

Streszczenie pracy doktorskiej lek. Katarzyny Kotuła-Horowitz pt. „Wpływ leczenia fenofibratem na odpowiedź rozkurczową tętnicy ramiennej, oraz stężenia N^1 -metylonikotynamidu i homocysteiny w osoczu u osób z dyslipidemią”

Choroby serca i naczyń są wiodącą przyczyną zgonów dorosłych na całym świecie. Głównymi modyfikowalnymi czynnikami ryzyka są: palenie papierosów, nadciśnienie tętnicze, dyslipidemia, otyłość (głównie centralna) i hiperglikemia. Częstość występowania hipertriglicerydemii, wzrasta na całym świecie, szczególnie w krajach rozwiniętych i do pewnego stopnia to ma związek ze zwiększeniem występowania otyłości i cukrzycy typu 2. W badaniu NATPOL 2011 stwierdzono występowanie hipertriglicerydemii u 21,1% populacji polskiej (28,4% w grupie mężczyzn oraz u 14,0% w grupie kobiet). Wykazano częstość hipertriglicerydemii u 23,9% i 36,2% oraz małe stężenie cholesterolu HDL u 27,4% i 31,7% (osób z nadwagą i otyłością, odpowiednio).

Miażdżycą jest chorobą, której najbardziej patologiczną cechą jest akumulacja cholesterolu, ale nie triglicerydów w ścianie tętnicy. Przenikanie LDL, akumulacja cholesterolu, oraz tworzenie się blaszki występuje głównie w miejscach dysfunkcji śródbłonna tętnic. Jednakże, badania eksperymentalne potwierdziły akumulację chylomikronów oraz remnantów VLDL wzbogaconych w apo E w blaszkach miażdżycowych u ludzi i królików. Wpływ remnantów lipoprotein bogatych w triglicerydy na progresję miażdżycy jest następstwem ich lipolizy w ścianie tętnicy. Ponadto, lipoliza VLDL prowadzi do uwolnienia wielu dodatkowych potencjalnie toksycznych, utlenionych kwasów tłuszczowych.

Chociaż patogeneza dysfunkcji śródbłonna jest złożona, stres oksydacyjny jest wspólnym patogennym mechanizmem wpływu różnych czynników ryzyka, oraz jest cechą zaburzeń metabolicznych, jak otyłość, insulinooporność, dyslipidemia oraz zespół metaboliczny. Stres oksydacyjny prowadzi nie tylko do zmniejszonej biodostępności NO, ale również przyczynia się do modyfikacji oksydacyjnej lipoprotein, ułatwiając powstania ox-LDL, pochodnych o silnych właściwościach proaterogennych. We wczesnym okresie, dysfunkcja śródbłonna może być odwracalnym etapem rozwoju miażdżycy, dlatego jego ocena może być ważnym narzędziem stosowanym w prewencji lub zahamowaniu postępu miażdżycy i ChNS. Metoda pomiaru FMD tętnicy ramiennej, (określany „testem reaktywnej hyperemii”), dostarcza informacji o zależnej od śródbłonna rozkurczowej funkcji tętnicy i jest także markerem biodostępności NO.

Fibraty oprócz wpływu na metabolizm lipidów, wykazują także pozalipidowe plejotropowe efekty poprzez aktywację receptorów aktywowanych proliferatorami

peroksyosomów α (*peroxisome proliferator-activated receptor α* ; PPAR α). W badaniach klinicznych wykazano, że leczenie fenofibratem poprawia odpowiedź rozkurczową tętnicy ramiennej, natomiast badania eksperymentalne dowiodły że, ligandy PPAR α zwiększają ekspresję eNOS w komórkach śródbłonna, a efekt ten jest związany z redukcją stresu oksydacyjnego. Fibraty zwiększają stężenie cholesterolu HDL tylko w niewielkim stopniu. Ponadto, ich wpływ na właściwości antyoksydacyjne HDL (aktywność paraoksonazy, PON1) oraz na markery stresu oksydacyjnego są mniej udokumentowane u ludzi. Głównym niekorzystnym efektem fibratów jest występowanie łagodnej hiperhomocysteinemii, natomiast nie stwierdzono hiperhomocysteinemii u myszy pozbawionych genu PPAR α . Aktywacja PPAR α zwiększa tempo procesów transmetylacji, które dostarczają komórkom ważnych metabolitów (kreatyna, N¹-metylonikotynamid; MNA), oraz produktu ubocznego, tj. homocysteiny.

