljelih od ED-a (*P* = 0,029), dok su tjelesno više aktivni ispitanici bez ED-a (*P* = 0,024). Prema "socijalnim" navikama pušenja i konzumacije alkohola, nije bilo značajne razlike među skupinama (*P* = 0,165 za pušenje, *P* = 0,297 za konzumaciju alkohola). Usporedba kliničkih obilježja između ispitanika bez ED-a i oboljelih od ED-a prikazana je u Tablici 5.1.

Tablica 5.1. Usporedba kliničkih obilježja između ispitanika bez ED-a[*] (ED 0) i oboljelih od ED-a (N = 60)

OBILJEŽJE	ED 0 (n = 28)	ED (n = 32)	ukupno	*P*
Dob (medijan [IQR[†]])	54 (49 - 60,8)	56,5 (52 - 61)	55,5 (50,3 - 61)	0,295[‡]
ITM[§] (medijan [IQR])	28,1 (26,3 - 30,3)	28,4 (26,2 - 32,6)	28,2 (26,3 - 31,5)	0,589
Bodovi IIEF-5[‖] (medijan [IQR])	23 (22 - 24,8)	10 (7 - 14,8)	18,5 (9,3 - 23)	< 0,001
Pušenje (n)	6	13	19	0,165[¶]
Konzumiranje alkohola (n)	19	17	36	0,297
Tjelesna aktivnost (n)	12	5	17	0,024
Arterijska hipertenzija (n)	10	19	29	0,077
Poremećaji srčanog ritma (n)	2	5	7	0,432
Šećerna bolest (n)	5	12	17	0,15
Inzulinska terapija (n)	0	5	5	0,055
Tegobe s kralježnicom (n)	3	9	12	0,115
PTSP[**] (n)	1	8	9	0,029
Depresivne epizode (n)	0	2	2	0,494
Kirurški zahvati u trbuhu[††] (n)	2	2	4	> 0,999
≥ 2 popratna pobola (n)	5	17	22	0,007

[*] ED - erektilna disfunkcija; [†] IQR - interkvartilni raspon (od engl. *interquartile range*); [‡] *P* izračunat Mann-Whitneyjevim testom za numerička obilježja; [§] ITM - indeks tjelesne mase (kg/m^2); [‖] IIEF-5 - upitnik *International Index of Erectile Function-5*; [¶] *P* izračunat Fisherovim egzaktnim testom za nominalna obilježja; [**] PTSP - posttraumatski stresni poremećaj; [††] uključuje samo kolecistektomije i apendektomije.

Multivarijatnom raščlambom, s kovarijatama AH, PTSP-a i dva ili više popratna pobola, jedini neovisni RČ ED-a bila je tjelesna aktivnost, koja je gotovo pet puta smanjivala rizik za ED (Exp (B) 0,214; 95 % CI 0,053 - 0,868; *P* = 0,031).

5.2. Laboratorijska obilježja ispitivane populacije

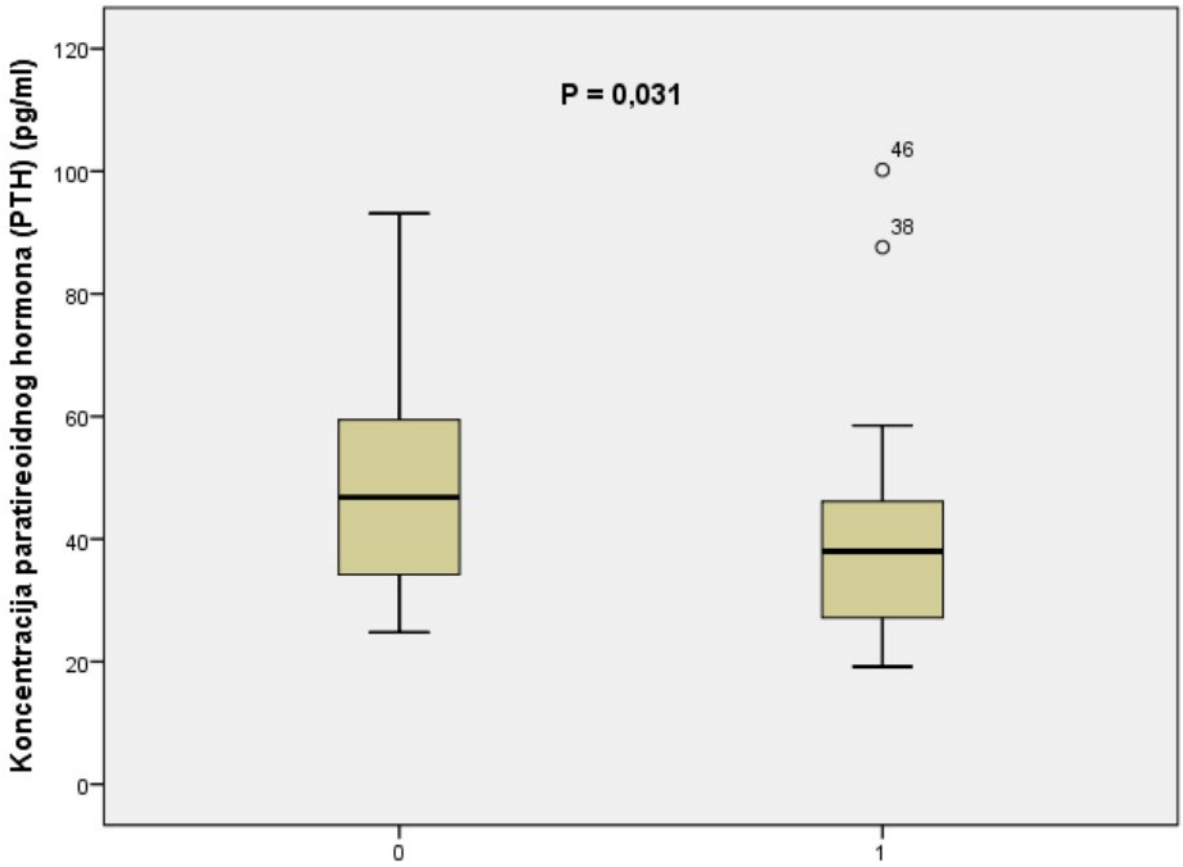
Medijan vrijednosti serumske koncentracije 25(OH)D za sve ispitanike iznosio je 8,36 ng/ml (IQR 4,84 - 11,67 ng/ml). Nijedan ispitanik nije imao dostatnu koncentraciju VD-a od 30 ng/ml ili više. Prema definiciji hipovitaminoze D, navedenoj u uvodnom poglavlju (podpoglavlje 1.7.), dvojica ispitanika bila su insuficijentnih (21 - 29 ng/ml), dok su svi ostali ispitanici bili nedostatnih serumskih koncentracija VD-a (≤ 20 ng/ml). Razlike u koncentraciji VD-a između ispitivanih skupina nije bilo (*P* = 0,894). Serumska koncentracija VD-a pozitivno je korelirala s dobi (Spearmanov rho = 0,298, uz *P* = 0,021). Oboljeli od ED-a imali su veće koncentracije GUK-a i HbA1c u odnosu na ED 0 skupinu (*P* = 0,038 u oba slučaja). Nisu pronađene značajne razlike u koncentracijama testosterona, prolaktina, FSH, LH, PSA, TSH i T3. Kontrolna skupina ispitanika bez ED-a imala je veće vrijednosti T4 (medijan i IQR 11,55 [10,31 - 12,3] vs. 10,28 [9,15 - 11,84] pmol/l, *P* = 0,059) i bilirubina (medijan i IQR 14 [10,3 - 16,8] vs. 10 [9 - 14,8] μmol/l, *P* = 0,074) te manji broj leukocita (medijan i IQR 5,95 [5,07 - 7,22] vs. 6,91 [5,88 - 8,16] $x10^9$/l, *P* = 0,078) u odnosu na oboljele od ED-a, no bez statističke značajnosti u univarijatnoj raščlambi. U koncentracijama T4 nije pronađeno bitno odstupanje od referentnog intervala vrijednosti (7,9 - 14,2 pmol/l), odnosno nisu pronađeni značajni *outlieri* (odstupajuće vrijednosti). U "zdravih" su ispitanika izmjerene veće koncentracije PTH u odnosu na oboljele od ED-a (medijan i IQR 47,2 [33,8 - 63,45] vs. 38,55 [26,98 - 46,43] pg/ml, *P* = 0,037). Pri ispitivanju korelacija, koncentracija PTH pozitivno je korelirala s rezultatom IIEF-5 i negativno s jačinom izraženosti simptoma ED-a (Spearmanov rho = 0,289, uz *P* = 0,025 za rezultat IIEF-5; Spearmanov rho = - 0,34, uz *P* = 0,008 za jačinu simptoma ED-a). Nisu pronađene značajne korelacija između PTH i dobi, ITM-a, koncentracije kreatinina, kalcija, fosfora i VD-a te koncentracija testosterona, FSH, LH, T4 i prolaktina. Tablica 5.2. prikazuje usporedbu laboratorijskih obilježja između dviju ispitivanih skupina.

Tablica 5.2. Usporedba laboratorijskih obilježja između ispitanika bez ED-a[*] (ED 0) i oboljelih od ED-a (N = 60)

OBILJEŽJE	ED 0 (n = 28)	ED (n = 32)	ukupno	$P^{\dagger}$
Vitamin D (ng/ml)	8,6 (4,84 - 10,67)[‡]	8,17 (4,52 - 13,23)	8,36 (4,84 - 11,67)	0,894
HbA1c[§] (%)	5,5 (5,13 - 5,98)	5,85 (5,43 - 6,88)	5,8 (5,2 - 6,6)	0,038
Testosteron (nmol/l)	19,52 (14,46 - 25,87)	17,3 (13,56 - 21,85)	18,7 (14,34 - 23,68)	0,45
FSH[‖] (IU/l)	4,8 (3,65 - 7,53)	6,55 (4,3 - 9,55)	5,7 (3,88 - 8,68)	0,1
LH[¶] (IU/l)	4,33 (3,26 - 6,37)	4,03 (3,11 - 5,31)	4,21 (3,2 - 5,7)	0,97
Prolaktin (mIU/l)	172,15 (100,78 - 210,73)	146,05 (115,55 - 190,58)	158,05 (107,28 - 206,33)	0,767
PSA[**] (ng/ml)	0,88 (0,5 - 1,84)	0,69 (0,33 - 1,01)	0,81 (0,41 - 1,19)	0,197
TSH[††] (mIU/l)	1,31 (0,88 - 1,85)	1,61 (1,11 - 2,03)	1,39 (0,92 - 1,92)	0,136
T3[‡‡] (pmol/l)	4,93 (4,48 - 5,55)	5,11 (4,85 - 5,48)	5,07 (4,68 - 5,49)	0,614
T4[§§] (pmol/l)	11,55 (10,31 - 12,3)	10,28 (9,15 - 11,84)	11,18 (9,61 - 12,03)	0,059
PTH[‖‖] (pg/ml)	47,2 (33,8 - 63,45)	38,55 (26,98 - 46,43)	43,6 (29,78 - 54,7)	0,037
Leukociti (x 10^9/l)	5,95 (5,07 - 7,22)	6,91 (5,88 - 8,16)	6,51 (5,35 - 8,1)	0,078
Eritrociti (x 10^{12}/l)	4,72 (4,48 - 4,95)	4,79 (4,49 - 4,98)	4,76 (4,49 - 4,96)	0,988
Hemoglobin (g/l)	145 (141,3 - 153,8)	145 (138 - 153,3)	145 (139 - 153,8)	0,619
Hematokrit	0,42 (0,4 - 0,45)	0,42 (0,4 - 0,44)	0,42 (0,4 - 0,44)	0,813
Trombociti (x 10^9/l)	193 (179,5 - 248)	212 (165 - 238,8)	204.5 (177,3 - 239)	0,947
AST[¶¶] (U/l)	28 (21 - 36)	24 (19 - 30,5)	26 (21 - 32,8)	0,109
ALT[***] (U/l)	28,5 (20 - 42,5)	29,5 (20 - 46,8)	29 (20 - 45,8)	0,722
GGT[†††] (U/l)	31 (18,8 - 45,5)	33.5 (19,3 - 57,5)	32 (19,3 - 46,8)	0,543
AP[‡‡‡] (U/l)	68 (61,3 - 77)	77 (61 - 88)	72 (61 - 86,8)	0,303
CK[§§§] (U/l)	171 (97,8 - 395)	128 (103,3 - 157,8)	143,5 (100 - 218,8)	0,18
Bilirubin (μmol/l)	14 (10,3 - 16,8)	10 (9 - 14,8)	13 (9 - 15,8)	0,074
Urati (μmol/l)	315,5 (277,5 - 380)	317 (274 - 420)	315,5 (276 - 389,3)	0,65
Glukoza (mmol/l)	5,75 (5,23 - 6,4)	6,4 (5,6 - 9,4)	5,95 (5,5 - 8,28)	0,038
Urea (mmol/l)	5,25 (4,3 - 6,4)	5,35 (4,8 - 6,33)	5,3 (4,63 - 6,4)	0,662
Kreatinin (μmol/l)	82,5 (76 - 95)	84 (68,3 - 101,8)	83,5 (73 - 97,5)	0,553
hsCRP[‖‖‖] (mg/l)	1,59 (1,12 - 4,35)	1,71 (1,11 - 3,11)	1,66 (1,12 - 4)	0,563
Natrij (mmol/l)	139 (138 - 140)	139 (138 - 141)	139 (138 - 140)	0,787
Kalij (mmol/l)	4,35 (3,9 - 4,5)	4,3 (4 - 4,5)	4,3 (4 - 4,5)	0,794
Kalcij (mmol/l)	2,39 (2,35 - 2,46)	2,37 (2,32 - 2,43)	2,38 (2,32 - 2,43)	0,189
Magnezij (mmol/l)	0,83 (0,75 - 0,88)	0,83 (0,78 - 0,88)	0,83 (0,76 - 0,88)	0,693
Fosfor (mmol/l)	0,94 (0,84 - 1,05)	0,99 (0,86 - 1,12)	0,96 (0,85 - 1,08)	0,386
Kolesterol (mmol/l)	6,06 (5,2 - 6,42)	5,5 (5,1 - 6,7)	5,89 (5,1 - 6,46)	0,495
Trigliceridi (mmol/l)	1,81 (1,34 - 2,24)	1,93 (1,21 - 2,7)	1,84 (1,32 - 2,59)	0,935
HDL[¶¶¶] (mmol/l)	1,25 (0,97 - 1,52)	1,23 (1,1 - 1,62)	1,24 (1,04 - 1,56)	0,578
LDL[****] (mmol/l)	4,24 (3,56 - 4,61)	3,7 (3,11 - 4,62)	3,95 (3,34 - 4,61)	0,216

[*] ED - erektilna disfunkcija; [†] *P* izračunat Mann-Whitneyjevim testom; [‡] Rezultati prikazani medijanom i interkvartilnim rasponom; [§] HbA1c - hemoglobin A1c; [‖] FSH - hormon koji stimulira folikule (od engl. *follicule stimulating hormone*); [¶] LH - luteinizirajući hormon; [**] PSA - prostata specifični antigen; [††] TSH - tireotropin (od engl. *thyroid stimulating hormone*); [‡‡] T3 - trijodtironin; [§§] T4 - tiroksin; [‖‖] PTH - paratireoidni hormon; [¶¶] AST - aspartat transaminaza; [***] ALT - alanin transaminaza; [†††] GGT - gama-glutamil transpeptidaza; [‡‡‡] AP - alkalna fosfataza; [§§§] CK - kreatin kinaza; [‖‖‖] hsCRP - C-reaktivni protein visoke osjetljivosti (od engl. *high-sensitivity C-reactive protein*); [¶¶¶] HDL - lipoprotein velike gustoće (od engl. *high density lipoprotein*); [****] LDL - lipoprotein male gustoće (od engl. low *density lipoprotein*).

Ako se pomoću *outlier* testa (Rosnerov Extreme Studentized Deviate *two-sided test*, za višestruke *outliere*) pronađu i iz analize isključe ispitanici s "ekstremnim" koncentracijama PTH (jedan ispitanik iz kontrolne skupine s koncentracijom PTH 471,4 pg/ml, te jedan ispitanik s ED-om i koncentracijom PTH od 132,1 pg/ml) značajnost razlike u koncentraciji PTH među ispitivanim skupinama još je i veća (medijan i IQR 46,8 [33,4 - 60,6] vs. 38 [26,8 - 46,2] pg/ml, *P* = 0,031). Slika 5.2. grafički prikazuje navedenu razliku koncentracije PTH između oboljelih od ED-a i "zdravih" ispitanika.



Slika 5.2. Razlika u koncentraciji PTH između "zdravih" ispitanika (0) i oboljelih od erektilne disfunkcije (1)

Ispitivanjem korelacija, uz navedene isključene ispitanike, koncentracija PTH i dalje je pozitivno korelirala s rezultatom IIEF-5 i negativno s jačinom izraženosti simptoma ED-a (Spearmanov rho = 0,271 uz *P* = 0,04 za rezultat IIEF-5; Spearmanov rho = - 0,333 uz *P* = 0,011 za jačinu simptoma ED), dok između PTH i dobi te koncentracija kalcija, kreatinina, fosfora, VD-a, testosterona, FSH, LH, T4 i prolaktina nije bilo značajnih korelacija.

Multivarijatnom raščlambom s kovarijatama tjelesne aktivnosti, AH, PTSP, dva ili više popratna pobola, koncentracijom HbA1c, T4, PTH, brojem leukocita, glikemijom i bilirubinemijom, nisu pronađeni neovisni RČ za ED. Međutim, ako se iz analize izuzmu gore navedeni ispitanici s *outlier* vrijednostima PTH, multivarijatnom se raščlambom dobije nekoliko neovisnih RČ-a za ED. Tablica 5.3. prikazuje rezultate navedene multivarijatne raščlambe.

Tablica 5.3. Multivarijatna raščlamba usporedbe ispitivanih skupina, uz izuzeće dvojice ispitanika s "ekstremnim" koncentracijama PTH[*] (N = 58)

OBILJEŽJE	Exp (B)	95 % CI[†]	*P*[‡]
Tjelesna aktivnost	0,29	0,051 - 1,662	0,165
Arterijska hipertenzija	9,173	1,015 - 82,938	0,049
PTSP[§]	21,706	1,007 - 468,098	0,05
≥ 2 popratna pobola	1,303	0,14 - 12,122	0,816
HbA1c[‖] (%)	0,157	0,016 - 1,544	0,112
T4[¶] (pmol/l)	0,516	0,269 - 0,989	0,046
PTH (pg/ml)	0,959	0,921 - 0,999	0,045
Leukociti (x 10^9/l)	1,687	0,947 - 3,004	0,076
AST[**] (U/l)	0,953	0,902 - 1,007	0,089
Bilirubin (μmol/l)	0,937	0,755 - 1,161	0,55
Glukoza (mmol/l)	2,62	0,915 - 7,499	0,073

[*] PTH - paratireoidni hormon; [†] CI - interval pouzdanosti (od engl. *confidence interval*); [‡] *P* izračunat Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testom; [§] PTSP - posttraumatski stresni poremećaj; [‖] HbA1c - hemoglobin A1c; [¶] T4 - tiroksin; [**] AST - aspartat transaminaza.

Prisutnost AH i PTSP-a povećavala je rizik za prisutnost ED-a, dok su veće koncentracije T4 djelovale "protektivno" na erektilnu funkciju, premda uz velik CI. Značajno smanjenje rizika ED-a, uz uži 95 % CI, pronađeno je za koncentraciju PTH, gdje se za svako jedinično povećanje PTH rizik ED-a smanjivao za 4 %.

5.3. Podjela ispitanika po skupinama, s obzirom na rezultat upitnika IIEF-5 i jačinu izraženosti simptoma ED-a

Nadalje, na temelju rezultata upitnika IIEF-5, ispitanici su kategorizirani s obzirom na jačinu izraženosti, odnosno "težinu" ED-a. Osim 28 bolesnika bez ED-a (skupina ED 0), po 6 bolesnika svrstano je u skupine blagog i umjereno blagog ED-a (skupine ED 1 i ED 2), 8 bolesnika u skupinu umjerenog ED-a (skupina ED 3), a 12 bolesnika pripalo je skupini teškog ED-a, odnosno ED 4. Medijan vrijednosti rezultata upitnika IIEF-5 za skupinu ED 0 iznosio je 23 boda, za skupinu ED 1 18 bodova, za skupinu ED 2 13,5 bodova, za skupinu ED 3 10, a za skupinu ED 4 5,5 bodova. Značajna razlika u ITM-u između pojedinih skupina ED-a nije pronađena (P = 0,306, podatci nisu prikazani u tablici), kao ni u dobi (P = 0,068), premda postoji trend pripadnosti starijih ispitanika skupinama jače izraženog ED-a (skupine ED 3 i 4). U *post-hoc* Mann-Whitneyjevom testu, značajna razlika u dobi pronađena je između skupina ED 1 i ED 3 (medijan 51 vs. 60,5 godina; P = 0,029), između skupina ED 1 i ED 4 (medijan dobi skupine ED 4 60 godina; P = 0,024) te između skupina ED 2 i ED 4 (medijan dobi skupine ED 2 52,5 godina; P = 0,041). Ispitivanjem prisutnosti dvaju ili više popratnih pobola po skupinama, nisu pronađene značajne razlike u njihovoj učestalosti između skupina (P = 0,084), no jasna je razlika u usporedbi skupine ED 4, gdje je 7 od 12 ispitanika imalo dva ili više popratna pobola, i skupine ED 0, gdje je to obilježje imalo 5 od 28 ispitanika (P = 0,021). AH je kao najčešći popratni pobol bio najzastupljeniji u skupini ED 4, u usporedbi sa skupinama ED 0 (P = 0,014) i ED 1 (P = 0,013). Ukupne razlike u prisutnosti inzulinske terapije nije bilo (P = 0,085), ali uspoređujući skupinu ED 0, gdje nijedan pripadnik nije bio na inzulinskoj terapiji, i skupinu ED 2, razlika je prisutna uz P = 0,027. Klinička obilježja ispitanika pojedinih kategorija ED-a prikazana su u Tablici 5.4.

Tablica 5.4. Usporedba kliničkih obilježja između pojedinih kategorija ED-a[*] (N = 60)

OBILJEŽJE	ED 0 (n = 28)	ED 1 (n = 6)	ED 2 (n = 6)	ED 3 (n = 8)	ED 4 (n = 12)	*P*
Dob (medijan [IQR[†]])	54 (49 - 60,8)	51 (49 - 57,8)[‡]	52,5 (48 - 57)[§]	60,5 (53,3 - 64)	60 (56 - 65,8)	0,068[‖]
IIEF-5[¶] (medijan [IQR])	23 (22 - 24,8)	18 (17 - 19,3)	13,5 (12 - 15)	10 (9 - 10,8)	5,5 (5 - 7)	<0,001
Pušenje (n)	6	3	3	2	5	0,414[**]
Konzumiranje alkohola (n)	19	2	3	6	6	0,406
Tjelesna aktivnost (n)	12	0	2	2	1	0,101
Arterijska hipertenzija (n)	10[††]	1[‡‡]	3	5	10	0,03
Poremećaji srčanog ritma (n)	2	1	1	0	3	0,41
Šećerna bolest (n)	5	3	2	2	5	0,397
Inzulinska terapija (n)	0[§§]	1	2	1	1	0,085
Tegobe s kralježnicom (n)	3	3	1	2	3	0,264
PTSP[‖‖] (n)	1	2	2	1	3	0,135
Depresivne epizode (n)	0	1	0	0	1	0,224
Kirurški zahvati u trbuhu[¶¶] (n)	2	0	1	1	0	0,61
≥ 2 popratna pobola (n)	5[***]	3	3	4	7	0,084

[*] ED - erektilna disfunkcija; [†] IQR - interkvartilni raspon (od engl. *interquartile range*); [‡] *P* = 0,029 vs. ED 3, *P* = 0,024 vs. ED 4 (post-hoc Mann-Whitneyjev test); [§] *P* = 0,041 vs. ED 4 (post-hoc Mann-Whitneyjev test); [‖] Kruskal-Wallisov test za numerička obilježja; [¶] IIEF-5 - bodovi upitnika *International Index of Erectile Function-5;* [**] Pearsonov χ^2 test za nominalna obilježja; [††] *P* = 0,014 vs. ED 4 (Fisherov egzaktni test); [‡‡] *P* = 0,013 vs. ED 4 (Fisherov egzaktni test); [§§] *P* = 0,027 vs. ED 2 (Fisherov egzaktni test); [‖‖] PTSP - posttraumatski stresni poremećaj; [¶¶] uključuje samo kolecistektomije i apendektomije; [***] *P* = 0,021 vs. ED 4 (Fisherov egzaktni test).

Razlike u serumskoj koncentraciji VD-a, kao i u ostalim ispitivanim laboratorijskim obilježjima između pojedinih podskupina ED-a, nije bilo osim u koncentraciji kolesterola (*P* = 0,042), i to u *post-hoc* Mann-Whitneyjevom testu između skupina ED 3 i ED 4 (medijan 6,79 vs. 5,27 mmol/l, P = 0,047).

5.4. Usporedba ispitanika bez ED-a i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (2 - 4)

Ako ispitanike s blago izraženim ED-om, kategorizirane s obzirom na rezultat testa IIEF-5, pridružimo ispitanicima bez simptoma ED-a, navedenoj "novoj" kontrolnoj skupini

pripada 34 ispitanika, nasuprot 26 bolesnika s jače izraženim simptomima ED-a. Tablica 5.5. prikazuje klinička obilježja ispitanika nakon navedene podjele.

Tablica 5.5. Usporedba kliničkih obilježja između ispitanika bez ED-a[*] i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (ED 2 - 4) (N = 60)

OBILJEŽJE	ED 0 + 1 (n = 34)	ED 2 - 4 (n = 26)	ukupno	*P*
Dob (medijan [IQR[†]])	53,5 (49 - 60)	58 (52,8 - 62,3)	55,5 (50,3 - 61)	0,057[‡]
ITM[§] (medijan [IQR])	28,09 (25,43 - 30,19)	28,37 (27,05 - 32,69)	28,2 (26,3 - 31,5)	0,26
IIEF-5[‖] (medijan [IQR])	23 (22 - 24)	8,5 (5,8 - 11,3)	18,5 (9,3 - 23)	< 0,001
Pušenje (n)	9	10	19	0,405[¶]
Konzumiranje alkohola (n)	21	15	36	0,795
Tjelesna aktivnost (n)	12	5	17	0,249
Arterijska hipertenzija (n)	11	18	29	0,009
Poremećaji srčanog ritma (n)	3	4	7	0,454
Šećerna bolest (n)	8	9	17	0,396
Inzulinska terapija (n)	1	4	5	0,156
Tegobe s kralježnicom (n)	6	6	12	0,747
PTSP[**] (n)	3	6	9	0,157
Depresivne epizode (n)	1	1	2	> 0,999
Kirurški zahvati u trbuhu[††] (n)	2	2	4	> 0,999
≥ 2 popratna pobola (n)	8	14	22	0,029

[*] ED - erektilna disfunkcija; [†] IQR - interkvartilni raspon (od engl. *interquartile range*); [‡] *P* izračunat Mann-Whitneyjevim testom za numerička obilježja; [§] ITM - indeks tjelesne mase (kg/m^2); [‖] IIEF-5 - bodovi upitnika *International Index of Erectile Function-5*; [¶] *P* izračunat Fisherovim egzaktnim testom za nominalna obilježja; [**] PTSP - posttraumatski stresni poremećaj; [††] uključuje samo kolecistektomije i apendektomije.

Dodavanjem bolesnika s blago izraženim ED-om ispitanicima bez ED-a, vidljiva je pripadnost starijih ispitanika skupinama s jače izraženim ED-om (*P* = 0,057 u univarijatnoj analizi). Također, češća je prisutnost AH (*P* = 0,009), kao i dva ili više popratna pobola (*P* = 0,029) u skupinama ED 2 - 4, dok u ostalim obilježjima nije bilo značajne razlike među skupinama. Multivarijatnom raščlambom, s kovarijatama AH, dobi i prisutnosti dvaju ili više popratnih pobola, nije bilo neovisnih RČ za ED (*P* = 0,351 za dob, *P* = 0,073 za AH i *P* = 0,109 za dva ili više pobola). Analizom razlika u laboratorijskim obilježjima između navedenih skupina, jedina razlika nađena je u serumskoj koncentraciji PTH, gdje su kontrolni ispitanici imali veći PTH u odnosu na skupine ED 2 - 4 (medijan 47,05 vs. 36,65 pg/ml, *P* =

0,013), dok razlike u koncentraciji VD-a nije bilo (*P* = 0,771). Tablica 5.6. prikazuje usporedbu laboratorijskih obilježja između ispitivanih skupina.

Tablica 5.6. Usporedba laboratorijskih obilježja između ispitanika bez ED-a[*] i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (ED 2 - 4) (N = 60)

OBILJEŽJE	ED 0 + 1 (n = 34)	ED 2 - 4 (n = 26)	ukupno	$P^{\dagger}$
Vitamin D (ng/ml)	8,31 (4,8 - 10,85)[‡]	8,46 (4,93 - 12,85)	8,36 (4,84 - 11,67)	0,771
HbA1c[§] (%)	5,6 (5,18 - 6)	5,95 (5,35 - 6,83)	5,8 (5,2 - 6,6)	0,107
Testosteron (nmol/l)	19,47 (14,32 - 24,64)	17,68 (14,11 - 21,67)	18,7 (14,34 - 23,68)	0,676
FSH[‖] (IU/l)	5,35 (3,75 - 7,38)	6,7 (4,2 - 9,83)	5,7 (3,88 - 8,68)	0,124
LH[¶] (IU/l)	3,84 (3,1 - 5,33)	4,43 (3,49 - 6,09)	4,21 (3,2 - 5,7)	0,242
Prolaktin (mIU/l)	160,95 (99,23 - 209,18)	150,3 (116,85 - 195,48)	158,05 (107,28 - 206,33)	0,876
PSA[**] (ng/ml)	0,88 (0,47 - 1,72)	0,65 (0,31 - 0,94)	0,81 (0,41 - 1,19)	0,148
TSH[††] (mIU/l)	1,33 (0,9 - 1,81)	1,55 (0,98 - 2,08)	1,39 (0,92 - 1,92)	0,26
T3[‡‡] (pmol/l)	4,97 (4,62 - 5,48)	5,14 (4,82 - 5,56)	5,07 (4,68 - 5,49)	0,526
T4[§§] (pmol/l)	11,55 (10,26 - 12,24)	10,23 (9,08 - 11,82)	11,18 (9,61 - 12,03)	0,061
PTH[‖‖] (pg/ml)	47,05 (34,6 - 61,55)	36,65 (26,7 - 45,73)	43,6 (29,78 - 54,7)	0,013
Leukociti (x 10^9/l)	6,05 (5,25 - 8,23)	6,82 (5,69 - 7,99)	6,51 (5,35 - 8,1)	0,343
Eritrociti (x 10^{12}/l)	4,64 (4,46 - 4,97)	4,84 (4,55 - 4,96)	4,76 (4,49 - 4,96)	0,633
Hemoglobin (g/l)	145 (139,8 - 153,3)	146 (138,8 - 154,3)	145 (139 - 153,8)	0,87
Hematokrit	0,42 (0,4 - 0,45)	0,42 (0,4 - 0,44)	0,42 (0,4 - 0,44)	0,754
Trombociti (x 10^9/l)	199,5 (183 - 256,5)	212 (159,8 - 227,5)	204.5 (177,3 - 239)	0,433
AST[¶¶] (U/l)	28 (21 - 36)	24 (19 - 31)	26 (21 - 32,8)	0,174
ALT[***] (U/l)	29,5 (20 - 45)	29 (19,5 - 47,3)	29 (20 - 45,8)	0,834
GGT[†††] (U/l)	31 (19,3 - 46,3)	33,5 (19 - 50,5)	32 (19,3 - 46,8)	0,737
AP[‡‡‡] (U/l)	68,5 (60,8 - 79)	77 (61 - 87,3)	72 (61 - 86,8)	0,442
CK[§§§] (U/l)	162,5 (99,3 - 351)	125 (100,3 - 157,3)	143,5 (100 - 218,8)	0,104
Bilirubin (μmol/l)	13 (9,8 - 16,3)	11 (9 - 15)	13 (9 - 15,8)	0,357
Urati (μmol/l)	306 (266,3 - 375)	350 (282,3 - 424,3)	315,5 (276 - 389,3)	0,077
Glukoza (mmol/l)	5,85 (5,28 - 7,35)	6,25 (5,6 - 9,2)	5,95 (5,5 - 8,28)	0,179
Urea (mmol/l)	5,25 (4,18 - 6,4)	5,5 (4,8 - 6,45)	5,3 (4,63 - 6,4)	0,286
Kreatinin (μmol/l)	81 (73,8 - 90,5)	88 (67,8 - 111,5)	83,5 (73 - 97,5)	0,55
hsCRP[‖‖‖] (mg/l)	1,66 (1,12 - 4,27)	1,67 (1,01 - 3,35)	1,66 (1,12 - 4)	0,676
Natrij (mmol/l)	139 (138 - 140)	139 (138 - 141)	139 (138 - 140)	0,739
Kalij (mmol/l)	4,35 (3,9 - 4,5)	4,25 (4 - 4,43)	4,3 (4 - 4,5)	0,799
Kalcij (mmol/l)	2,39 (2,35 - 2,45)	2,36 (2,32 - 2,43)	2,38 (2,32 - 2,43)	0,226
Magnezij (mmol/l)	0,83 (0,76 - 0,87)	0,83 (0,78 - 0,88)	0,83 (0,76 - 0,88)	0,639
Fosfor (mmol/l)	0,95 (0,85 - 1,07)	0,99 (0,85 - 1,1)	0,96 (0,85 - 1,08)	0,743
Kolesterol (mmol/l)	6,13 (5,07 - 6,49)	5,35 (5,11 - 6,29)	5,89 (5,1 - 6,46)	0,236
Trigliceridi (mmol/l)	1,81 (1,3 - 2,52)	1,93 (1,3 - 2,65)	1,84 (1,32 - 2,59)	0,946
HDL[¶¶¶] (mmol/l)	1,22 (0,98 - 1,49)	1,26 (1,11 - 1,62)	1,24 (1,04 - 1,56)	0,317
LDL[****] (mmol/l)	4,24 (3,51 - 4,79)	3,66 (3,18 - 4,16)	3,95 (3,34 - 4,61)	0,13

[*] ED - erektilna disfunkcija; [†] *P* izračunat Mann-Whitneyjevim testom; [‡] Rezultati prikazani medijanom i interkvartilnim rasponom; [§] HbA1c - hemoglobin A1c; [‖] FSH - hormon koji stimulira folikule (od engl. *follicule stimulating hormone*); [¶] LH - luteinizirajući hormon; [**] PSA - prostata specifični antigen; [††] TSH - tireotropin (od engl. *thyroid stimulating hormone*); [‡‡] T3 - trijodtironin; [§§] T4 - tiroksin; [‖‖] PTH - paratireoidni hormon; [¶¶] AST - aspartat transaminaza; [***] ALT - alanin transaminaza; [†††] GGT - gama-glutamil transpeptidaza; [‡‡‡] AP - alkalna fosfataza; [§§§] CK - kreatin kinaza; [‖‖‖] hsCRP - C-reaktivni protein visoke osjetljivosti (od engl. *high-sensitivity C-reactive protein*); [¶¶¶] HDL - lipoprotein velike gustoće (od engl. *high density lipoprotein*); [****] LDL - lipoprotein male gustoće (od engl. low *density lipoprotein*).

Multivarijatnom raščlambom s kovarijatama dobi, AH, dva ili više popratna pobola, serumskom koncentracijom T4, PTH i urata, pronađeni su neovisni RČ ED-a, prikazani u Tablici 5.7.

Tablica 5.7. Multivarijatna raščlamba usporedbe ispitanika bez ED-a[*] i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (ED 2 - 4) (N = 60)

OBILJEŽJE	Exp (B)	95 % CI[†]	*P*[‡]
Dob	1,092	0,972 - 1,227	0,14
Arterijska hipertenzija	5,601	0,988 - 31,737	0,052
≥ 2 popratna pobola	2,294	0,47 - 11,197	0,305
T4[§] (pmol/l)	0,486	0,269 - 0,88	0,017
PTH[‖] (pg/ml)	0,942	0,899 - 0,987	0,012
Urati (μmol/l)	1,016	1,003 - 1,029	0,018

[*] ED - erektilna disfunkcija; [†] CI - interval pouzdanosti (od engl. *confidence interval*); [‡] *P* izračunat Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testom; [§] T4 - tiroksin; [‖] PTH - paratireoidni hormon.

Nadalje, kada se iz analize izuzmu ispitanici s *outlier* vrijednostima PTH, u univarijatnoj su raščlambi ispitanici s izraženijim simptomima ED-a (skupine ED 2 - 4) češće bolovali od AH ($P = 0,008$), dva ili više popratna pobola ($P = 0,015$), češće bili na inzulinskoj terapiji ($P = 0,035$) i imali manje koncentracije PTH ($P = 0,028$). Multivarijatnom se raščlambom, uz izuzete ispitanike, prethodno navedenim neovisnim RČ ED-a "pridružuje" i AH, a rezultati su prikazani u Tablici 5.8.

Tablica 5.8. Multivarijatna raščlamba usporedbe ispitanika bez ED-a[*] i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (ED 2 - 4), uz izuzete ispitanike s "ekstremnim" koncentracijama PTH[†] (N = 58)

OBILJEŽJE	Exp (B)	95 % CI[‡]	*P*[§]
Dob	1,075	0,952 - 1,213	0,245
Arterijska hipertenzija	10,333	1,248 - 85,564	0,03
≥ 2 popratna pobola	2,347	0,401 - 13,73	0,344
HbA1c[‖] (%)	0,839	0,418 - 1,684	0,622
PSA[¶] (ng/ml)	0,505	0,216 - 1,178	0,114
T4[**] (pmol/l)	0,42	0,214 - 0,823	0,012
PTH (pg/ml)	0,942	0,896 - 0,991	0,021
Urati (μmol/l)	1,015	1,002 - 1,029	0,028

[*] ED - erektilna disfunkcija; [†] PTH - paratireoidni hormon; [‡] CI - interval pouzdanosti (od engl. *confidence interval*); [§] *P* izračunat Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testom; [‖] HbA1c - hemoglobin A1c; [¶] PSA - prostata specifični antigen; [**] T4 - tiroksin.

5.5. Usporedba ispitanika umjerenog i teškog ED-a (ED 3 + 4) s ostalim skupinama ED-a

Kako bi dalje proučili moguć utjecaj težine ED-a na rezultate kliničkih i laboratorijskih pokazatelja, ispitanici su sada podijeljeni na one s umjerenim i teškim ED-om (skupine ED 3 i 4, 20 ispitanika) te na kontrolne ispitanike nižih kategorija ED-a. Bolesnici skupine ED 3 i ED 4, odnosno oni s najjače izraženim ED-om, imali su češće AH (*P* = 0,006), češću prisutnost dvaju ili više popratnih pobola (*P* = 0,049), bili su stariji (*P* = 0,006) te višeg ITM-a (*P* = 0,057), dok u ostalim kliničkim obilježjima nije bilo značajne razlike među skupinama. U laboratorijskim obilježjima bolesnici s najtežim ED-om imali su veće koncentracije HbA1c (*P* = 0,043) i FSH (*P* = 0,066) te manje koncentracije PTH (*P* = 0,014; medijan 30,65 vs. 46,3 pg/ml u kontrolnih ispitanika) i bilirubina (*P* = 0,077), dok se koncentracije VD-a i T4 između skupina nisu razlikovale. Multivarijatnom raščlambom, s kovarijatama AH, dobi, ITM-om, prisutnosti dvaju ili više popratnih pobola te koncentracijama HbA1c, FSH, PTH i bilirubina, jedini je neovisni RČ za prisutnost težeg oblika ED-a bila manja koncentracija PTH (*P* = 0,027), uz ukupnu značajnost multivarijatnog testa *P* = 0,011. Rezultat navedene multivarijatne raščlambe, prikazane u Tablici 5.9., značio

bi da se za svako jedinično povećanje koncentracije PTH rizik težih oblika ED-a smanjuje za 5,5 %.