U zdrowych osób z normo- i hipercholesterolemią, MNA skutecznie poprawiał odpowiedź rozkurczową tętnicy ramiennej, oraz po stymulacji agonistą eNOS, zwiększał uwalnianie NO w ludzkich komórkach śródbłonna. Badania wpływu fibratów na stężenia MNA były przeprowadzone tylko u gryzoni, natomiast pomimo szerokiego stosowania fenofibratu jako leku hipolipidemicznego, brak jest takich badań u ludzi. Brak jest również badań u ludzi dotyczących wpływu obu metabolitów, tj. homocysteiny i MNA na odpowiedź rozkurczową tętnicy ramiennej, pomimo powiązania metabolicznego tych związków. Dlatego głównym celem pracy była ocena wpływu leczenia fenofibratem na aktywność na odpowiedź rozkurczową tętnicy ramiennej, stężenia homocysteiny i MNA u chorych z dyslipidemią. Badano także wpływ leczenia fenofibratem na stężenie wiarygodnego markera stresu oksydacyjnego, 8-izo-PGF_{2 α} w osoczu i w moczu.

W badaniu brało udział 50 czynnych zawodowo funkcjonariuszy policji (mężczyźni) z hipertriglicydemią w wieku od 32 do 58 lat. Grupę kontrolną stanowiło 50 zdrowych, także czynnych zawodowo funkcjonariuszy policji, w wieku 32-51 lat. Krew do badań pobierano wyjściowo, po 6 i po 12 miesiącach leczenia fenofibratem w dawce 215 mg/dobę w grupie chorych, natomiast w grupie kontrolnej wyjściowo oraz po 12 miesiącach. W wymienionych punktach czasowych wykonywano pomiar FMD oraz grubość IMT tętnicy szyjnej wewnętrznej. Oznaczano: 1/ Stężenie oznaczano CRP, oraz aktywność PON1 w surowicy krwi; 2/ Stężenie TNF- α , homocysteiny, i fibrynogenu w osoczu; 3/ Stężenie MNA oraz 8-izo-PGF_{2 α} w osoczu i w moczu; 4/ Polimorfizm Q192R w genie kodującym PON1.

Obie grupy różniły się wiekiem ($42,16 \pm 5,43$ lat vs. $39,26 \pm 4,27$ lat; $p < 0,002$), 10-letnim ryzykiem wystąpienia chorób serca i naczyń (FRS) ($9,56 \pm 5,79\%$ vs. $3,43 \pm 1,94\%$; $p < 0,00001$). W grupie chorych, było 58% osób z otyłością, podczas gdy odsetek osób z nadwagą był większy w kontroli ($36,00\%$ vs. $66,00\%$; $p = 0,002$). Zespół metaboliczny stwierdzono u 80% osób z grupy chorych. Nadciśnienie tętnicze stwierdzono u 28 (56%) osób w grupie chorych i 14 (28%) osób w grupie kontrolnej. Liczba osób palących papierosy aktualnie była większa w grupie chorych (48% vs. 26% , $p = 0,02$).

Wyjściowo, średnie stężenie cholesterolu całkowitego ($5,92 \pm 0,93$ mmol/L vs. $5,13 \pm 0,92$ mmol/L; $p = 0,0001$) oraz triglicerydów ($3,91 \pm 1,66$ mmol/L vs. $1,33 \pm 0,66$ mmol/L; $p < 0,0001$) było istotnie większe, natomiast cholesterolu HDL w surowicy było istotnie mniejsze ($1,01 \pm 0,23$ mmol/L vs. $1,31 \pm 0,22$ mmol/L; $p < 0,0001$), w grupie chorych w porównaniu do kontroli. Stwierdzono istotnie mniejsze stężenia cholesterolu całkowitego po 6 i 12 miesiącach leczenia fenofibratem ($5,92 \pm 0,93$ mmol/L vs. $5,41 \pm 1,00$ mmol/L vs. $5,19 \pm 0,66$ mmol/L; $p = 0,0006$), natomiast nie stwierdzono istotnych zmian w stężeniu cholesterolu LDL ($p = 0,21$).

W porównaniu do wartości wyjściowych, po leczeniu fenofibratem, średnie stężenie cholesterolu HDL było istotnie większe po 6 ($1,01 \pm 0,23$ mmol/L vs. $1,12 \pm 0,25$ mmol/L; $1,11 \pm 0,23$ mmol/L $p = 0,02$, po 6 i 12 miesiącach). W grupie chorych, po leczeniu fenofibratem, średnie stężenie triglicerydów było istotnie mniejsze ($3,91 \pm 1,66$ mmol/L vs. $2,44 \pm 1,15$ mmol/L vs. $2,44 \pm 0,97$ mmol/L; $p < 0,00001$ po 6 oraz 12 miesiącach). W grupie kontrolnej, nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu cholesterolu całkowitego, LDL, HDL oraz triglicerydów po 12 miesiącach, w porównaniu do stężeń wyjściowych.