Tablica 5.9. Multivarijatna raščlamba usporedbe ispitanika s umjerenim i teškim ED-om[*] (ED 3 + 4) s ostalim skupinama ED-a (N = 60)

OBILJEŽJE	Exp (B)	95 % CI[†]	*P*[‡]
Dob	1,114	0,982 - 1.264	0,093
ITM[§] (kg/m^2)	1,2	0,924 - 1.558	0,171
Arterijska hipertenzija	0,322	0,061 - 1.702	0,182
≥ 2 popratna pobola	0,325	0,058 - 1.815	0,2
HbA1c[‖] (%)	0,811	0,36 - 1.827	0,614
FSH[¶] (IU/l)	1,052	0,891 - 1.241	0,55
PTH[**] (pg/ml)	0,946	0,9 - 0,994	0,027
Bilirubin (μmol/l)	0,881	0,74 - 1,049	0,156

[*] ED - erektilna disfunkcija; [†] CI - interval pouzdanosti (od engl. *confidence interval*); [‡] *P* izračunat Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testom; [§] ITM - indeks tjelesne mase; [‖] HbA1c - hemoglobin A1c; [¶] FSH - hormon koji stimulira folikule (od engl. *follicule stimulating hormone*); [**] PTH - paratireoidni hormon.

Kada se iz analize izuzmu dvojica ispitanika s *outlier* koncentracijama PTH, u univarijatnoj su raščlambi ispitanici s izraženijim simptomima ED-a (skupine ED 3 i 4) češće bolovali od AH (*P* = 0,005), češće imali dva ili više popratna pobola (*P* = 0,045), bili stariji (*P* = 0,006), imali veće koncentracije HbA1c (*P* = 0,032) i manje koncentracije PTH (*P* = 0,026). Multivarijatnom se raščlambom sada, uz kovarijate AH, dobi i prisutnosti dvaju ili više popratnih pobola, ITM-om, koncentracijama HbA1c, PTH, PSA, FSH i bilirubina nije pronašlo neovisnih RČ za izraženiji ED, premda je rezultat s trendom prema značajnosti bio ponovno za koncentraciju PTH (*P* = 0,058), uz ukupnu značajnost multivarijatnog testa *P* = 0,02.

6. RASPRAVA

6.1. Serumska koncentracija VD-a u ispitanika s ED-om i bez ED-a

Razlike u koncentraciji VD-a između ispitivanih skupina ovog istraživanja, odnosno oboljelih od ED-a i ispitanika bez ED-a, nije bilo (P = 0,894). Pokušavši donekle "ublažiti" kriterij ED-a i ispitanicima bez ED-a dodati bolesnike s blagim simptomima ED-a (skupina ED 1), ni tada, u usporedbi s ostalim podskupinama, nije bilo razlike u koncentracijama VD-a (P = 0,771). Nadalje, ni pri usporedbi bolesnika s najizraženijim simptomima ED-a (skupine ED 3 + 4) i ostalih skupina, razlike u koncentracijama VD-a nije bilo (P = 0,29). Prilikom korištenja proizvoljne *cut-off* vrijednosti 25(OH)D od 10 ng/ml u svrhu podjele ispitanika, nisu nađene razlike u raspodjeli rezultata upitnika IIEF-5, a u skladu s tim ni razlike u prisutnosti ED-a. Isto je vrijedilo i pri korištenju manjih *cut-off* vrijednosti 25(OH)D od 5 ng/ml. Nisu pronađene značajne korelacije između koncentracije VD-a i rezultata upitnika IIEF-5 te jačine izraženosti simptoma ED-a. Pronađene su, pak, negativne korelacije između koncentracija VD-a i jetrenih enzima alanin transaminaze (ALT) i gama-glutamil transpeptidaze (GGT) (Spearmanov rho = - 0,387, uz P = 0,002 za ALT; Spearmanov rho = - 0,334, uz P = 0,009 za GGT), što je suglasno s ranijom poveznicom NVD-a i metaboličkog sindroma, nealkoholne steatoze jetre te povišenja koncentracija jetrenih enzima (76).

Medijan izmjerenih vrijednosti serumske koncentracije 25(OH)D za svih 60 ispitanika ovog istraživanja iznosio je 8,36 ng/ml, uz IQR 4,84 - 11,67 ng/ml. Najmanja izmjerena vrijednost iznosila je 1,18, a najveća 29,92 ng/ml. Prema definiciji hipovitaminoze D, navedenoj u uvodnom poglavlju (podpoglavlje 1.7.), dvojica ispitanika bila su insuficijentnih (21 - 29 ng/ml), a preostalih 58 ispitanika nedostatnih serumskih vrijednosti VD (≤ 20 ng/ml). 39 ispitanika (65 %) imalo je vrijednosti 25(OH)D ispod 10 ng/ml, a 16 ispitanika (27 %) čak ispod 5 ng/ml. Na području Republike Hrvatske istraživanja prevalencije NVD-a dosad su bila usredotočena na populaciju žena u postmenopauzi. Laktašić i suradnici (26) pronašli su vrlo visoku prevalenciju različitih stupnjeva NVD-a u navedenoj populaciji. Insuficijentnih vrijednosti VD-a bilo je 92,5 % ispitanica, nedostatnih 63,3 %, a u teškom deficitu (< 10 ng/ml) bilo je 14,2 % od ukupno 120 ispitanica. Samo je devet ispitanica imalo dostatnu koncentraciju 25(OH)D u krvi, dok je prosječna koncentracija 25(OH)D iznosila 18,8 ng/ml. U kasnijem preglednom članku Laktašić (27) navodi usporedivu prevalenciju NVD-a u

Hrvatskoj s prevalencijom u talijanskih ispitanica, ali i manje prosječne vrijednosti VD-a u Hrvatskoj u odnosu na većinu europskih zemalja. Istraživanja prevalencije NVD-a u muškaraca na području Hrvatske do sada nisu provođena. Pogodan čimbenik za niske izmjerene vrijednosti serumske koncentracije 25(OH)D u našem istraživanju zasigurno je i uzorkovanje tijekom zimskih mjeseci, odnosno u razdoblju vrlo niskog endogenog stvaranja VD-a u koži, neovisno o vremenu izlaganja kože suncu, s obzirom na kosiji zenitni kut upada sunčevih UVB zraka. Ipak, zabrinjavajuć je podatak da nijedan ispitanik nije imao dostatnu vrijednost VD-a od 30 ng/ml ili više (tek jedan ispitanik s vrijednošću 25(OH)D od 29,92 ng/ml).

U studenome 2014. godine, nakon prijave i prihvaćanja teme ove doktorske disertacije, u Journal of Sexual Medicine objavljen je znanstveni rad Barassijeve i suradnika (77) o povezanosti VD-a i ED-a. Autori su proveli istraživanje na 143 ispitanika u dobi između 30 i 60 godina, koji su se javili andrologu zbog ED-a. Osim simptoma ED-a, ispitanici nisu imali drugih popratnih pobola poput AH, koronarne srčane bolesti, aritmije, nisu bili pušači niti su uzimali nadomjesnu terapiju VD-a ili terapiju statinima. Serumsko uzrokovanje u navedenom istraživanju provedeno je tijekom proljeća i ljeta u dvije uzastopne godine (od svibnja do rujna 2011. i 2012. godine). Rezultati istraživanja ukazuju na razliku u koncentracijama VD-a između ispitanika s blagim i ispitanika s teškim ED-om. Dodatnom podjelom ispitanika, na temelju rezultata color doppler analize kavernoznih arterija u bazalnom stanju i nakon intrakavernozne injekcije prostaglandina, izmjerene su manje koncentracije VD-a u ispitanika s "arteriogenim" u odnosu na "nearteriogeni" ED. Pri interpretaciji rezultata navedenog istraživanja, u obzir treba uzeti nekoliko čimbenika. U istraživanje su uključeni samo zdravi ispitanici sa simptomima ED-a, bez popratnih pobola, te nije bilo kontrolne skupine ispitanika bez ED-a. Za procjenu intenziteta ED-a korišten je upitnik IIEF-5, kao i u našem istraživanju, no s donekle izmijenjenim bodovnim kategoriziranjem određenih podskupina (blagi ED 16 - 20 bodova, umjereni ED 11 - 15 bodova, teški ED 5 - 10 bodova te potpuni ED $\leq$ 4 boda), u odnosu na standardnu podjelu (blagi ED 17 - 21 bodova, blagi do umjereni ED 12 - 16 bodova, umjereni ED 8 - 11 bodova te teški ED s rezultatom $\leq$ 7 bodova) (15). Izmjerene veće koncentracije VD-a u odnosu na podatke dobivene našim istraživanjem (medijan 21,3 ng/ml i raspon 5,7 - 52,9 ng/ml vs. medijan 8,36 ng/ml i raspon 1,18 - 29,92 ng/ml) rezultat su različitog sezonskog uzorkovanja između dvaju istraživanja (proljeće/ljeto vs. zimski mjeseci). Tijekom ljetnih mjeseci, kako je prethodno već naglašeno, veća je endogena proizvodnja VD-a, ali postoje i značajne varijacije

u proizvodnji, ovisno o vremenu izlaganja kože suncu (24, 27), što može utjecati na rezultate. Nadalje, koncentracija serumskog 25(OH)D je u istraživanju Barassijeve i suradnika mjerena radioimunoesejom, u usporedbi s HPLC postupkom u našem istraživanju. U uvodnom je dijelu spomenuto da, ovisno o postupku mjerenja VD-a, rezultati mogu varirati od 17,1 do 35,6 ng/ml (28), što otežava interpretaciju rezultata i usporedbu istraživanja različite metodike. Imunoesej može neadekvatno procijeniti sudjelovanje $25(OH)D_2$ frakcije u ukupnoj 25(OH)D koncentraciji te je analiza serumskog VD-a preko HPLC-a ipak superiorna, odnosno daje preciznije rezultate. U našem su istraživanju izmjerene vrijednosti $25(OH)D_2$ pak bile ispod granice kvantifikacije testa, stoga dobivena vrijednost ukupnog VD-a odgovara $25(OH)D_3$ frakciji. Ono u čemu se istraživanje Barassijeve i suradnika ističe jest relativno velik broj ispitanika i korištenje color dopplera kavernoznih krvnih žila kao kliničkog dijagnostičkog testa radi preciznijeg definiranja podvrste ED-a. Kako je u uvodnom dijelu obrazloženo, nekoliko bi bitnih čimbenika o dijagnostici color dopplerom uz intrakavernozne injekcije trebalo uzeti u obzir. Osim u znanstvene svrhe, pretragu DPCD-om trebalo bi omogućiti svim bolesnicima u kojih se planira rekonstruktivni kirurški zahvat zbog ED-a (18), uz preduvjet iskusnog radiologa koji učini barem 200 navedenih pretraga godišnje, radi kvalitetnog izvođenja i interpretacije rezultata pretrage. U svih ostalih bolesnika, upitnik IIEF-5 dostatan je za početnu procjenu ED-a, pogotovo ako se u obzir uzme neinvazivna priroda testa te dostupna i učinkovita prva linija terapije ED-a oralnim inhibitorima PDE-5. Nadalje, u istraživanjima koja koriste i kontrolnu, "zdravu", skupinu ispitanika, raditi DPCD uz intrakavernoznu injekciju prostaglandina bi u najmanjoj mjeri otežalo prikupljanje dostatnog broja kontrolnih ispitanika, a pitanje je pristanka i oboljelih od ED-a ako im se objasni da navedena pretraga najvjerojatnije neće utjecati na poboljšanje simptoma, ishod ili odabir oblika liječenja. Injekcija prostaglandina u penis, osim rizika razvoja lokalnog podljeva na mjestu primjene i u pravilu blažih sustavnih nuspojava, sa sobom nosi i rizik prijapizma koji može dovesti do trajnog ED-a. Značajan postotak uzroka prijapizma, koji je relativno rijetka urološka "bolest", jest upravo ijatrogen zbog intrakavernoznog liječenja ED-a prostaglandinima (78). Tako istraživanje Martinez Portilla i suradnika (79), gdje je od 25 uzastopnih bolesnika liječenih zbog prijapizma u njih 22 uzrok prijapizmu bio prethodna intrakavernozna farmakoterapija, najbolje ilustrira nezanemariv rizik pri ovakvom obliku liječenja, a time predstavlja i stvarnu mogućnost da se našteti zdravim sudionicima znanstvenog istraživanja, što je neprihvatljivo. Iz navedenog razloga, u našem istraživanju nije korišten DPCD. Mogući razlog različitih rezultata našeg i istraživanja Barassijeve i

suradnika može biti upravo zbog navedenih različitosti u metodici između dvaju istraživanja koje onemogućavaju povlačenje odgovarajućih poveznica.

6.2. Glikemija, ED i NVD

Ukupno je 17 ispitanika (28 %) bolovalo od jednog od oblika ŠB-a, i to 5 od 28 ispitanika bez ED-a (18 %) i 12 od 32 ispitanika oboljelih od ED-a (38 %). Nisu pronađene značajne razlike u prisutnosti ŠB-a između ispitivanih skupina (P = 0,15). Među oboljelima od ŠB-a, 29 % ispitanika bilo je na inzulinskoj terapiji, od kojih je svih petero ispitanika pripadalo skupini oboljelih od ED-a (P = 0,055). U odnosu na kontrolnu skupinu, ispitanici s ED-om imali su veće koncentracije GUK-a i HbA1c (P = 0,038 za oba obilježja), odnosno lošije reguliranu glikemiju. Prilikom regrupiranja skupina, odnosno pri usporedbi ispitanika umjerenog i teškog ED-a (skupine ED 3 + 4) s ostalim skupinama ED-a, vrijednosti HbA1c bile su veće u ispitanika s najtežim ED-om (P = 0,032).

ŠB je značajan pretkazatelj SŽB-a za koje nosi povećan rizik za oko 2,5 puta (80). Patofiziološki, ŠB pogoduje SŽB-u preko END-a. Povišene koncentracije GUK-a inihibiraju proizvodnju NO, što ometa odgovarajuću vazodilataciju i vodi u aterosklerozu poticanjem vazokonstrikcije, upale i tromboze, proliferacije glatkog mišićja krvnih žila i ekspresije adhezivnih molekula na endotelu te aktivacijom trombocita i smanjenjem fibrinolize (39). I u tipu I i II ŠB-a povišena glikemija dovodi do navedenog procesa, a promjene se događaju kako u cerebralnim i koronarnim, tako i u promjerom manjim penilnim krvnim žilama, što je prethodno obrazloženo. Navedena su zapažanja potvrđena istraživanjima na tipu I i II ŠB-a. Nedavno učinjenom metaanalizom (81) dokazano je da je bolja dugoročna kontrola glikemije u oboljelih od ŠB-a tipa I povezana s manjom učestalošću i odgodom javljanja mikrovaskularnih komplikacija bolesti. Awad i suradnici (59) zaključuju kako je kontrola glikemije (mjerena i izražena vrijednostima HbA1c) u oboljelih od tipa II ŠB-a inverzno povezana s ED-om, čiji je i neovisni RČ. I u rezultatima našeg istraživanja pronađena je negativna povezanost između rezultata upitnika IIEF-5 i koncentracije HbA1c i GUK-a. Zbog zajedničkog patofiziološkog nastanka preko END-a, ED je zapravo entitet u sklopu ostalih SŽB-a te povezanost ŠB-a i ED-a ne iznenađuje. Prethodno spomenuti manji promjer penilnih krvnih žila predisponira javljanje ED-a u oboljelih od ŠB-a 10 - 15 godina ranije u odnosu na

normoglikemične osobe (39, 60). Također, oboljeli od ŠB-a imaju 3 do 4 puta veći rizik uopće i razviti simptome ED-a (61). Osim END-a, na razvoj ED-a u oboljelih od ŠB-a utječu i specifične komplikacije ŠB-a, endokrini poremećaji, ali i psihički čimbenici te je stoga etiologija ED-a u navedenoj populaciji bolesnika višestruka (82).

ŠB je u brojnim dosadašnjim istraživanjima izravno doveden u vezu s VD-om, ali i sa surogatom sinteze VD-a, odnosno s izloženošću sunčevom UVB zračenju. Pronađene su sezonske varijacije u kontroli glikemije u oboljelih od tipa II bolesti, gdje su koncentracije HbA1c bile manje tijekom ljetnih mjeseci u odnosu na zimsko razdoblje (65). Nadalje, izlaganje tijela UVB zračenju uzrokovalo je porast sekrecije inzulina (66). Proučavanjem utjecaja nadoknade VD-a oralnom suplementacijom u ranom djetinjstvu, uočena je smanjena incidencija javljanja tipa I ŠB-a tijekom sljedećih trideset godina života (relativan rizik od 0,22) u odnosu na djecu koja nisu uzimala dostatnu, odnosno preporučenu nadoknadu (83). Kasnije učinjene dvije metaanalize (84, 85) opservacijskih istraživanja parova i kohortnih istraživanja s istom temom, iznose također smanjenu incidenciju javljanja tipa I bolesti u djece u koje je provođena suplementacija, no s manjim zajedničkim relativnim rizikom (0,71) i napomenom o nedostatku randomiziranih kontroliranih istraživanja koje, s obzirom na proučavanu populaciju, ne možemo ni očekivati. Daljnji dokaz povezanosti VD-a i glikemije je u dvostruko slijepom randomiziranom istraživanju (63), gdje je više od 300 odraslih zdravih osoba, izuzevši prisutnost intolerancije glukoze, tijekom tri godine dnevno primalo ili placebo ili 500 mg kalcijeva citrata i 700 IU vitamina D_3. Ispitanici koji su primali placebo imali su za 15 puta veći porast glikemije te za 18 puta veći porast rezistencije na inzulin u odnosu na ispitanike koji su primali suplementaciju. U drugom je, pak, placebom kontroliranom istraživanju dokazano 37-postotno poboljšanje sekrecije inzulina, odnosno indirektno poboljšanje funkcije β-stanica gušterače u ispitanika koji su primali suplementaciju vitaminom D_3 (86). Zaključak nedavno učinjene metaanalize 11 prospektivnih istraživanja dovodi incidenciju tipa II ŠB-a u inverznu vezu sa serumskom koncentracijom 25(OH)D, sugerira smanjenje rizika obolijevanja za 41 % u slučaju vrijednosti kalcidiola iznad 32 ng/ml u odnosu na vrijednosti manje od 19,5 ng/ml, no navodi i manjak randomiziranih istraživanja o navedenoj temi (67).

U nedavno objavljenom istraživanju (87) na 92 oboljela od ŠB-a tipa II, ispitanici manjih koncentracija 25(OH)D (< 10 ng/ml) imali su lošiji rezultat upitnika IIEF-5 u odnosu na ispitanike s vrijednostima 25(OH)D > 20 ng/ml. Koncentracija 25(OH)D pozitivno je korelirala s rezultatom IIEF-5, a u multivarijatnoj je raščlambi NVD ostao neovisni RČ ED-a

u toj populaciji bolesnika. Slična je podjela ispitanika, korištenjem *cut-off* vrijednosti 25(OH)D, pokušana i u našem istraživanju no, s obzirom na uzorkovanje u zimskim mjesecima i na dobivene vrlo niske koncentracije VD-a (39 ispitanika s 25(OH)D < 10 ng/ml, 16 ispitanika < 5 ng/ml), to nije rezultiralo značajnom razlikom u raspodjeli rezultata upitnika IIEF-5 među skupinama.

U rezultatima našeg istraživanja serumska koncentracija VD-a nije korelirala s glikemijom i koncentracijom HbA1c, uzevši sve ispitanike u obzir. Međutim, ako se usporede ispitanici sa ŠB-om i bez ŠB-a, postaje vidljiva razlika u koncentraciji VD-a i u rezultatu upitnika IIEF-5 između dviju navedenih populacija ispitanika. Tako su oboljeli od ŠB-a imali znatno lošiju erektilnu funkciju, odnosno lošiji rezultat upitnika IIEF-5 (medijan 15; IQR 5,5 - 22) u odnosu na ispitanike bez ŠB-a (medijan 22; IQR 10 - 24), P = 0,028. Nadalje, u oboljelih od ŠB-a pronađene su značajno manje koncentracije VD-a (medijan 6,09 ng/ml; IQR 3,5 - 9,6 vs. medijan 8,72 ng/ml; IQR 5,8 - 12,7), P = 0,048, dok razlike u ITM nije bilo. Kako bi dalje istražili navedene odnose, uspoređeni su ispitanici koji su bolovali i od ŠB-a i od ED-a (12 ispitanika) sa svim ostalim ispitanicima, što je rezultiralo pronađenim manjim koncentracijama VD-a (medijan 5 ng/ml; IQR 3,4 - 8,3 vs. medijan 8,74 ng/ml; IQR 5,9 - 12), P = 0,034 i lošijim rezultatom upitnika IIEF-5 (medijan 8,5; IQR 5 - 16,5 vs. medijan 22; IQR 11 - 24), P = 0,001 u tih bolesnika, dok po dobi nije bilo razlike (P = 0,579). Navedeni su rezultati u suglasju s dosadašnjim, prethodno spomenutim spoznajama i ilustriraju kako u relativno homogenoj populaciji oboljelih od ŠB-a ipak postoji poveznica između NVD-a i ED-a. U toj bi se skupini bolesnika intervencijskim istraživanjima moglo pokušati utjecati na ED oralnom nadomjesnom terapijom VD-om, uz pretpostavku da bi rezultirajuća veća serumska koncentracija VD-a djelovala pozitivno na erektilnu funkciju. Usporedbom erektilne funkcije prije i nakon nadomjesne terapije VD-om, po mogućnosti uz kontrolnu skupinu ispitanika koji bi primali inhibitore PDE-5 kao trenutni zlatni standard u terapiji ED-a, mogao bi se utvrditi eventualni stvarni utjecaj VD-a na simptome ED-a. S obzirom na izmjerene vrlo niske koncentracije VD-a u ukupnoj proučavanoj populaciji ispitanika te brojne dobrobiti dostatnog serumskog VD statusa na opće zdravlje, ni ostalim ispitanicima istraživanja nadomjesna terapija VD-om ne bi bila na odmet.

6.3. Poveznica dobi, erektilne funkcije i NVD-a

Ispitanici uključeni u istraživanje bili su prosječne dobi 55,5 godina, s rasponom od 42 do 74 godine, bez značajne razlike u dobi između oboljelih od ED-a i kontrolne skupine (P = 0,295). Dob je bitan RČ ED-a, čak neovisan o ostalim RČ-ima koji prate stariju životnu dob poput većeg broja popratnih pobola, polipragmazije i slabije tjelesne aktivnosti. Uzevši u obzir patofiziološki mehanizam nastanka ED-a koji neizostavno uključuje END, ne iznenađuje činjenica da starenjem cijelog organizma "stare" i krvne žile, što je vidljivo i u ostalih SŽB-a, čija incidencija također raste s dobi. Epidemiološki to potvrđuje *Massachusetts Male Aging* istraživanje, gdje je ukupna prevalencija ED-a u bolesnika u dobi između 40 i 70 godina iznosila 52 %, a jačina izraženosti simptoma ED-a rasla je porastom dobi te se prevalencija izrazitog ED-a utrostručila u najstarijih ispitanika navedenog istraživanja. Također, dob ispitanika obilježje je koje je najizrazitije utjecalo na pojavnost ED-a (60).

I u rezultatima ovog istraživanja dob je značajno pozitivno korelirala s jačinom izraženosti simptoma ED-a (Spearmanov rho = 0,255, uz P = 0,05) te negativno s ukupnim rezultatom upitnika IIEF-5 (Spearmanov rho = - 0,271, uz P = 0,037), premda nije bilo razlike u dobi između oboljelih od ED-a i kontrolne skupine, što je već spomenuto, ni prilikom podjele ispitanika po skupinama s obzirom na jačinu izraženosti simptoma ED-a (P = 0,068), iako je postojao trend pripadnosti starijih ispitanika skupinama jače izraženog ED-a (skupine ED 3 i 4). Navedeni je trend nadalje vidljiv dodavanjem bolesnika s blago izraženim ED-om ispitanicima bez ED-a (skupine ED 0 + 1), uz P = 0,057 u univarijatnoj analizi, što se međutim "gubi" multivarijatnom raščlambom (P = 0,14). Prilikom usporedbe ispitanika umjerenog i teškog ED-a (skupine ED 3 + 4) s ostalim skupinama ED-a, starija dob sada je značajno na strani ispitivane skupine (P = 0,006), no ponovno bez značajnosti prilikom multivarijatne raščlambe (P = 0,093). Nadalje, dob je pozitivno korelirala i s prisutnošću AH (Spearmanov rho = 0,348, uz P = 0,006), koja je otprije poznati neovisni RČ ED-a, što su potvrdili i sadašnji rezultati, a o čemu će riječi biti kasnije.

Što se tiče poveznice između dobi i serumske koncentracije VD-a, u dosadašnjim je istraživanjima istaknuta inverzna povezanost, odnosno "lošiji" VD status u starijih ljudi. Porastom dobi osoba se manje kreće, smanjeno je izlaganje kože suncu, ali najvažniji utjecaj na smanjeno stvaranje VD-a u starijih osoba jest upravo u "endokrinom" organu. Koža dvadesetogodišnjaka ima tri puta veću sposobnost stvaranja previtamina D_3 u koži, u odnosu na sedamdesetogodišnjaka (27, 88). Atrofične promjene kože u starijih osoba i smanjena

raspoloživost 7-dehidrokolesterola iz epidermisa, prekursora previtamina D_3, razlog su navedene pojave (24, 25, 27). Zbog svega navedenog, najveća prevalencija NVD-a upravo je i zabilježena u starijih institucionaliziranih osoba (89).

U našem je, pak, istraživanju dob pozitivno korelirala sa serumskom koncentracijom VD-a (Spearmanov rho = 0,298, uz *P* = 0,021), dok nije bilo značajnih korelacija između dobi i koncentracija PTH, kalcija, magnezija i fosfora. Iako ovako oprečan rezultat iznenađuje, ipak nije neobjašnjiv. Ispitivana populacija pripada stanovništvu Slavonije i Baranje, poljoprivredno najrazvijenijem dijelu Hrvatske, gdje je donekle specifično da osobe starije životne dobi provode više vremena na otvorenomu, radeći u svojim vrtovima, dvorištima ili na njivama te se može pretpostaviti da su na taj način dulje izloženi UVB zračenju. Mlađe osobe, naprotiv, sve više vremena provode u zatvorenom, žive "zapadnjačkim", sjedilačkim načinom života, što je pogotovo izraženo u posljednjih dvadesetak godina internetske revolucije. Eventualnu bi potvrdu ovih zapažanja o mogućim uzrocima pozitivne povezanosti između dobi i koncentracije VD-a trebalo potražiti u novim epidemiološkim istraživanjima koja bi po mogućnosti usporedila i različite hrvatske regije i vrijeme provedeno na otvorenomu.

U isključivo zdravih osoba hipotalamičko-hipofizno-gonadalna osovina može održavati urednu funkciju unatoč starenju, no u široj, "uobičajenoj" populaciji ljudi s popratnim pobolima, prevalencija hipogonadizma raste s dobi (90). U ovom je istraživanju dob pozitivno korelirala s koncentracijama LH (Spearmanov rho = 0,355, uz *P* = 0,005) i FSH (Spearmanov rho = 0,299, uz *P* = 0,02), dok nisu pronađene značajne korelacije između dobi i koncentracije testosterona (Spearmanov rho = 0,065, uz *P* = 0,621), što je sukladno prethodnim istraživanjima i govori u prilog još uvijek kompenziranom hipogonadizmu u starijih, gdje povišene koncentracije pituitarnih hormona održavaju normalnu koncentraciju testosterona. U usporedbi ispitivanih skupina s obzirom na ED nije bilo razlika u koncentracijama hormona hipofizno-gonadalne osovine (FSH, LH, prolaktin, testosteron; Tablice 5.2. i 5.6.).

6.4. ITM i NVD

U ovom istraživanju ispitanici su bili visokog ITM-a (medijan 28,2; IQR 26,3 - 31,5), bez značajne razlike između ispitivanih skupina, odnosno oboljelih od ED-a i kontrolne

skupine (P = 0,589). U prethodnim je istraživanjima pretilost povezana s manjkom serumskog VD-a, pogotovo kod ITM-a većega od 30 kg/m^2 (23, 27, 91). Zbog pohrane sintetiziranog VD-a u obilnijem masnom tkivu, smanjena je njegova bioraspoloživost (91), a i smanjena pokretljivost pretilih osoba pridonosi razvoju NVD-a. Pretile osobe nakon izlaganja kože suncu postižu za 57 % manju koncentraciju 25(OH)D u odnosu na osobe normalne tjelesne mase, što ilustrira navedenu smanjenu bioraspoloživost VD-a, pogotovo ako uzmemo u obzir da je u epidermisu pretilih sadržaj 7-dehidrokolesterola i sposobnost konverzije u previtamin D_3 jednaka kao i u osoba normalne tjelesne mase (91). Osim s manjkom serumskog VD-a, pretilost je dovedena u vezu i s povišenim vrijednostima PTH. Tako su Snijder i suradnici (92) na velikom broju ispitanika pokušali potvrditi do tada samo u malim istraživanjima parova pronađenu povezanost pretilosti i serumske koncentracije VD-a. Na 453 ispitanika starijih od 65 godina provedena su antropometrijska mjerenja, uključujući i ITM, ali i procjena ukupnog tjelesnog postotka masnog tkiva pomoću dvoenergijske rendgenske denzitometrije (DXA, od engl. *dual energy X-ray absorptiometry* - apsorpciometrija pomoću X-zraka dviju različitih energija). Na takav precizan način mjerenja udjela ukupne tjelesne masti zaključno je pronađena inverzna povezanost postotka tjelesne masti s koncentracijom 25(OH)D i pozitivna povezanost s koncentracijom PTH. Povezanosti su bile slabije izražene prilikom antropometrijskih mjerenja u usporedbi s DXA, što označava specifičnu ulogu masnog tkiva u "skrivanju" VD-a od vlastitog organizma. Pitroda i suradnici (93) su, pak, također pomoću postupka DXA, zaključili da serumska koncentracija PTH raste za oko 0,4 pmol/l za svaki 10-jedinični porast postotka tjelesne masti iz za sada njima nepoznatog razloga.

U rezultatima našeg istraživanja nisu pronađene povezanosti između ITM-a i koncentracije VD-a, kao ni između ITM-a i koncentracije PTH. Jedina pronađena poveznica jest statistički značajna pozitivna korelacija, ali slabe snage između ITM-a i koncentracije PTH, no samo ako se isključe dvojica ispitanika s *outlier* vrijednostima PTH (Spearmanov rho = 0,276, uz P = 0,036). Razlog navedenim rezultatima može biti upravo u korištenju ITM-a, a ne npr. DXA, koji se pokazao kao prikladniji i precizniji alat u procjeni ukupne tjelesne masti, a indirektno i u procjeni pohranjenoga za organizam neraspoloživog VD-a.

6.5. Analiza serumske koncentracije PTH u ispitanika s ED-om i bez ED-a

Analiza serumske koncentracije PTH uključena je u istraživanje zbog uske povezanosti s djelovanjem VD-a u ljudskom organizmu i utjecaja na homeostazu kalcija. Ovim istraživanjem izmjerene su veće koncentracije PTH u kontrolnih ispitanika u odnosu na oboljele od ED-a, a radilo se o većinom normalnim vrijednostima PTH, odnosno vrijednostima unutar referentnog raspona.

PTH je polipeptidni hormon koji luče glavne stanice paratireoidnih žlijezda, ponajprije stimulirane niskom serumskom koncentracijom kalcija, ali i pri visokoj koncentraciji fosfata. Glavna uloga PTH u organizmu jest održavanje homeostaze serumske koncentracije kalcija, i to preko utjecaja na kost, bubreg i tanko crijevo. Indirektnom stimulacijom osteoklasta interakcijom s osteoblastima, PTH djeluje na pojačanu resorpciju kalcija iz kosti. Nadalje, u distalnim tubulima i sabirnim kanalićima bubrega PTH djeluje na reapsorpciju kalcija i pojačano izlučivanje fosfora mokraćom. Stimulacijom enzima odgovornog za 1-alfa hidroksilaciju kalcidiola u bubrezima, PTH potiče konverziju 25(OH)D u aktivni oblik VD-a, odnosno $1,25(OH)_2D$, koji potom djeluje na pojačanu apsorpciju kalcija u crijevima (94-96).

Sekundarni hiperparatireoidizam u bolesnika s kroničnim bubrežnim zatajenjem opširno se proučava te je čak doveden u vezu i s ED-om. U kroničnih bubrežnih bolesnika često se nalaze povišene koncentracije prolaktina u krvi (97), a upravo je sekundarni hiperparatireoidizam s povišenom sekrecijom PTH mogući uzrok hiperprolaktinemije jer je dokazano da infuzija PTH u zdravih muškaraca povećava sekreciju prolaktina (98). Hiperprolaktinemija, pak, smanjenjem koncentracije serumskog testosterona i gubitka libida može dovesti do ED-a (99). Dodatna potvrda navedene hipoteze povezanost je između smanjenja serumske koncentracije PTH liječenjem vitaminom D_3 s oporavkom erektilne funkcije u bolesnika na kroničnom programu dijalize (100). Zaključak navedenih istraživanja jest moguća uloga povišenih koncentracija PTH, odnosno sekundarnog hiperparatireoidizma u etiologiji ED-a u bolesnika na dijalizi.

Drugo, pak, presječno multinacionalno istraživanje (101) prevalencije i RČ ED-a u 946 muških ispitanika na kroničnom programu hemodijalize, s povišenim koncentracijama PTH, odgovarajući kroničnom bubrežnom zatajenju (medijan 286 pg/ml, raspon 170 - 468 pg/ml), ne nalazi poveznicu između koncentracije PTH i ED-a.

U našem istraživanju među ispitanicima nije bilo kroničnih bubrežnih bolesnika, pogotovo onih kojima je neophodno liječenje hemodijalizom (medijan koncentracije

kreatinina svih ispitanika 83,5 μmol/l, uz IQR 73 - 97,5 μmol/l). U kontrolne skupine ispitanika bez ED-a, koji se nisu razlikovali u koncentracijama kreatinina od oboljelih od ED-a, izmjerene su veće koncentracije PTH u odnosu na oboljele od ED-a (medijan 47,2 vs. 38,55 pg/ml, P = 0,037). Koncentracija PTH pozitivno je korelirala s rezultatom upitnika IIEF-5 (Spearmanov rho = 0,289, uz P = 0,025), što znači da je veća serumska koncentracija PTH povezana s boljom erektilnom funkcijom. Nisu pronađene značajne korelacije između PTH i dobi, ITM-a, koncentracije kreatinina, kalcija, fosfora i VD-a te koncentracije testosterona, FSH, LH, T4 i prolaktina. S obzirom na to da su dvojica ispitanika (jedan ispitanik iz kontrolne skupine s koncentracijom PTH 471,4 pg/ml te jedan ispitanik s ED-om i koncentracijom PTH od 132,1 pg/ml) imala "ekstremno" visoke vrijednosti PTH, detektirane pomoću dvosmjernog *outlier* testa za višestruke *outliere*, oni su isključeni iz daljnje analize. Medijan vrijednosti PTH svih ispitanika na taj je način iznosio 42,45 pg/ml, uz IQR od 29,7 do 53,43 pg/ml. Unatoč isključenju ispitanika s povišenim vrijednostima PTH, značajnost razlike u koncentraciji PTH među ispitivanim skupinama bila je još i veća (medijan kontrolne skupine 46,8 vs. 38 pg/ml u oboljelih od ED-a, P = 0,031; Slika 5.2.). Ispitivanjem korelacija, uz navedene isključene ispitanike, koncentracija PTH i dalje je pozitivno korelirala s rezultatom upitnika IIEF-5 (Spearmanov rho = 0,271 uz P = 0,04), dok između PTH i dobi, koncentracije kreatinina, kalcija, fosfora i VD-a te koncentracije testosterona, FSH, LH, T4 i prolaktina nije bilo značajnih korelacija. Dodatno, koncentracija PTH pozitivno je korelirala s ITM-om (Spearmanov rho = 0,276, uz P = 0,036), što je obrazloženo u podpoglavlju 6.4.

U već analiziranom znanstvenom radu Barassijeve i suradnika (77), čiji je koncept istraživanja uključivao i određivanje koncentracije PTH, također kemiluminiscentnim imunoesejom kao i u našem istraživanju, nisu pronađene značajne razlike u koncentracijama PTH između proučavanih skupina ED-a. Treba naglasiti da navedeno istraživanje nije uključivalo kontrolnu skupinu ispitanika bez ED-a, što je mogući razlog različitog rezultata između dvaju istraživanja. Autori su pronašli negativnu korelaciju PTH s koncentracijom VD-a, koja je bila jače izražena u ispitanika s koncentracijom 25(OH)D < 20 ng/ml u odnosu na ispitanike s koncentracijom VD-a iznad 30 ng/ml. Drugo je, pak, istraživanje (102) pokušalo odrediti prijelomnu vrijednost VD-a, pri kojoj je najizraženija "klasična" negativna povezanost između koncentracija PTH i VD-a, odnosno koncentraciju 25(OH)D pri kojoj je najizraženija supresija PTH. Ispitivanjem 1319 muškaraca i žena dobi od 65 do 88 godina pronađen je postupan pad prosječne koncentracije serumskog PTH sa 48,57 pg/ml kada je vrijednost 25(OH)D bila ispod 10 ng/ml na 29,52 pg/ml pri koncentraciji 25(OH)D iznad 30

ng/ml, bez dostizanja platoa. U odsutnosti podataka o izravnom *dose-response* utjecaju VD-a na zdravlje, poželjna maksimalna supresija PTH, pogotovo u osoba starijih od 60 godina, jest surogat optimalnog VD statusa jer veće koncentracije PTH dovode do resorpcije kosti i gubitka koštane mase. I brojna druga istraživanja pokušala su odrediti prijelomnu koncentraciju VD-a za maksimalnu supresiju PTH, koja je zapravo mjera optimalnog statusa VD-a, no prijelomna je vrijednost varirala od 10 do 50 ng/ml (103). Razlozi navedene varijabilnosti su, osim razlika u metodici istraživanja i postupcima serumske analize, utjecaj dobi, rase, spola i geografskog područja istraživane populacije na odnos između PTH i 25(OH)D (104). Nadalje, većina je istraživanja proučavala utjecaj odnosa dvaju hormona na "koštano" zdravlje u starijih bolesnika, što je i rezultiralo definiranjem optimalnih koncentracija VD-a, ali nisu sva istraživanja uzela u obzir smanjenu crijevnu apsorpciju kalcija i pogoršanje bubrežne funkcije starenjem te unos kalcija u organizam, što svakako utječe na odnos PTH i 25(OH)D.

U istraživanju (87) koje je dokazalo povezanost NVD-a s ED-om, u oboljelih od ŠB-a tipa II nije pronađena razlika u koncentracijama PTH između oboljelih od ED-a i kontrolne skupine bez ED-a, kao ni između pojedinih podskupina ED-a (P = 0,95). Nadalje, nisu zabilježene značajne korelacije između koncentracija 25(OH)D i PTH, kalcija i fosfora, kao ni u našem istraživanju.

Razlozi navedenog odnosa VD-a i PTH, odnosno u našem istraživanju pronađenih povišenih koncentracija PTH u ispitanika bez ED-a, mogu se pokušati objasniti utjecajem ostalih čimbenika na navedeni odnos, poput unosa kalcija hranom. Skupina islandskih autora (105) je u presječnom istraživanju na 2310 zdravih odraslih osoba proučavala utjecaj unosa kalcija hranom i vrijednosti VD-a na serumsku koncentraciju PTH. Rezultati sugeriraju da dovoljne vrijednosti VD-a osiguravaju "idealno niske" koncentracije PTH, čak i kada je unos kalcija manji od 800 mg na dan, dok visok unos kalcija (> 1200 mg na dan) ne osigurava navedenu "idealnu" vrijednost PTH sve dok je koncentracija VD nedostatna. Povećan unos kalcija hranom može unatoč tome ipak smanjiti porast PTH koji prati nedostatnost koncentracija VD-a i omogućavati donekle nižu koncentraciju 25(OH)D za održavanje "idealnog" serumskog PTH. Zaključak navedenog istraživanja je da unos kalcija utječe na serumske koncentracije PTH samo u ispitanika niskog VD statusa. Ako navedeno imamo na umu, uz našim istraživanjem dobivene vrlo niske koncentracije VD-a (dvojica ispitanika insuficijentnih, svi ostali nedostatnih serumskih koncentracija VD-a) te povišene koncentracije PTH u ispitanika bez ED-a, moguć je utjecaj povećanog unosa kalcija hranom

na smanjen porast PTH u skupini oboljelih od ED-a u odnosu na ispitanike bez ED-a i rezultirajuću razliku među skupinama. Vrlo niske koncentracije VD-a ne mogu stoga odgovarajuće suprimirati PTH bez "pomoći" unosa kalcija hranom što, nažalost, nije uključeno u analizu.

Drugo moguće objašnjenje pronađenih povišenih (no i dalje unutar referentnih vrijednosti) koncentracija PTH u ispitanika bez ED-a je pretpostavljena očuvana negativna povratna sprega između VD-a i PTH. Naime, kako je u svih ispitanika istraživanja izmjerena vrlo niska koncentracija VD-a, može se očekivati kompenzatorni porast PTH koji fiziološki pokušava, stimulacijom enzima odgovornog za 1-alfa hidroksilaciju kalcidiola u bubrezima i konverzijom 25(OH)D u aktivni oblik VD-a, održati homeostazu VD-a i posljedično serumske koncentracije kalcija. Razlog pronađene razlike između ispitanika bez ED-a i s ED-om može biti posljedica još uvijek očuvane negativne povratne sprege VD - PTH u “zdravih” ispitanika, dok je u oboljelih od ED-a takva “normalna” sprega narušena.

Treće, pak, objašnjenje povišenih koncentracija PTH u ispitanika bez ED-a značilo bi eventualnu izravnu povezanost PTH s ED-om, za što do sada nema sličnih dokaza, osim u populaciji kroničnih bubrežnih bolesnika. U prilog navedenome govori i multivarijatna raščlamba prikazana u Tablici 5.3., gdje se koncentracija PTH pokazala kao neovisni RČ ED-a (P = 0,045), smanjujući svakim jediničnim povećanjem rizik ED-a za 4 %. Sličan je rezultat dobiven i za koncentraciju T4 (P = 0,046), no s dosta velikim rasponom pouzdanosti, što dovodi u pitanje značajnost rezultata, najvjerojatnije zbog potrebe za većim uzorkom. Prilikom regrupiranja skupina, odnosno dodavanjem bolesnika s blago izraženim ED-om (skupina ED 1) ispitanicima bez ED-a (skupina ED 0) te uspoređujući novonastalu skupinu s ostalim skupinama ED-a, koncentracija PTH ponovno je bila manja pri jače izraženim simptomima ED-a, i to u univarijatnoj (P = 0,028) i multivarijatnoj raščlambi (P = 0,021). Nadalje, pri usporedbi ispitanika umjerenog i teškog ED-a (skupine ED 3 + 4) s ostalim skupinama ED-a, manje koncentracije PTH (P = 0,026) ponovno su zabilježene u skupini s jače izraženim ED-om. U multivarijatnoj raščlambi sada nije pronađen neovisni RČ za izraženiji ED, premda je rezultat "najbliži" značajnosti bio ponovno za PTH (P = 0,058).

6.6. Hormoni štitnjače i ED

Interpretacijom rezultata našeg istraživanja ispitanici su bili eutireoidni, u koncentracijama T4 nije pronađeno bitnih odstupanja od referentnog intervala vrijednosti (7,9 - 14,2 pmol/l), odnosno nije pronađeno značajnih odstupajućih vrijednosti *outlier* testom (*Rosnerov Extreme Studentized Deviate* test). Kontrolna skupina ispitanika bez ED-a imala je veće koncentracije T4 (medijan 11,55 vs. 10,28 pmol/l, $P = 0,059$) u odnosu na oboljele od ED-a, dok se skupine nisu razlikovale po koncentracijama TSH ($P = 0,136$) i T3 ($P = 0,614$) niti su pronađene značajne korelacije između T3, T4 i TSH. Nakon što su skupine korigirane, odnosno isključena dvojica bolesnika s odstupajućim vrijednostima PTH (o čemu je već bilo govora), razlika u koncentraciji T4 između skupina bila je još i veća ($P = 0,035$) u univarijatnoj te u multivarijatnoj raščlambi ($P = 0,046$), no s dosta velikim rasponom pouzdanosti (Tablica 5.3.) te se i prilikom usporedbe ispitanika bez ED-a i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (ED 2 - 4) koncentracija T4 pokazala kao protektivni čimbenik za ED (Tablica 5.8.).

Distireoidizam, odnosno poremećaji funkcije štitnjače koji uključuju i hipertireoidizam i hipotireoidizam, uobičajeno se povezuju sa smetnjama erektilne funkcije, premda su tek nedavno provedena istraživanja o navedenim poveznicama (106). Zabilježeni su značajno lošiji rezultati upitnika IIEF-5 u hipotireoidnih u odnosu na eutireoidne ispitanike (107). Autori drugog istraživanja pokušali su odrediti poveznice između tireoidne i erektilne funkcije i objedinjavanjem vlastitih ispitanika s velikim multicentričnim *European Male Ageing* istraživanjem, dobili su ukupno više od 6500 ispitanika. Klinički i hormonski jasan hipertireoidizam u tom istraživanju bio je povezan s povećanim rizikom za ED, dok poveznice između primarnog hipotireoidizma i ED-a nisu pronađene (108).

Rezultati dobiveni našim istraživanjem, odnosno povišene koncentracije T4 u ispitanika bez ED-a, trebali bi se interpretirati imajući na umu da se radi o eutireoidnoj populaciji jer hipertireoidizam zasigurno ne djeluje pozitivno na erektilnu funkciju. Nadalje, unatoč dobivenim značajnim vrijednostima razlika u koncentraciji T4 između ispitivanih skupina, širok raspon pouzdanosti sugerira da bi većim uzorkom vjerojatno dobili pouzdanije rezultate.

6.7. Upala i ED

Jedan od sekundarnih ciljeva ovog istraživanja bio je ispitati i moguću povezanost između prisutnosti ED-a u naših ispitanika i upale, s obzirom na to da je prethodnim istraživanjima upala krvožilnog endotela indirektno, preko povišenih upalnih pokazatelja, dovedena u vezu s ED-om. U našem istraživanju nisu pronađene razlike u koncentracijama hsCRP-a između oboljelih od ED-a i kontrolnih zdravih ispitanika, a vrijednosti koncentracije hsCRP-a za sve su ispitanike istraživanja bile uglavnom normalne (medijan 1,66 mg/l, uz IQR 1,12 - 4 mg/l). Ni prilikom regrupiranja skupina (usporedba ED 0 + 1, kao i ED 3 + 4 s ostalim skupinama) nisu pronađene značajne razlike u koncentracijama hsCRP-a. Prilikom podjele ispitanika s obzirom na proizvoljne prijelomne koncentracije 25(OH)D od 10 i 5 ng/ml, raspodjela vrijednosti hsCRP-a nije bila različita niti su pronađene značajne korelacije između hsCRP-a i rezultata upitnika IIEF-5, koncentracije 25(OH)D i drugih pokazatelja, što govori u prilog kako u istraživanju nije pronađena poveznica između izraženosti eventualnog upalnog procesa i prisutnosti ili jačine ED-a te serumskog statusa VD-a.

Neoštećeni krvožilni endotel ima antiupalna svojstva, no prilikom povećanog oksidativnog stresa u upalnim stanjima dolazi do poremećaja endotelne funkcije (109), a upravo je ona ključan događaj u patofiziologiji nastanka ED-a i ostalih SŽB-a. Povećan oksidativni stres povezan je s aktivacijom "tihog" upalnog procesa u stijenci krvne žile, koji najčešće nije klinički očit. Postoje brojna istraživanja koja su pokušala dovesti u vezu pojedini pokazatelj upale, odnosno "biomarker" ili kombinaciju biomarkera, s pojavom i jačinom izraženosti promjena na krvnim žilama, kako u koronarnim, tako i u penilnim. Tako su pojedina istraživanja zabilježila povišene koncentracije CRP-a u oboljelih od ED-a u odnosu na ispitanike bez ED-a (50). U drugom istraživanju (52) CRP je *in vitro* direktno slabio proizvodnju NO preko posttranskripcijskog učinka na stabilnost glasničke ribonukleinske kiseline (mRNA, od engl. *messenger ribonucleic acid*) endotelne NO sintetaze, s rezultirajućom smanjenom bioraspoloživošću NO. U presječnom pak istraživanju, na gotovo 1000 muškaraca (110) upalni biomarkeri CRP-a, interleukin 6 (IL-6) i fibrinogen nisu bili povezani s ED-om, za razliku od pronađene povezanosti između ED-a i biomarkera dislipidemije i krvožilne tromboze. U preglednom znanstvenom članku o poveznicama između upale, ED-a, metaboličkog sindroma i SŽB-a (3) autori su, objedinjujući dosadašnje spoznaje, ukazali na nekoliko bitnih čimbenika prilikom povezivanja određenog upalnog

biomarkera s pojedinim srčanožilnim kliničkim entitetom. S obzirom na složenost upalnog odgovora, brojne upalne posrednike i njihov utjecaj na različite etape upalne, aterosklerotske i trombotske kaskade, malo je vjerojatno da samo jednim biomarkerom potvrdimo ili opovrgnemo prisutnost bilo kojeg oblika SŽB-a. Isti su autori prethodno, tražeći upalne pokazatelje povezane s ED-om, odredili prijelomne vrijednosti koncentracije fibrinogena i IL-6, od kojih je svaka imala negativnu prediktivnu vrijednost za isključiti prisutnost ED > 80 %, a objedinjavanjem dvaju vrijednosti ta je vjerojatnost bila > 90 % (111). Zaključno, autori pretpostavljaju da bi, s obzirom na neovisne i dopunjavajuće prognostičke vrijednosti različitih upalnih biomarkera, "multimarkerni" pristup oboljelima od ED-a mogao biti učinkovita strategija za predviđanje srčanožilnog rizika.

Postavlja se pitanje je li uopće potreban biomarker za otkrivanje kliničkog entiteta poput ED-a, čija se dijagnoza postavlja anamnestički i klinički, a sama pojavnost ED-a predstavlja predisponirajući čimbenik za SŽB. Odgovor je svakako pozitivan jer bi takav biljeg mogao biti daljnji dijagnostički i terapijski pokazatelj. Ipak, uzevši u obzir kontradiktorne rezultate dosadašnjih istraživanja, brojne proučavane biomarkere, njihovo međudjelovanje i upitnu dostupnost većine proučavanih markera u općoj kliničkoj djelatnosti te nespecifičnost pojedinih pokazatelja (CRP kao nespecifični upalni pokazatelj, povišen u vrlo brojnim i različitim upalnim procesima), za sada je mala vjerojatnost kliničkog značenja pojedinog pokazatelja u procjeni i dijagnozi ED-a.

Nasuprot negativnoj povezanosti između ED-a i upale krvožilnog endotela, utjecaj VD-a na upalni proces doima se pozitivnim. VD ima imunomodulirajuće učinke i može djelovati protektivno na zdravlje krvožilja potiskujući upalni odgovor (39, 112). Navedeni učinci uključuju mijenjanje omjera regulacije i produkcije citokina u korist antiupalnih citokina te snižavanje koncentracije CRP-a u intervencijskim istraživanjima sa suplementacijom VD-a (113). Koncentracije proupalnog citokina, čimbenika tumorske nekroze alfa (TNF-α, od engl. *tumor necrosis factor alpha*), inverzno su povezane sa serumskom vrijednošću 25(OH)D, odnosno s vremenom izlaganja kože UVB zračenju (114). Nadalje, dokazano je da u oboljelih od ŠB-a VD regulira metabolizam kolesterola u makrofagima, odnosno da inhibira unos kolesterola u stanicu (115).

Imajući na umu prethodno spomenuto o složenosti upalnog odgovora i mogućem utjecaju različitih biomarkera u različitim kombinacijama i etapama upalnog odgovora, rezultati dobiveni našim istraživanjem, u kojima nije pronađena poveznica između izraženosti upalnog procesa i prisutnosti ili jačine ED-a te serumskog statusa VD-a, ne iznenađuju.

6.8. Utjecaj životnih navika i tjelesne aktivnosti na ED

Tjelesno aktivno (redovita tjelovježba, sport rekreacijski) bilo je 28 % ispitanika, i to 12 pripadnika kontrolne skupine (43 %) i 5 bolesnika s ED-om (16 %). Univarijatnom analizom potvrđena je češća tjelesna aktivnost ispitanika bez ED-a (P = 0,024), dok je prilikom multivarijatne raščlambe kliničkih obilježja ispitanika, s kovarijatama AH, PTSP-a i dva ili više popratna pobola, jedini neovisni RČ ED-a bila upravo tjelesna aktivnost, koja je gotovo pet puta smanjivala rizik za ED (Exp (B) 0,214; 95 % CI 0,053 - 0,868; P = 0,031). Tjelesna aktivnost negativno je korelirala s jačinom izraženosti simptoma ED-a i pušenjem, a pozitivne su korelacije pronađene za konzumiranje alkoholnih pića te za rezultat upitnika IIEF-5 (Spearmanov rho = 0,337, uz P = 0,008), od kojih treba naglasiti da je posljednja korelacija značajna na razini od 0,01, što dodatno ukazuje na inverzan utjecaj tjelesne aktivnosti na ED.

Već je naglašeno da ED i SŽB dijele brojne zajedničke RČ te su popratni poboli gotovo pravilo u oboljelih od ED-a u toj mjeri da se prisutnost ED-a koristi kao posredni pokazatelj općeg muškog zdravlja (116, 117). Na neke se RČ, poput pušenja, manjka tjelovježbe ili smanjenja tjelesne težine, može utjecati, dok je utjecaj drugih (AH, ŠB) teže podložan modifikaciji (118, 119). Uzevši u obzir navedeno, valja naglasiti nekoliko tvrdnji:

1. ED je simptom, a ne bolest te su stoga detaljna anamneza i klinički pregled od presudne važnosti kako bi se mogli otkriti zajednički RČ i po potrebi uputiti bolesnika na kardiološku dijagnostičku obradu.

2. U skladu s gore navedenim, liječenje ED-a najčešće je uspješno, ali je simptomatsko te se, osim u rijetkim slučajevima (psihogeni i hormonski uzrokovani ED, posttraumatski arteriogeni ED u mlađih muškaraca), ne može potpuno izliječiti.

3. Promjene životnih navika, prestanak pušenja, redovita tjelovježba i smanjenje tjelesne težine mogli bi imati pozitivan utjecaj na erektilnu funkciju.

Brojna istraživanja naglašavaju kako se upravo utjecajem na RČ SŽB-a i ED-a, poput promjene životnih navika, bavljenja tjelovježbom i primjena određene farmakoterapije (statini), može djelovati pozitivno na erektilnu funkciju (120-122). Navedene utjecaje najbolje objedinjuje pregledni znanstveni rad Gupte i suradnika (123), gdje su u metaanalizu uključena randomizirana kontrolirana istraživanja utjecaja promjene životnih navika (tjelovježba, dijeta) i farmakoterapije (statini) na sržanožilne RČ u muškaraca čiji je intenzitet ED-a mjeren upitnikom IIEF-5, s najmanje 6 tjedana praćenja učinka. U metaanalizu je naposljetku uključeno šest randomiziranih kontroliranih istraživanja, s ukupno 740 ispitanika, gdje je u svakom pojedinom istraživanju dokazano poboljšanje serumskog lipidnog profila te rezultata upitnika IIEF-5, s rezultirajućim poboljšanjem i erektilne funkcije. Poboljšanje rezultata upitnika IIEF-5 nakon intervencija zabilježeno je čak i u bolesnika koji su zbog ED-a već uzimali i jedan od inhibitora PDE-5. Zaključno, autori ipak naglašavaju da su, unatoč pojačavanju dokaza o pozitivnom utjecaju promjene životnih navika na ED, potrebna i daljnja prospektivna istraživanja, s obzirom na ograničavajuće čimbenike i nedostatke pojedinih randomiziranih kontroliranih istraživanja uključenih u metaanalizu (mali broj ispitanika, kratko vrijeme praćenja učinka).

Rezultati dobiveni našim istraživanjem u suglasju su s dosadašnjim znanstvenim spoznajama, iako je iskustveno začuđujuća pozitivna povezanost tjelesne aktivnosti s konzumacijom alkoholnih pića. Naime, otprije postoje pozitivne poveznice tjelesne aktivnosti i konzumacije alkoholnih pića, ali mogući razlozi takve povezanosti i dalje su nepoznanica. Pregledni članak (124) o navedenoj temi zaključuje da su osobe svih dobnih skupina koje konzumiraju alkohol više tjelesno aktivne u usporedbi s osobama koje ga ne konzumiraju te da, prema pojedinim istraživanjima uključenima u metaanalizu, postoji i pozitivna veza između doze konzumiranog alkohola i intenziteta tjelesne aktivnosti. Moguće objašnjenje navedenih zapažanja jest da i konzumacija alkohola i tjelesna aktivnost mogu djelovati motivacijski pozitivno i povezano, pogotovo u pojedinaca u kojih je jače izražena potreba za traženjem zadovoljstva (engl. *reward seeking process*), koja je pod kontrolom prefrontalnog dijela moždane kore. Na taj način, oblik ponašanja povezan s aktivnošću prefrontalnog dijela moždane kore, poput impulzivnosti, može utjecati na povezanost tjelesne aktivnosti i konzumacije alkoholnih pića. Upravo su takvu povezanost pod utjecajem impulzivnosti pronašli Leasure i suradnici (125), ali samo za umjerenu tjelesnu aktivnost, dok pri izrazitoj tjelesnoj aktivnosti poveznice nije bilo.

6.9. Popratni poboli, AH i ED

Što se tiče popratnih pobola, pri analizi naših rezultata, 17 od 32 pripadnika skupine ED-a imalo je dva ili više popratna pobola, u usporedbi s 5 od 28 pripadnika kontrolne skupine bez ED-a (P = 0,007), što je ukupno više od trećine svih ispitanika (37 %). Navedena se razlika ipak "gubi" u multivarijatnoj raščlambi s ostalim kliničkim i laboratorijskim pokazateljima (Tablica 5.3.). Pri usporedbi pojedinih skupina ED-a različitog intenziteta (Tablica 5.4.), vidljiv je trend češće prisutnosti dvaju ili više popratnih pobola u skupinama ispitanika s jače izraženim ED-om (P = 0,084), no u izravnoj usporedbi ispitanika bez ED-a (skupina ED 0; 5 od 28 ispitanika) s ispitanicima najjače izraženog ED-a (skupina ED 4; 7 od 12 ispitanika), ta je razlika jasno izražena (P = 0,021). Navedeni rezultati ne iznenađuju, s obzirom na već spomenutu povezanost etiopatogeneze ED-a i analiziranih pobola.

AH je bio najčešći popratni pobol proučavane populacije, s oboljelih gotovo polovinu ispitanika (48 %) i s trendom češće prisutnosti u oboljelih od ED-a, no bez statističke značajnosti (P = 0,077) u univarijatnoj analizi. Rezultati prethodnih istraživanja upućuju na to da 50 % - 76 % oboljelih od esencijalne hipertenzije boluje i od ED-a, da prevalencija ED-a raste s brojem antihipertenzivnih lijekova koje bolesnik uzima te da je AH neovisni RČ ED-a, povećavajući rizik ED-a za gotovo dva puta (126, 127). Prilikom multivarijatne raščlambe kliničkih i laboratorijskih obilježja ispitanika, uz izuzetu dvojicu ispitanika s "ekstremnim" vrijednostima PTH (Tablica 5.3.), AH se i u našem istraživanju pokazao kao neovisni RČ za ED (P = 0,049). Nadalje, pri regrupiranju skupina (Tablica 5.5.), odnosno kada ispitanicima bez ED-a pridružimo one s blago izraženim ED-om (skupine ED 0 + 1), u usporedbi s ostalim ispitanicima češća je prisutnost AH u bolesnika s jače izraženim ED-om u univarijatnoj (P = 0,009) i pri multivarijatnoj raščlambi (Tablica 5.8.; P = 0,03). Poveznicu jačine izraženosti ED-a i prisutnosti AH dalje jačaju rezultati usporedbe pojedinih jakosnih skupina ED-a (Tablica 5.4.), s češće prisutnim AH u skupini ED 4 u usporedbi sa skupinama ED 1 i ED 0, kao i prilikom usporedbe ispitanika umjerenog i teškog ED-a (skupine ED 3 + 4) s ostalim skupinama ED-a (P = 0,006 za češću prisutnost AH u ispitanika s jače izraženim ED-om).

Ispitanici s AH bili su stariji, većeg ITM-a, lošije regulirane glikemije i lošijeg rezultata upitnika IIEF-5, što znači i lošije erektilne funkcije. Uzevši u obzir utjecaj AH na razvoj END-a, dobiveni rezultati lošije erektilne funkcije u hipertenzivnih ispitanika ne iznenađuju. Uz očekivane poveznice AH s navedenim obilježjima, u ispitanika s AH

pronađena je i manja koncentracija magnezija, u odnosu na normotenzivne ispitanike. Nedavno provedena istraživanja povezanosti izlučivanja magnezija mokraćom i rizika razvoja AH (128) te prethodna istraživanja o povezanosti unosa magnezija i pobolijevanja od ŠB tipa II (129), upravo naglašavaju moguću ulogu hipomagnezemije u etiopatogenezi ovih pobola, s čime su u suglasju rezultati našeg istraživanja, pogotovo ako se naglase pronađene negativne korelacije koncentracije magnezija s ITM-om (Spearmanov rho = - 0,364, uz P= 0,005) i koncentracijom GUK-a (Spearmanov rho = - 0,334, uz P = 0,011). Razlike, pak, u koncentraciji VD-a između oboljelih od AH i normotenzivnih ispitanika nije bilo.

6.10. Pušenje i ED

U "socijalnim" navikama pušenja i konzumacije alkohola nije bilo značajne razlike između oboljelih od ED-a i kontrolne skupine ispitanika (P = 0,165 za pušenje, P = 0,297 za konzumaciju alkohola), kao ni pri usporedbi skupina ED-a različitog intenziteta (Tablice 5.1. i 5.4.).

Pušenje cigareta važan je RČ SŽB-a te je incidencija AH, koronarne bolesti srca i pojavnosti infarkta miokarda veća u pušača (126, 130). S obzirom na to da nikotin i oksidativni stres uzrokuju END, pušenje je neovisni RČ i za razvoj ED-a, što potvrđuju brojna istraživanja čiji su rezultati u posljednje vrijeme objedinjeni metaanalizama. Tengs i suradnici (131) navode da su 40 % oboljelih od ED-a pušači, u usporedbi s 28 % pušača u općoj populaciji. Metaanaliza iz 2013. godine (132), koja je uključila četiri prospektivna istraživanja i četiri istraživanja parova, s ukupno više od 28.000 ispitanika, zaključuje da je rizik za ED veći u pušača i nekadašnjih pušača u odnosu na nepušače, no da prestanak pušenja ipak djeluje pozitivno na smanjenje rizika za ED. Druga metaanaliza (133) navodi da postoji i pozitivna povezanost između rizika ED-a i broja popušenih cigareta te dugotrajnosti pušenja. Ranije mišljenje, unatoč manjku čvrstih znanstvenih dokaza, o pozitivnoj povezanosti konzumacije alkohola i ED-a posljednjim se istraživanjima ipak nije uspjelo dokazati te se stoga kronična konzumacija alkohola ne smatra neovisnim RČ ED-a (126, 134, 135). U našim se rezultatima niti pušenje niti konzumacija alkohola nisu pokazali kao neovisni RČ za ED.

6.11. PTSP i ED

Ukupno 9 ispitanika istraživanja imalo je postavljenu dijagnozu PTSP-a, od kojih je samo jedan ispitanik pripadao skupini bez ED-a (Tablica 5.1.; P = 0,029) te se i multivarijatnom raščlambom PTSP-a pokazao kao pretkazatelj ED-a (Tablica 5.3.).

Polovinom 80-ih godina prošlog stoljeća uočena je pojava teškoća u erektilnoj funkciji u oboljelih od PTSP-a, ponajprije u ratnih veterana Vijetnamskog rata (136) te od tada započinje intenzivno proučavanje mogućih uzroka navedene pojave. S obzirom na složenost odgovora organizma na psihološku i tjelesnu traumu, koji uključuje promjene u "organskom" i emotivnom djelovanju osobe, utjecaj PTSP-a na razvoj ili prisutnost ED-a nije moguće jednostavno i jednoznačno odrediti. Najčešće se radi o kombinaciji utjecaja teškoća u ostvarivanju odgovarajućih emotivno-tjelesnih odnosa s drugom osobom, poremećaja u tjelesnom zdravlju te utjecaja lijekova koje osoba oboljela od PTSP-a uzima (antidepresivi), što zajedno utječe na cijelu seksualnu domenu, pa tako i na ED (137-139). U velikom je broju istraživanja (137, 140, 141) pronađena veća prevalencija seksualne disfunkcije u bolesnika s PTSP-om u odnosu na opću populaciju, a navedena disfunkcija uključivala je sve domene seksualnosti poput libida i želje za seksualnom aktivnošću, orgazmičku funkciju te opće zadovoljstvo spolnim životom. Ipak, među svim seksualnim teškoćama, najčešće su zabilježeni ED i prematurna ejakulacija. U istraživanju poremećaja seksualne funkcije među veteranima Domovinskog rata u Hrvatskoj (137), autorice zaključuju kako su oboljeli od PTSP-a imali rjeđe seksualne aktivnosti i slabije izraženu želju za spolnim odnosom te teškoće u erektilnoj funkciji, dok je s terapijom antidepresivima bio povezan jedino snižen libido. Izravna povezanost između PTSP-a i serumske koncentracije VD-a do sada nije istražena, premda postoji pregršt znanstvenih radova o povezanosti kliničke depresije i NVD-a, uključujući i nedavne čvrste dokaze dobivene metaanalizama (142) te inicijalne rezultate utjecaja suplementacije VD-a na poboljšanje depresivnih smetnji (143).

S obzirom na sličnost i djelomično preklapanje simptomatologije PTSP-a i depresije, te na način liječenja obaju poremećaja, mogla bi se očekivati istraživanja koja će pokušati dovesti PTSP u izravnu vezu s NVD-om, za što za sada postoje samo pretpostavke u vojno-medicinskoj literaturi (144). U našim rezultatima, međutim, nije pronađena povezanost između serumske koncentracije VD-a i PTSP-a, odnosno ispitanici s PTSP-om ili bez PTSP-a nisu se razlikovali u koncentracijama VD-a.

6.12. Trajanje simptoma ED-a i vrijeme do javljanja bolesnika liječniku

S obzirom na stigmu koju sa sobom nosi pojava ED-a te na činjenicu da u usporedbi sa ženama muškarci rjeđe brinu o spolnom zdravlju ili često određene promjene pripisuju normalnim posljedicama starenja, izazov je bio obuhvatiti dovoljno veliku ispitivanu populaciju za istraživanje. Čak i kada se bolesnici pri ambulantnom pregledu potuže na smetnje u obliku ED-a, obično to spomenu usput, pred kraj anamneze, nakon navođenja brojnih drugih simptoma, pa čak i na kraju cijelog pregleda, kada je ambulantni nalaz već završen. U prilog ovom osobnom iskustvenom zapažanju govore i rezultati provedenog istraživanja, gdje su simptomi ED-a u bolesnika u prosjeku trajali 4,5 godina, maksimalno do čak 16 godina, a da je do javljanja bolesnika liječniku prošlo prosječno godinu i pol dana od nastupa simptoma.

6.13. Korištenje inhibitora PDE-5 i edukacijski status ispitanika

Od 60 ispitanika, njih 14 (23 %) pokušalo je simptomatsku terapiju ED-a jednim od inhibitora PDE-5, od kojih su dvanaestorica doista i imali izražene simptome ED-a, dok su dvojica ispitanika bez ED-a probali lijek "rekreacijski". Od navedenih 12 bolesnika (37 % oboljelih od ED-a) koji su pokušali medikamentozno liječenje, njih sedmorica bili su zadovoljni učinkom lijeka (58 %). Kada je 1998. godine postao dostupan sildenafil, prvi lijek iz skupine inhibitora PDE-5, ubrzo je postigao revoluciju u farmaceutskoj industriji te postao jedan od financijski najuspješnijih lijekova u povijesti (145). Unutar prvih sedam godina dostupnosti lijeka, propisan je za više od 23 milijuna muškaraca diljem svijeta (146). Mehanizam djelovanja svih lijekova ove skupine jest sljedeći: inhibicijom enzima PDE-5, koji ima obilnu ekspresiju u kavernoznim tijelima penisa, dolazi do smanjene razgradnje sekundarnog glasnika cGMP-a pa tada povećane koncentracije cGMP-a dovode do relaksacije glatkih mišića kavernoznih tijela, vazodilatacije i naposljetku do erekcije. Nakon sildenafila, došlo je do razvoja novih PDE-5 inhibitora, poput tadalafila, vardenafila i avanafila, koji se razlikuju jedan od drugoga u biokemijskom profilu, neželjenim reakcijama te vremenu nastanka i trajanja učinka, no izravnih *head to head* istraživanja usporedbe uspješnosti učinka između svih raspoloživih PDE-5 inhibitora nema (145) te se terapija određuje prema svakom pacijentu pojedinačno. Ono što treba naglasiti jest da je zadovoljstvo s učinkom lijeka,

odnosno postizanje zadovoljavajuće erekcije, bilo češće u do sada objavljenim istraživanjima (145), u usporedbi s rezultatima našeg istraživanja (69 - 81 % vs. 58 %). Korištenje medikamentozne terapije PDE-5 inhibitorima negativno je koreliralo s rezultatom upitnika IIEF-5 (Spearmanov rho = - 0,361, uz P = 0,005) i pozitivno s jačinom izraženosti simptoma ED-a (Spearmanov rho = 0,406, uz P = 0,001), što bi se moglo interpretirati kao uzimanje lijeka u bolesnika kojima je to doista i potrebno. Pronađena je i negativna korelacija između uzimanja PDE-5 inhibitora i koncentracije VD-a (Spearmanov rho = - 0,245) koja, međutim, nije bila statistički značajna (P = 0,06).

Većina je ispitanika, što se obrazovanja tiče, srednje stručne spreme, dok su po dvojica ispitanika niske i više, a jedan ispitanik visoke stručne spreme. Niži edukacijski status je, neovisno o dobi, otprije prepoznat kao neovisni RČ za ED (147) što, s obzirom na to da je većina ispitanika srednje stručne spreme, nije bilo moguće ispitati ovim istraživanjem. Zanimljivo je i istraživanje utjecaja razine obrazovanja na status VD-a u žena, gdje je koncentracija VD-a bila manja u ispitanica niže stručne spreme (24).

7. ZAKLJUČCI

S obzirom na zajedničke RČ te patofiziologiju nastanka ED-a i SŽB-a, uz u brojnim istraživanjima već dokazan utjecaj serumskog statusa VD-a na te iste RČ, NVD bi se mogao dovesti i u izravnu vezu s ED-om, što do trenutka prijave teme ove disertacije nije istraženo ni za svjetsku, ni za hrvatsku populaciju. I u brojnim nekrvožilnim bolestima (Alzheimerova i Parkinsonova bolest, multipla skleroza, klinička depresija, psorijaza, astma, metabolički sindrom i dr.) postoje poveznice i s ED-om i sa serumskom koncentracijom VD-a, što jača pretpostavku inverzne povezanosti između ED-a i NVD-a. Ukratko, VD status u oboljelih od ED-a do sada nije zabilježen, što je upravo bio i cilj ovog istraživanja, kao i ispitati korelira li intenzitet ED-a sa serumskom koncentracijom VD-a.

1. U proučavanoj populaciji 32 bolesnika s ED-om i 28 kontrolnih ispitanika bez ED-a, koji su u ambulantu Zavoda za urologiju KBCO došli iz drugih razloga, izmjerene su vrlo niske koncentracije 25(OH)D. Medijan vrijednosti serumske koncentracije 25(OH)D za sve ispitanike iznosio je 8,36 ng/ml (IQR 4,84 - 11,67 ng/ml). Nijedan ispitanik nije imao preporučenu dostatnu vrijednost VD-a od 30 ng/ml ili više. Dvojica ispitanika bila su insuficijentnih (21 - 29 ng/ml), dok su svi ostali ispitanici bili nedostatnih serumskih koncentracija VD-a (≤ 20 ng/ml). Čak 39 ispitanika (65 %) imalo je vrijednosti 25(OH)D manje od 10 ng/ml, dok je u 16 ispitanika (27 %) izmjerena koncentracija VD-a manja od 5 ng/ml. Pogodan čimbenik za niske izmjerene vrijednosti serumske koncentracije 25(OH)D zasigurno je i uzorkovanje tijekom zimskih mjeseci, odnosno u razdoblju vrlo niske endogene sinteze VD-a u koži, koje je u navedenom razdoblju neovisno o vremenu izlaganja kože suncu. Dobiveni su rezultati donekle usporedivi s prethodnim podatcima o VD statusu u Hrvatskoj, izmjerenima u žena u menopauzi, gdje je samo 9 od 120 ispitanica imalo dostatnu koncentraciju 25(OH)D, dok je prosječna koncentracija 25(OH)D iznosila 18,8 ng/ml.

2. Nije potvrđena hipoteza istraživanja da oboljeli od ED-a imaju manju serumsku koncentraciju 25(OH)D u usporedbi s kontrolnom skupinom zdravih ispitanika jer razlike u koncentraciji VD-a između ispitivanih skupina nije bilo (P = 0,894). Prilikom regrupiranja

skupina, odnosno dodavanjem bolesnika s blago izraženim ED-om ispitanicima bez ED-a, razlike u koncentraciji VD-a i dalje nije bilo, kao niti uspoređivanjem skupina ED-a najjačeg intenziteta (ED 3 + 4) s ostalim skupinama. S obzirom na ukupno gledajući niske izmjerene vrijednosti VD-a, pokušalo se podijeliti ispitanike s obzirom na proizvoljnu *cut-off* vrijednost 25(OH)D od 10 ng/ml, no ni tada nisu pronađene razlike u raspodjeli rezultata upitnika IIEF-5, a time ni razlike u prisutnosti ED-a. Isto je vrijedilo i pri korištenju *cut-off* vrijednosti 25(OH)D od 5 ng/ml. Pretpostavka da intenzitet ED-a korelira sa serumskom koncentracijom VD-a također nije potvrđena jer nije pronađena razlika u koncentraciji VD-a između pojedinih skupina ED-a, niti korelacija između rezultata upitnika IIEF-5 i koncentracije 25(OH)D. Premda je ukupan broj od 60 ispitanika odgovarao G-power izračunu i potrebi za najmanje 19 ispitanika po glavnim skupinama, mogući razlog nenalaženja poveznice između ED-a i koncentracije VD-a je u relativno malom broju ispitanika, odnosno u donekle nehomogenoj populaciji. Naime, spoznaje dobivene drugim istraživanja, koja su provedena nakon prijave i prihvaćanja teme ove disertacije, temeljene su na homogenijim populacijama (oboljeli od ŠB-a tipa II ili ispitanici s ED-om bez drugih popratnih pobola). Za eventualnu potvrdu hipoteze o povezanosti NVD-a s ED-om, koja nije isključivo krvožilne etiologije, vjerojatno je ipak potreban veći broj ispitanika.

3. Nisu pronađene značajne razlike u prisutnosti ŠB-a između ispitivanih skupina, ali su ispitanici s ED-om imali veće koncentracije GUK-a i HbA1c, odnosno lošije reguliranu glikemiju u odnosu na ispitanike bez ED-a. Nadalje, vrijednosti HbA1c bile su veće u ispitanika s najtežim ED-om (skupine ED 3 + 4). Pronađena je negativna povezanost između rezultata upitnika IIEF-5 i koncentracija HbA1c i glikemije. Zbog zajedničkog patofiziološkog nastanka preko END-a, ED je zapravo entitet unutar SŽB-a, među kojima je i ŠB, pa povezanost između ŠB-a i ED-a ne iznenađuje.

Uzevši sve ispitanike istraživanja u obzir, serumska koncentracija VD-a nije korelirala s koncentracijom GUK-a i HbA1c. Međutim, ako se usporede ispitanici sa ŠB-om i bez ŠB-a, znatno je lošiji rezultat upitnika IIEF-5, odnosno lošija je erektilna funkcija u ispitanika sa ŠB-om. Nadalje, u oboljelih od ŠB-a pronađene su i značajno manje koncentracije VD-a, a razlike u ITM-u nije bilo. Kada je stoga učinjena usporedba ispitanika koji su bolovali ujedno i od ŠB-a i od ED-a sa svim ostalim ispitanicima, pronađena je manja koncentracija VD-a i lošija erektilna funkcija u te podskupine ispitanika. Navedeni rezultati u suglasju su s

dosadašnjim spoznajama i ilustriraju kako u relativno homogenoj populaciji oboljelih od ŠB-a ipak postoji poveznica između NVD-a i ED-a, što potvrđuje osnovnu hipotezu istraživanja, ali ipak samo u oboljelih od ŠB-a. U toj bi se skupini bolesnika budućim intervencijskim istraživanjima mogao ispitati utjecaj nadomjesne terapije VD-om na eventualno poboljšanje simptoma ED-a i usporediti uspješnost navedene terapije s trenutnim zlatnim standardom u liječenju ED-a, odnosno inhibitorima PDE-5. Kako su i u ostalih ispitanika istraživanja izmjerene vrlo male koncentracije VD-a, a uvažavajući prethodno dokazane dobrobiti optimalnog VD statusa na opće zdravlje, ni njima nadomjesna terapija VD-om ne bi bila na odmet.

4. Pronađena je pozitivna korelacija između serumskih koncentracija VD-a i dobi. U dosadašnjim je istraživanjima istaknuta negativna povezanost, odnosno lošiji status VD-a u starijih ljudi, objašnjen ponajprije smanjenom sposobnošću stvaranja VD-a u koži zbog atrofičnih promjena. Iako iznenađujuć, rezultat dobiven našim istraživanjem nije neobjašnjiv. Specifičnost stanovništva starije životne dobi Slavonije i Baranje jest provođenje više vremena na otvorenomu. Radeći u vrtovima, dvorištima ili na njivama, oni su više izloženi UVB zračenju u odnosu na mlađe osobe koje sve više žive „sjedilačkim“ načinom života, pogotovo u trenutnom razdoblju internetske revolucije. Eventualnu bi potvrdu navedenih zapažanja o mogućim uzrocima pozitivne povezanosti između dobi i koncentracija VD-a trebalo potražiti u novim epidemiološkim istraživanjima koja bi po mogućnosti usporedila različite hrvatske regije, uza serumsko uzorkovanje u različitim godišnjim dobima.

5. U ispitanika nije pronađena značajna povezanost između pretilosti procijenjene ITM-om i koncentracije VD-a. Ispitanici su bili visokog ITM-a (medijan 28,2; IQR 26,3 - 31,5), bez značajne razlike između ispitivanih skupina, odnosno oboljelih od ED-a i kontrolne skupine ispitanika. Prethodno je u istraživanjima parova, na malom broju ispitanika, pretilost povezana s NVD-om, pogotovo kod ITM-a većeg od 30 kg/m^2, a zbog pohrane sintetiziranog VD-a u obilnijem masnom tkivu te u skladu s tim smanjene bioraspoloživosti VD-a. Pokušaj potvrde navedenih rezultata na većem broju ispitanika, uz korištenje ne samo antropometrijskih postupaka poput ITM-a nego i preciznije procjene ukupnog tjelesnog udjela masti pomoću DXA, rezultirao je slabijom negativnom povezanošću koncentracije 25(OH)D i

pretilosti prilikom antropometrijskih mjerenja u usporedbi s DXA. Razlog takvih rezultata dobivenim našim istraživanjem može biti upravo korištenje antropometrijskog ITM-a, a ne preciznijeg "alata" u procjeni ukupne tjelesne masti koji bi indirektno procjenjivao i "pohranjeni", za organizam neraspoloživi VD.

6. Dob ispitanika pozitivno je korelirala s jačinom izraženosti simptoma ED-a, odnosno negativno s ukupnim rezultatom upitnika IIEF-5, što je suglasno s ranijim spoznajama o dobi kao neovisnim RČ za ED. Pri usporedbi oboljelih od ED-a i kontrolne skupine ispitanika bez ED-a, nije bilo značajne razlike u dobi, kao ni pri podjeli ispitanika po podskupinama s obzirom na intenzitet ED-a, iako je postojao trend pripadnosti starijih ispitanika skupinama s jače izraženim ED-om (skupine ED 3 i 4), što je potvrđeno post-hoc testom. Nadalje, navedeni trend vidljiv je nakon dodavanja bolesnika s blago izraženim ED-om ispitanicima bez ED-a (skupine ED 0 + 1), a postaje značajan pri usporedbi ispitanika umjerenoge i teškog ED-a (skupine ED 3 + 4) s ostalim skupinama ED-a.

7. Ispitana je i moguća povezanost između ED-a i prisutnosti upale, s obzirom na prethodno pronađenu poveznicu između biokemijskih pokazatelja upale krvožilnog endotela i ED-a, a zbog END-a. Nisu pronađene razlike u koncentracijama hsCRP-a između oboljelih od ED-a i kontrolnih zdravih ispitanika ni pri regrupiranju skupina (usporedba skupina ED 0 + 1 i ED 3 + 4 s ostalim skupinama). Nisu pronađene ni značajne korelacije između hsCRP-a i rezultata upitnika IIEF-5, koncentracije 25(OH)D i drugih pokazatelja. Prethodno je u preglednom članku o mogućoj poveznici između upale i ED-a naglašeno da, s obzirom na složenost upalnog odgovora, brojne upalne posrednike, njihovo međudjelovanje i utjecaj na različite etape upalne, aterosklerotske i trombotske kaskade, nije vjerojatno da se jednim biomarkerom potvrdi ili opovrgne prisutnost bilo kojeg oblika SŽB-a, pa tako i ED-a. U rezultatima našeg istraživanja nenalaženje poveznice između hsCRP-a, kao pokazatelja upale, i ED-a govori u prilog navedenom zaključku.

8. U proučavanoj populaciji eutireoidnih ispitanika, kontrolna skupina bez ED-a imala je veće koncentracije T4 (P = 0,059) u odnosu na oboljele od ED-a, dok se skupine nisu razlikovale

po vrijednostima TSH i T3. Nakon što su skupine korigirane, odnosno isključena dvojica ispitanika s odstupajućim koncentracijama PTH, razlika u koncentraciji T4 između oboljelih od ED-a i kontrolne skupine ispitanika bila je značajna u univarijatnoj (P = 0,035) te u multivarijatnoj raščlambi (P = 0,046), iako s dosta velikim rasponom pouzdanosti, te se i pri usporedbi ispitanika bez ED-a i s blagim ED-om (ED 0 + 1) i ostalih skupina ED-a (ED 2 - 4) koncentracija T4 pokazala kao protektivni čimbenik erektilne funkcije. Iako su i hipertireoidizam i hipotireoidizam u prethodnim istraživanjima dovedeni u vezu sa smetnjama erektilne funkcije, prilikom interpretacije rezultata dobivenih našim istraživanjem treba imati na umu da se radi o eutireoidnoj populaciji te da, unatoč dobivenoj značajnoj razlici u koncentraciji T4 između ispitivanih skupina, širok raspon pouzdanosti sugerira da bi većim uzorkom vjerojatno dobili pouzdanije rezultate.

9. U ovom istraživanju, gdje među ispitanicima nije bilo kroničnih bubrežnih bolesnika, pogotovo onih kojima je neophodno liječenje hemodijalizom, te se skupine nisu razlikovale u koncentracijama kreatinina (P = 0,553), izmjerene su veće koncentracije PTH u kontrolnih ispitanika u odnosu na oboljele od ED-a. S obzirom na to da je po jedan ispitanik iz obiju skupina imao povišene i "odskakajuće" vrijednosti PTH detektirane *outlier* testom, oni su isključeni iz daljnje analize te je na taj način eliminiran utjecaj i primarnog hiperparatireoidizma. Unatoč isključenju navedenih ispitanika, značajnost razlike u koncentraciji PTH među ispitivanim skupinama i dalje je ostala prisutna te je bila još i veća (medijan kontrolne skupine 46,8 vs. 38 pg/ml u oboljelih od ED-a, P = 0,031). Koncentracija PTH pozitivno je korelirala s rezultatom upitnika IIEF-5, što znači da je veća serumska koncentracija PTH povezana s boljom erektilnom funkcijom, dok između PTH i ostalih pokazatelja, koji bi mogli utjecati na navedeni odnos (dob, koncentracije kreatinina, kalcija, fosfora, VD-a, testosterona, FSH, LH, T4 i prolaktina), nije bilo značajnih korelacija. U prethodnim istraživanjima, većinom na populaciji kroničnih bubrežnih bolesnika, dobiveni su oprečni rezultati o povezanosti između koncentracije PTH i ED-a, gdje su u pojedinim istraživanjima povišene koncentracije PTH povećanom sekrecijom prolaktina utjecale na pojavu ED-a, dok u drugim istraživanjima nije pronađena navedena povezanost. Nadalje, u bubrežno zdravih ispitanika oboljelih od ED-a nije pronađena razlika u koncentracijama PTH između skupina ED-a različite jakosti. U istraživanju koje je dokazalo povezanost NVD-a s ED-om u oboljelih od ŠB-a tipa II, nije nađena razlika u koncentracijama PTH između

oboljelih od ED-a i kontrolne skupine bez ED-a, niti je nađena između pojedinih podskupina ED-a, a nisu zabilježene ni značajne korelacije između koncentracija 25(OH)D i PTH, kalcija i fosfora, kao ni u našem istraživanju.

Razlozi zbog kojih su našim istraživanjem nađene povišene koncentracije PTH u ispitanika bez ED-a mogu se pokušati objasniti utjecajem unosa kalcija hranom jer povećan unos kalcija može smanjiti porast PTH u ispitanika niskog statusa VD-a. Istraživanjem su izmjerene vrlo niske koncentracije VD-a pa su povišene vrijednosti PTH u ispitanika bez ED-a mogući rezultat povećanog unosa kalcija hranom skupine oboljelih od ED-a koji zbog toga imaju rezultirajući smanjen porast PTH u odnosu na ispitanike bez ED-a. Nadalje, pronađene povišene (no i dalje unutar referentnih vrijednosti) koncentracije PTH u ispitanika bez ED-a mogu biti posljedica i dalje očuvane negativne povratne sprege između VD-a i PTH. Kako su u svih ispitanika istraživanja izmjerene vrlo niske koncentracije VD-a, može se očekivati kompenzatorni porast PTH koji pokušava održati homeostazu VD-a i serumske koncentracije kalcija. Razlog nađene razlike između ispitanika bez ED-a i s ED-om može biti posljedica još uvijek očuvane negativne povratne sprege VD - PTH u “zdravih” ispitanika, dok je u oboljelih od ED-a takva “normalna” sprega narušena. Treće moguće objašnjenje povišenih koncentracija PTH u ispitanika bez ED-a značilo bi izravnu povezanost PTH i ED-a, za što do sada nema sličnih rezultata u bubrežno zdravih ispitanika. Prilikom multivarijatne raščlambe koncentracija PTH pokazala se kao neovisan RČ za ED, smanjujući svakim svojim jediničnim povećanjem rizik ED-a za 4 %. Na koji god dodatni način regrupirali skupine, koncentracija PTH isticala se i u univarijatnoj i u multivarijatnoj raščlambi kao značajno različita između ispitanika bolje i lošije erektilne funkcije, što daje dodatnu snagu pretpostavci izravne poveznice između PTH i ED-a.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja bio je ispitati serumsku koncentraciju vitamina D (VD) u oboljelih od erektilne disfunkcije (ED), s pretpostavkom da imaju manju koncentraciju 25(OH)D u usporedbi s kontrolnim ispitanicima te da intenzitet ED-a negativno korelira s koncentracijom VD-a. Pretpostavka uloge VD-a u patofiziologiji ED-a utemeljena je na prethodnim istraživanjima o zajedničkim rizičnim čimbenicima (RČ) te mehanizmu nastanka ED-a i drugih bolesti koje su dovedene u vezu s nedostatkom vitamina D (NVD).

Nacrt istraživanja. U presječno istraživanje uključeno je 60 muškaraca: 32 oboljela od ED-a i 28 zdravih kontrolnih ispitanika.

Ispitanici i postupci. Isključni kriteriji bili su poslijeoperacijski, anatomski i neurološki uzrokovan ED, karcinom prostate te simptomi infekcije mokraćnog sustava. Nakon informiranog pristanka, uslijedila je anamneza, fizikalni pregled te ispunjavanje upitnika *International Index of Erectile Function-5* (IIEF-5) radi procjene erektilne funkcije i kategorizacije ispitanika. Krv za analizu 25(OH)D i ostalih laboratorijskih obilježja (crvena i diferencijalna krvna slika, trombociti, biokemijske i hormonske analize, hemoglobin A1c, ionogram i lipidogram) vađena je iz kubitalne vene, uz uzorkovanje provedeno tijekom dva zimska mjeseca iste godine radi izbjegavanja utjecaja sunčeva zračenja na sintezu VD-a u koži.

Rezultati. Medijan koncentracije 25(OH)D iznosio je 8,36 ng/ml, dvojica ispitanika bila su insuficijentnih (21 - 29 ng/ml), a svi ostali nedostatnih koncentracija VD (≤ 20 ng/ml). Razlike u koncentraciji VD-a između oboljelih od ED-a i kontrolnih ispitanika nije bilo, kao ni pri usporedbi skupina ED-a različitog intenziteta. Međutim, u oboljelih od šećerne bolesti koji su ujedno imali ED, pronađena je manja koncentracija VD-a u odnosu na ostale ispitanike (P = 0,034). U kontrolnih ispitanika izmjerene su veće koncentracije paratireoidnog hormona (PTH) u odnosu na oboljele od ED-a (P = 0,031) no, ukupno gledajući, ispitanici su imali uredne vrijednosti PTH. Koncentracija PTH pozitivno je korelirala s boljom erektilnom funkcijom, a prilikom multivarijante raščlambe PTH se pokazao kao neovisan RČ ED-a, smanjujući svakim svojim jediničnim povećanjem rizik ED-a za 4 %.

***Zaključak*.** Nije pronađena povezanost između koncentracije VD-a i ED-a, osim u dijabetičara s ED-om koji su imali manje koncentracije VD-a u odnosu na ostale ispitanike.

Veća koncentracija PTH u osoba s normalnom funkcijom paratireoideja ima moguću protektivnu ulogu u očuvanju erektilne funkcije.

Ključne riječi: *vitamin D; paratireoidni hormon; upitnik IIEF-5; erektilna disfunkcija; nedostatak vitamina D.*

9. SUMMARY

The association of erectile dysfunction and vitamin D serum concentration

Objectives. Determination of vitamin D (VD) status in patients with erectile dysfunction (ED) and testing of the hypothesis that ED patients have lower serum 25(OH)D level in comparison with healthy subjects, as well as that the intensity of ED correlates with 25(OH)D levels. The assumption of possible VD role in ED pathophysiology is based upon previous research on the interplay between common risk factors of ED and other ailments that have been linked to vitamin D deficiency (NVD).

Study design. 60 male participants were included in this cross-sectional study: 32 ED patients and 28 control subjects without ED.

Patients and Methods. Exclusion criteria were postoperative, anatomical and neurogenic ED, prostate cancer, notable lower urinary tract symptoms and non-approval to participate in the study. After a written informed consent was obtained, anamnesis and physical examination followed, as well as completing the International Index of Erectile Function-5 (IIEF-5) questionnaire, for assessing erectile function and to categorize the study subjects according to ED severity. The blood for 25(OH)D and other laboratory parameters of interest (high-sensitivity C-reactive protein, complete and differential blood count, biochemical, hormonal and electrolyte analysis, glycated hemoglobin and lipid profile) was drawn from the cubital vein, with sampling performed during two winter months of the same year to avoid seasonal variations in cutaneous VD production.

Results. Median level of 25(OH)D for all participants was 8.36 ng/mL (interquartile range 4.84 - 11.67 ng/mL), two had insufficient (21 - 29 ng/mL), while all other subjects had deficient VD (≤ 20 ng/mL). There was no difference in VD levels between ED patients and control subjects (P = 0.894), nor was there any difference when comparing ED groups of disparate severity. 25(OH)D levels did not significantly correlate with the results of IIEF-5 questionnaire. However, patients with both diabetes and ED had lower VD levels in comparison with all other study subjects (P = 0.034). Control subjects without ED had higher parathyroid hormone (PTH) levels compared to ED patients (median 46.8 versus 38 pg/mL, P = 0.031), although PTH levels were normal in general. PTH level positively correlated with

better erectile function and in multivariate analysis PTH level showed to be an independent risk factor for ED, lowering ED risk by 4 % with every unit increase.

Conclusion. In current research no association between VD status and erectile function was found, except for patients with diabetes and ED, who had lower VD levels compared to all other study subjects. Higher PTH levels in men with normal function of the parathyroid gland appear to have a protective role in preserving the erectile function.

Key words: *vitamin D; parathyroid hormone; IIEF-5 questionnaire; erectile dysfunction; vitamin D deficiency.*

10. POPIS LITERATURE

1. Gratzke C, Angulo J, Chitaley K, Dai YT, Kim NN, Paick JS, i sur. Anatomy, physiology, and pathophysiology of erectile dysfunction. J Sex Med. 2010;7:445-75.
2. Dean RC, Lue TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. Urol Clin North Am. 2005;32:379-95.
3. Vlachopoulos C, Rokkas K, Ioakeimidis N, Stefanadis C. Inflammation, metabolic syndrome, erectile dysfunction, and coronary artery disease: common links. Eur Urol. 2007;52:1590-600.
4. Giuliano F, Rampin O, Brown K, Courtois F, Benoit G, Jardin A. Stimulation of the medial preoptic area of the hypothalamus in the rat elicits increases in intracavernous pressure. Neurosci Lett. 1996;209:1–4.
5. Chen KK, Chan SH, Chang LS, Chan JY. Participation of paraventricular nucleus of hypothalamus in central regulation of penile erection in the rat. J Urol. 1997;158:238 44.
6. Chen KK, Chan JY, Chang LS, Chen MT, Chan SH. Elicitation of penile erection following activation of the hippocampal formation in the rat. Neurosci Lett. 1992;141:218–22.
7. Giuliano F, Rampin O. Central neural regulation of penile erection. Neurosci Biobehav Rev. 2000;24:517–33.
8. Lue TF, Giuliano F, Montorsi F, Rosen RC, Andersson KE, Althof S, i sur. Summary of the recommendations on sexual dysfunctions in men. J Sex Med. 2004;1:6-23.
9. Lewis RW. Epidemiology of erectile dysfunction. Urol Clin North Am. 2001;28:209-16.
10. Dong JY, Zhang YH, Qin LQ. Erectile dysfunction and risk of cardiovascular disease: meta-analysis of prospective cohort studies. J Am Coll Cardiol. 2011;58:1378-85.
11. Jackson G, Boon N, Eardley I, Kirby M, Dean J, Hackett G, i sur. Erectile dysfunction and coronary artery disease prediction: evidence-based guidance and consensus. Int J Clin Pract. 2010;64:848-57.
12. Montorsi P, Ravagnani PM, Galli S, Rotatori F, Briganti A, Salonia A, i sur. The artery size hypothesis: a macrovascular link between erectile dysfunction and coronary artery disease. Am J Cardiol. 2005;96:19M-23M.

13. Rosen RC, Riley A, Wagner G, Osterloh IH, Kirkpatrick J, Mishra A. The international index of erectile function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. Urology. 1997;49:822-30.
14. NIH Consensus Development Panel on Impotence. Impotence. JAMA. 1993;270:83-90.
15. Rosen RC, Cappelleri JC, Smith MD, Lipsky J, Peña 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. Int J Impot Res. 1999;11:319-26.
16. Rhoden EL, Telöken C, Sogari PR, Vargas Souto CA. The use of the simplified International Index of Erectile Function (IIEF-5) as a diagnostic tool to study the prevalence of erectile dysfunction. Int J Impot Res. 2002;14:245-50.
17. Lehmann K, Eichlisberger R, Gasser TC. Lack of diagnostic tools to prove erectile dysfunction: consequences for reimbursement? J Urol. 2000;163:91-4.
18. Aversa A, Sarteschi LM. The role of penile color-duplex ultrasound for the evaluation of erectile dysfunction. J Sex Med. 2007;4:1437-47.
19. Golijanin D, Singer E, Davis R, Bhatt S, Seftel A, Dogra V. Doppler evaluation of erectile dysfunction - part 2. Int J Impot Res. 2007;19:43-8.
20. Holick MF. Vitamin D deficiency. N Engl J Med. 2007;357:266-81.
21. Moore C, Murphy MM, Keast DR, Holick MF. Vitamin D intake in the United States. J Am Diet Assoc. 2004;104:980-3.
22. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. Am J Clin Nutr. 2004;80:1678S-88S.
23. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, i sur. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:1911-30.
24. Hossein-Nezhad A, Holick MF. Vitamin d for health: a global perspective. Mayo Clin Proc. 2013;88:720-55.
25. Macdonald HM, Mavroeidi A, Fraser WD, Darling AL, Black AJ, Aucott L, i sur. Sunlight and dietary contributions to the seasonal vitamin D status of cohorts of healthy postmenopausal women living at northerly latitudes: a major cause for concern? Osteoporos Int. 2011;22:2461-72.

26. Laktasic Zerjavic N, Korsic M, Crncevic Orlic Z, Kovac Z, Polasek O, Soldo Juresa D. Vitamin D status, dependence on age and seasonal variations in the concentration of vitamin D in Croatian postmenopausal women initially screened for osteoporosis. Clin Rheumatol. 2010;29:861-7.
27. Laktasic-Zerjavic N, Korsic M, Crncevic-Orlic Z, Anic B. Vitamin D: vitamin from the past and hormone of the future [Article in Croatian]. Lijec Vjesn. 2011;133:194-204.
28. Binkley N, Krueger D, Cowgill CS, Plum L, Lake E, Hansen KE, i sur. Assay variation confounds the diagnosis of hypovitaminosis D: a call for standardization. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:3152-7.
29. Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. Endocr Rev. 2005;26:662-87.
30. Gonzalez-Parra E, Rojas-Rivera J, Tunon J, Praga M, Ortiz A, Egido J. Vitamin D receptor activation and cardiovascular disease. Nephrol Dial Transplant. 2012;27:iv17-iv21.
31. Doig CL, Singh PK, Dhiman VK, Thorne JL, Battaglia S, Sobolewski M, i sur. Recruitment of NCOR1 to VDR target genes is enhanced in prostate cancer cells and associates with altered DNA methylation patterns. Carcinogenesis. 2013;34:248-56.
32. Cui X, Pelekanos M, Liu PY, Burne TH, McGrath JJ, Eyles DW. The vitamin D receptor in dopamine neurons; its presence in human substantia nigra and its ontogenesis in rat midbrain. Neuroscience. 2013;236:77-87.
33. Alimirah F, Peng X, Yuan L, Mehta RR, von Knethen A, Choubey D, i sur. Crosstalk between the peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ) and the vitamin D receptor (VDR) in human breast cancer cells: PPARγ binds to VDR and inhibits 1α,25-dihydroxyvitamin D3 mediated transactivation. Exp Cell Res. 2012;318:2490-7.
34. Nagy L, Szanto A, Szatmari I, Szeles L. Nuclear hormone receptors enable macrophages and dendritic cells to sense their lipid environment and shape their immune response. Physiol Rev. 2012;92:739-89.
35. Kitazawa S, Kajimoto K, Kondo T, Kitazawa R. Vitamin D3 supports osteoclastogenesis via functional vitamin D response element of human RANKL gene promoter. J Cell Biochem. 2003;89:771-7.

36. Hossein-Nezhad A, Spira A, Holick MF. Influence of vitamin D status and vitamin D3 supplementation on genome wide expression of white blood cells: a randomized double-blind clinical trial. PLoS One. 2013;8:e58725.
37. Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95:471-8.
38. Ginde AA, Liu MC, Camargo CA Jr. Demographic differences and trends of vitamin D insufficiency in the US population, 1988-2004. Arch Intern Med. 2009;169:626-32.
39. Sorenson M, Grant WB. Does vitamin D deficiency contribute to erectile dysfunction? Dermatoendocrinol. 2012;4:128-36.
40. Ayta IA, McKinlay JB, Krane RJ. The likely worldwide increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequences. BJU Int. 1999;84:50-6.
41. Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, MacLaughlin JA, Holick MF. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. J Clin Endocrinol Metab. 1987;64:1165–8.
42. Wang L, Song Y, Manson JE, Pilz S, März W, Michaëlsson K, i sur. Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies.Circ Cardiovasc Qual Outcomes. 2012;5:819-29.
43. Feldman C, Vitola D, Schiavo N. Detection of coronary artery disease based on the calcification indeks obtained by helical computed tomography. Arq Bras Cardiol. 2000;75:471-80.
44. Kitamura A, Kobayashi T, Ueda K, Okada T, Awata N, Sato S, i sur. Evaluation of coronary artery calcification by multi-detector row computed tomography for the detection of coronary artery stenosis in Japanese patients. J Epidemiol. 2005;15:187-93.
45. Lee JH, Ngengwe R, Jones P, Tang F, O'Keefe JH. Erectile dysfunction as a coronary artery disease risk equivalent. J Nucl Cardiol. 2008;15:800-3.
46. Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M, Jr., Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. J Am Coll Cardiol. 1990;15:827-32.
47. Santos RD, Rumberger JA, Budoff MJ, Shaw LJ, Orakzai SH, Berman D, i sur. Thoracic aorta calcification detected by electron beam tomography predicts all-cause mortality. Atherosclerosis. 2010;209:131-5.

48. Watson KE, Abrolat ML, Malone LL, Hoeg JM, Doherty T, Detrano R, i sur. Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. Circulation. 1997;96:1755-60.
49. Zittermann A, Schleithoff SS, Koerfer R. Vitamin D and vascular calcification. Curr Opin Lipidol. 2007;18:41-6.
50. Chiurlia E, D'Amico R, Ratti C, Granata AR, Romagnoli R, Modena MG. Subclinical coronary artery atherosclerosis in patients with erectile dysfunction. J Am Coll Cardiol. 2005;46:1503-6.
51. Zambon JP, Mendonça RR, Wroclawski ML, Karam Junior A, Santos RD, Carvalho JA, i sur. Cardiovascular and metabolic syndrome risk among men with and without erectile dysfunction: casecontrol study. Sao Paulo Med J. 2010;128:137-40.
52. Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, i sur. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. Circulation. 2002;106:913-9.
53. Timms PM, Mannan N, Hitman GA, Noonan K, Mills PG, Syndercombe-Court D, i sur. Circulating MMP9, vitamin D and variation in the TIMP-1 response with VDR genotype: mechanisms for inflammatory damage in chronic disorders? QJM. 2002;95:787-96.
54. Schleithoff SS, Zittermann A, Tenderich G, Berthold HK, Stehle P, Koerfer R. Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Am J Clin Nutr. 2006;83:754-9.
55. Molinari C, Uberti F, Grossini E, Vacca G, Carda S, Invernizzi M, i sur. 1A,25-dihydroxycholecalciferol induces nitric oxide production in cultured endothelial cells. Cell Physiol Biochem. 2011;27:661-8.
56. Chen S, Law CS, Gardner DG. Vitamin D-dependent suppression of endothelin-induced vascular smooth muscle cell proliferation through inhibition of cdk2 activity. J Steroid Biochem Mol Biol. 2010;122:326-32.
57. Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. JAMA. 2002;287:2570-81.
58. De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction in diabetes. Br J Pharmacol. 2000;130:963-74.

59. Awad H, Salem A, Gadalla A, El Wafa NA, Mohamed OA. Erectile function in men with diabetes type 2: correlation with glycemic control. Int J Impot Res. 2010;22:36-9.
60. Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, Krane RJ, McKinlay JB. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. J Urol. 1994;151:54-61.
61. Selvin E, Burnett AL, Platz EA. Prevalence and risk factors for erectile dysfunction in the US. Am J Med. 2007;120:151-7.
62. Malavige LS, Levy JC. Erectile dysfunction in diabetes mellitus. J Sex Med. 2009;6:1232-47.
63. Pittas AG, Harris SS, Stark PC, Dawson-Hughes B. The effects of calcium and vitamin D supplementation on blood glucose and markers of inflammation in nondiabetic adults. Diabetes Care. 2007;30:980-6.
64. Nazarian S, St Peter JV, Boston RC, Jones SA, Mariash CN. Vitamin D3 supplementation improves insulin sensitivity in subjects with impaired fasting glucose. Transl Res. 2011;158:276-81.
65. Ishii H, Suzuki H, Baba T, Nakamura K, Watanabe T. Seasonal variation of glycemic control in type 2 diabetic patients. Diabetes Care. 2001;24:1503.
66. Colas C, Garabedian M, Fontbonne A, Guillozo H, Slama G, Desplanque N, i sur. Insulin secretion and plasma 1,25-(OH)2D after UV-B irradiation in healthy adults. Horm Metab Res. 1989;21:154-5.
67. Forouhi NG, Ye Z, Rickard AP, Khaw KT, Luben R, Langenberg C, i sur. Circulating 25-hydroxyvitamin D concentration and the risk of type 2 diabetes: results from the European Prospective Investigation into Cancer (EPIC)-Norfolk cohort and updated meta-analysis of prospective studies. Diabetologia. 2012;55:2173-82.
68. Ghiadoni L, Taddei S, Virdis A. Hypertension and endothelial dysfunction: therapeutic approach. Curr Vasc Pharmacol. 2012;10:42-60.
69. Ullah MI, Uwaifo GI, Nicholas WC, Koch CA. Does vitamin d deficiency cause hypertension? Current evidence from clinical studies and potential mechanisms. Int J Endocrinol. 2010;2010:579640.
70. Li YC, Qiao G, Uskokovic M, Xiang W, Zheng W, Kong J. Vitamin D: a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. J Steroid Biochem Mol Biol. 2004;89-90:387-92.

71. Krause R, Bühring M, Hopfenmüller W, Holick MF, Sharma AM. Ultraviolet B and blood pressure. Lancet. 1998; 352:709-10.
72. Opländer C, Volkmar CM, Paunel-Görgülü A, van Faassen EE, Heiss C, Kelm M, i sur. Whole body UVA irradiation lowers systemic blood pressure by release of nitric oxide from intracutaneous photolabile nitric oxide derivates. Circ Res. 2009;105:1031-40.
73. Charach G, Rabinovich PD, Weintraub M. Seasona changes in blood pressure and frequency of related complications in elderly Israeli patients with essentia hypertension. Gerontology. 2004;50:315-21.
74. Forman JP, Giovannucci E, Holmes MD, Bischoff- Ferrari HA, Tworoger SS, Willett WC, i sur. Plasma 25-hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension. Hypertension. 2007;49:1063-9.
75. Barry MJ, Fowler FJ Jr, O'Leary MP, Bruskewitz RC, Holtgrewe HL, Mebust WK, i sur. The American Urological Association symptom index for benign prostatic hyperplasia. The Measurement Committee of the American Urological Association. J Urol. 1992;148:1549-57.
76. Liangpunsakul S, Chalasani N. Serum vitamin D concentrations and unexplained elevation in ALT among US adults. Dig Dis Sci. 2011;56:2124-9.
77. Barassi A, Pezzilli R, Colpi GM, Corsi Romanelli MM, Melzi d'Eril GV. Vitamin D and erectile dysfunction. J Sex Med. 2014;11:2792-800.
78. Broderick GA, Kadioglu A, Bivalacqua TJ, Ghanem H, Nehra A, Shamloul R. Priapism: pathogenesis, epidemiology, and management. J Sex Med. 2010;7:476-500.
79. Martínez Portillo FJ, Fernández Arancibia MI, Bach S, Alken P, Jünemann KP. Methylene blue: an effective therapeutic alternative for priapism induced by intracavernous injection of vasoactive agents. Arch Esp Urol. 2002;55:303-8.
80. Franco OH, Steyerberg EW, Hu FB, Mackenbach J, Nusselder W. Associations of diabetes mellitus with total life expectancy and life expectancy with and without cardiovascular disease. Arch Intern Med. 2007;167:1145-51.
81. Fullerton B, Jeitler K, Seitz M, Horvath K, Berghold A, Siebenhofer A. Intensive glucose control versus conventional glucose control for type 1 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev. 2014;(2):CD009122.

82. Phé V, Rouprêt M. Erectile dysfunction and diabetes: a review of the current evidence-based medicine and a synthesis of the main available therapies. Diabetes Metab. 2012;38:1-13.
83. Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. Lancet. 2001;358:1500-3.
84. Zipitis CS, Akobeng AK. Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. Arch Dis Child. 2008;93:512-7.
85. Dong JY, Zhang WG, Chen JJ, Zhang ZL, Han SF, Qin LQ. Vitamin D intake and risk of type 1 diabetes: a meta-analysis of observational studies. Nutrients. 2013;5:3551-62.
86. Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG. Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic β cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at high risk of diabetes: the Calcium and Vitamin D for Diabetes Mellitus (CaDDM) randomized controlled trial. Am J Clin Nutr. 2011;94:486-94.
87. Caretta N, de Kreutzenberg SV, Valente U, Guarneri G, Ferlin A, Avogaro A, i sur. Hypovitaminosis D is associated with erectile dysfunction in type 2 diabetes. Endocrine. 2016 Jan 12. [Epub ahead of print].
88. Zochling J, Chen JS, Seibel M, Schwarz J, Cameron ID, Cumming RG, i sur. Calcium metabolism in the frail elderly. Clin Rheumatol 2005;24:576–82.
89. Bruyere O, Decock C, Delhez M, Collette J, Reginster JY. Highest prevalence of vitamin D inadequacy in institutionalized women compared with noninstitutionalized women: a case-control study. Womens Health (Lond). 2009;5:49-54.
90. Khera M, Broderick GA, Carson CC 3rd, Dobs AS, Faraday MM, Goldstein I, i sur. Adult-Onset Hypogonadism. Mayo Clin Proc. 2016;91:908-92.
91. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. Am J Clin Nutr 2000;72:690–3.
92. Snijder MB, van Dam RM, Visser M, Deeg DJ, Dekker JM, Bouter LM, i sur. Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90:4119-23.
93. Pitroda AP, Harris SS, Dawson-Hughes B. The association of adiposity with parathyroid hormone in healthy older adults. Endocrine. 2009;36:218-23.

94. Stryer L. Biochemistry. 4. izd. New York: W.H. Freeman and Company; 1995.
95. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. Clin J Am Soc Nephrol. 2015;10:1257–72.
96. Fraser WD. Hyperparathyroidism. Lancet. 2009;374:145-58.
97. Gómez F, de la Cueva R, Wauters JP, Lemarchand-Béraud T. Endocrine abnormalities in patients undergoing longterm hemodialysis. The role of prolactin. Am J Med. 1980;68:522-30.
98. Isaac R, Merceron RE, Caillens G, Raymond JP, Ardaillou R. Effect of parathyroid hormone on plasma prolactin in man. J Clin Endocrinol Metab. 1978;47:18-23.
99. Suzuki E, Nishimatsu H, Oba S, Takahashi M, Homma Y. Chronic kidney disease and erectile dysfunction. World J Nephrol. 2014;3:220-9.
100. Massry SG, Goldstein DA, Procci WR, Kletzky OA. Impotence in patients with uremia: a possible role for parathyroid hormone. Nephron 1977;19:305-10.
101. Collaborative Depression and Sexual Dysfunction in Hemodialysis Working Group. Prevalence and correlates of erectile dysfunction in men on chronic haemodialysis: a multinational cross-sectional study. Nephrol Dial Transplant. 2012;27:2479-88.
102. Kuchuk NO, Pluijm SM, van Schoor NM, Looman CW, Smit JH, Lips P. Relationships of serum 25-hydroxyvitamin D to bone mineral density and serum parathyroid hormone and markers of bone turnover in older persons. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94:1244-50.
103. Durazo-Arvizu RA, Dawson-Hughes B, Sempos CT, Yetley EA, Looker AC, Cao G, i sur. Three-phase model harmonizes estimates of the maximal suppression of parathyroid hormone by 25-hydroxyvitamin D in persons 65 years of age and older. J Nutr. 2010;140:595-9.
104. Sai AJ, Walters RW, Fang X, Gallagher JC. Relationship between vitamin D, parathyroid hormone, and bone health. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:E436-E446.
105. Steingrimsdottir L, Gunnarsson O, Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake. JAMA. 2005;294:2336-41.
106. Krassas GE, Tziomalos K, Papadopoulou F, Pontikides N, Perros P. Erectile dysfunction in patients with hyper- and hypothyroidism: how common and should we treat? J Clin Endocrinol Metab. 2008;93:1815-9.

107. Nikoobakht MR, Aloosh M, Nikoobakht N, Mehrsay AR, Biniaz F, Karjalian MA. The role of hypothyroidism in male infertility and erectile dysfunction. Urol J. 2012;9:405-9.
108. Corona G, Wu FC, Forti G, Lee DM, O'Connor DB, O'Neill TW, i sur; EMAS Study Group. Thyroid hormones and male sexual function.Int J Androl. 2012;35:668-79.
109. Trepels T, Zeiher AM, Fichtlscherer S. The endothelium and inflammation. Endothelium. 2006;13:423-9.
110. Eaton CB, Liu YL, Mittleman MA, Miner M, Glasser DB, Rimm EB. A retrospective study of the relationship between biomarkers of atherosclerosis and erectile dysfunction in 988 men. Int J Impot Res. 2007;19:218-25.
111. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Ioakeimidis N, Rokkas K, Vasiliadou C, Alexopoulos N, i sur. Unfavourable endothelial and inflammatory state in erectile dysfunction patients with or without coronary artery disease. Eur Heart J. 2006;27:2640-8.
112. Guillot X, Semerano L, Saidenberg-Kermanac'hN, Falgarone G, Boissier MC. Vitamin D and inflammation. Joint Bone Spine. 2010;77:552-7.
113. Zittermann A, Schleithoff SS, Koerfer R. Putting cardiovascular disease and vitamin D insufficiency into perspective. Br J Nutr. 2005;94:483-92.
114. Peterson CA, Heffernan ME. Serum tumor necrosis factor-alpha concentrations are negatively correlated with serum 25(OH)D concentrations in healthy women. J Inflamm (Lond). 2008;5:10.
115. Oh J, Weng S, Felton SK, Bhandare S, Riek A, Butler B, i sur. 1,25(OH)2 vitamin d inhibits foam cell formation and suppresses macrophage cholesterol uptake in patients with type 2 diabetes mellitus. Circulation. 2009;120:687-98.
116. Salonia A, Castagna G, Saccà A, Ferrari M, Capitanio U, Castiglione F, i sur. Is erectile dysfunction a reliable proxy of general male health status? The case for the International Index of Erectile Function-Erectile Function domain. J Sex Med. 2012;9:2708-15.
117. Salonia A, Capogrosso P, Clementi MC, Castagna G, Damiano R, Montorsi F. Is erectile dysfunction a reliable indicator of general health status in men? Arab J Urol. 2013;11:203-11.
118. Jackson G, Montorsi P, Adams MA, Anis T, El-Sakka A, Miner M, i sur. Cardiovascular aspects of sexual medicine. J Sex Med. 2010;7:1608-26.

119. Buvat J, Maggi M, Gooren L, Guay AT, Kaufman J, Morgentaler A, i sur. Endocrine aspects of male sexual dysfunctions. J Sex Med. 2010;7:1627-56.
120. Gandaglia G, Briganti A, Jackson G, Kloner RA, Montorsi F, Montorsi P, i sur. A systematic review of the association between erectile dysfunction and cardiovascular disease. Eur Urol. 2014;65:968-78.
121. Glina S, Sharlip ID, Hellstrom WJ. Modifying risk factors to prevent and treat erectile dysfunction. J Sex Med. 2013;10:115-9.
122. Vlachopoulos C, Jackson G, Stefanadis C, Montorsi P. Erectile dysfunction in the cardiovascular patient. Eur Heart J. 2013;34:2034-46.
123. Gupta BP, Murad MH, Clifton MM, Prokop L, Nehra A, Kopecky SL. The effect of lifestyle modification and cardiovascular risk factor reduction on erectile dysfunction: a systematic review and meta-analysis. Arch Intern Med. 2011;171:1797-803.
124. Piazza-Gardner AK, Barry AE. Examining physical activity levels and alcohol consumption: are people who drink more active? Am J Health Promot. 2012;26:e95-104.
125. Leasure JL, Neighbors C. Impulsivity moderates the association between physical activity and alcohol consumption. Alcohol. 2014;48:361-6.
126. Chaudhary RK, Shamsi BH, Chen HM, Tan T, Tang KF, Xing JP. Risk factors for erectile dysfunction in patients with cardiovascular disease. J Int Med Res. 2016;44:718-27.
127. Artom N, Pinna G, Musso NR, Orlandini F, Malasoma P, Uccelli M, i sur. Prevalence of erectile dysfunction in a cohort of Italian hypertensive subjects. Clin Exp Hypertens. 2016;38:143-9.
128. Joosten MM, Gansevoort RT, Mukamal KJ, Koostra-Ros JE, Feskens EJM, Geleijnse JM, i sur. Urinary magnesium excretion and risk of hypertension. Hypertension. 2013;61:1161-7.
129. Larsson SC, Wolk A. Magnesium intake and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis. J Intern Med. 2007;262:208-14.
130. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, i sur. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): casecontrol study. Lancet 2004; 364: 937-52.
131. Tengs TO, Osgood ND. The link between smoking and impotence: two decades of evidence. Prev Med. 2001;32:447-52.

132. Cao S, Yin X, Wang Y, Zhou H, Song F, Lu Z. Smoking and risk of erectile dysfunction: systematic review of observational studies with meta-analysis. PLoS One. 2013;8:e60443.
133. Cao S, Gan Y, Dong X, Liu J, Lu Z. Association of quantity and duration of smoking with erectile dysfunction: a dose-response meta-analysis. J Sex Med. 2014;11:2376-84.
134. Nicolosi A, Moreira ED Jr, Shirai M, Bin Mohd Tambi MI, Glasser DB. Epidemiology of erectile dysfunction in four countries: cross-national study of the prevalence and correlates of erectile dysfunction. Urology 2003;61:201-6.
135. Cheng JY, Ng EM, Chen RY, Ko JS. Alcohol consumption and erectile dysfunction: meta-analysis of population-based studies. Int J Impot Res. 2007;19:343-52.
136. Kaplan PM. Post-traumatic stress syndrome and sexual dysfunction. J Sex Marital Ther. 1989;15:74-7.
137. Anticevic V, Britvic D. Sexual functioning in war veterans with posttraumatic stress disorder. Croat Med J. 2008;49:499-505.
138. Van der Kolk BA, McFarlane AC, Weisaeth L. Traumatic stress: the effects of overwhelming experience on mind, body, and society. New York (NY): Guilford Press; 1996.
139. Wilson JP, Friedman MJ, Lindy JD, editors. Treating psychological trauma and PTSD. New York (NY): Guilford Press; 2004.
140. Kotler M, Cohen H, Aizenberg D, Matar M, Loewenthal U, Kaplan Z, i sur. Sexual dysfunction in male posttraumatic stress disorder patients. Psychother Psychosom. 2000;69:30915.
141. Cosgrove DJ, Gordon Z, Bernie JE, Hami S, Montoya D, Stein MB, i sur. Sexual dysfunction in combat veterans with post-traumatic stress disorder. Urology. 2002;60:881-4.
142. Anglin RE, Samaan Z, Walter SD, McDonald SD. Vitamin D deficiency and depression in adults: systematic review and meta-analysis. Br J Psychiatry. 2013;202:100-7.
143. Gowda U, Mutowo MP, Smith BJ, Wluka AE, Renzaho AM. Vitamin D supplementation to reduce depression in adults: meta-analysis of randomized controlled trials. Nutrition. 2015;31:421-9.

144. Wentz LM, Eldred JD, Henry MD, Berry-Cabán CS. Clinical relevance of optimizing vitamin D status in soldiers to enhance physical and cognitive performance. J Spec Oper Med. 2014;14:58-66.
145. Smith-Harrison LI, Patel A, Smith RP. The devil is in the details: an analysis of the subtleties between phosphodiesterase inhibitors for erectile dysfunction. Transl Androl Urol. 2016;5:181-6.
146. Jackson G, Gillies H, Osterloh I. Past, present, and future: a 7-year update of Viagra (sildenafil citrate). Int J Clin Pract. 2005;59:680-91.
147. Lyngdorf P, Hemmingsen L. Epidemiology of erectile dysfunction and its risk factors: a practice-based study in Denmark. Int J Impot Res. 2004;16:105-11.

11. ŽIVOTOPIS

Bojan Sudarević rođen je 1. veljače 1982. godine u Osijeku, gdje je završio osnovnu školu i opću gimnaziju. Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku pohađao je od 2000. do 2006. godine i završio ga odličnim uspjehom, uz srednju ocjenu 4,76. Tijekom studija, od 2002. do 2006. godine nagrađen je stipendijom Osječko-baranjske županije. Odmah po završetku dodiplomskog studija, upisuje znanstveni poslijediplomski studij Biomedicina i zdravstvo Medicinskog fakulteta u Osijeku. Tijekom 2006. i 2007. godine znanstveni je novak na projektu „Imunološki faktori razvoja i progresije raka prostate“, voditelja prof. Josipa Galića, a usporedno obavlja pripravnički staž u Kliničkom bolničkom centru Osijek. Godine 2007. polaže državni ispit za doktore medicine i iste se godine zapošljava kao specijalizant urologije na Klinici za urologiju KBC-a Osijek. Specijalistički ispit iz urologije polaže 2012. godine, a od 2014. do 2016. godine obavlja užu specijalizaciju te u rujnu 2016. godine postaje subspecijalist iz transplantacije bubrega. Član je Hrvatske liječničke komore i Hrvatskog liječničkog zbora te Hrvatskog urološkog društva i Hrvatskog društva za transplantacijsku medicinu, kao i Europskog udruženja urologa (European Association of Urology). Dobitnik je 3. nagrade „Karl Storz“ za najbolju poster-prezentaciju („Lack of Association of Interleukin-10 Polymorphism and Prostate Cancer Risk in Eastern Croatian Population“) tijekom Središnjeg europskog kongresa Europskog udruženja urologa (CEM EAU) 2011. godine u Temišvaru u Rumunjskoj. Autor je i koautor znanstvenih radova od kojih je 5 objavljeno u časopisima indeksiranima u Current Contentsu, Science Citation Indexu ili Science Citation Index Expandedu.