W grupie chorych, wyjściowo, stężenie kwasu moczowego w surowicy było istotnie większe, w porównaniu do stężenia w grupie kontrolnej ($p < 0,0001$). Stwierdzono znamienne mniejsze stężenia kwasu moczowego w surowicy po 6 ($415,56 \pm 78,07$ $\mu\text{mol/L}$ vs. $314,15 \pm 61,90$ $\mu\text{mol/L}$; $p < 0,0001$), oraz po 12 miesiącach ($415,56 \pm 78,07$ $\mu\text{mol/L}$ vs. $329,31 \pm 71,90$ $\mu\text{mol/L}$; $p < 0,0001$) leczenia fenofibratem. W grupie kontrolnej, nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniach kwasu moczowego.

Wyjściowo, średnie stężenie fibrynogenu w osoczu było istotnie większe w grupie chorych, w porównaniu do kontroli ($p = 0,02$), natomiast po leczeniu fenofibratem stężenie było istotnie mniejsze ($3,58 \pm 0,92$ g/L vs. $3,19 \pm 0,76$ g/L vs. $2,97 \pm 0,77$ g/L; $p = 0,002$ oraz $p = 0,0001$, po 6 i 12 miesiącach, odpowiednio). Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu fibrynogenu wyjściowo i po 12 miesiącach w grupie kontrolnej ($p = 0,85$). Średnie stężenia CRP oraz TNF- α były wyjściowo, istotnie większe w grupie chorych, w porównaniu

do stężeń w grupie kontrolnej ($p=0,01$, $p=0,0001$, odpowiednio). Po leczeniu fenofibratem, stężenie CRP było istotnie mniejsze po 12 miesiącach ($2,16\pm 1,94$ mg/L vs. $1,42\pm 1,12$ mg/L; $p=0,02$). Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniach TNF- α po leczeniu fenofibratem ($p=0,51$). W grupie kontrolnej, średnie stężenia CRP oraz TNF- α były zbliżone w obu punktach czasowych pomiaru ($p=n.s.$).

Przed interwencją, średnie stężenie MNA w osoczu w grupie chorych, nie różniło się od stężenia w kontroli ($18,73\pm 7,29$ vs. $18,09\pm 8,43$ ng/mL; $p=0,39$). W grupie chorych, stwierdzono znamienne większe stężenie MNA po 6 miesiącach ($18,73\pm 7,29$ ng/mL vs. $25,70\pm 11,64$ ng/mL; $p<0,0001$) i efekt ten utrzymywał się po 12 miesiącach leczenia fenofibratem ($18,73\pm 7,29$ ng/mL vs. $26,08\pm 16,29$ ng/mL; $p=0,001$). Natomiast stężenie MNA w moczu (wyrażony jako $\mu\text{g}/\text{mg}$ kreatyniny) było nieistotnie większe po leczeniu ($p=0,12$ oraz $p=0,25$, po 6 i 12 miesiącach, odpowiednio). Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu MNA wyjściowo i po 12 miesiącach, ($p=0,78$ oraz $p=0,82$, w osoczu i moczu, odpowiednio) w grupie kontrolnej.

Wyjściowo, średnie stężenie homocysteiny w osoczu w grupie chorych nie różniło się od stężeń w kontroli ($11,08\pm 3,70$ $\mu\text{mol}/\text{L}$ vs. $11,07\pm 1,65$ $\mu\text{mol}/\text{L}$; $p=0,14$). Stwierdzono znamienne większe średnie stężenie homocysteiny po 6 oraz po 12 miesiącach leczenia fenofibratem ($11,08\pm 3,70$ $\mu\text{mol}/\text{L}$ vs. $13,38\pm 2,82$ $\mu\text{mol}/\text{L}$ vs. $14,39\pm 4,28$ $\mu\text{mol}/\text{L}$; $p<0,00001$). W grupie kontrolnej, średnie stężenia homocysteiny były podobne przed i po 12 miesiącach ($11,07\pm 1,65$ $\mu\text{mol}/\text{L}$ vs. $10,58\pm 1,66$ $\mu\text{mol}/\text{L}$; $p=0,38$).

Średnie stężenie 8-izo-PGF $_{2\alpha}$ w osoczu było wyjściowo istotnie większe w grupie chorych w porównaniu do grupy kontrolnej ($7,12\pm 2,24$ pg/mL vs. $4,49\pm 1,96$ pg/mL; $p<0,0001$). Stwierdzono, istotnie mniejsze stężenia 8-izo-PGF $_{2\alpha}$ po leczeniu fenofibratem ($7,12\pm 2,24$ pg/mL vs. $5,67\pm 2,80$ pg/mL vs. $5,20\pm 2,44$ pg/mL; $p=0,004$ and $p=0,0003$, po 6 i 12 miesiącach, odpowiednio). W przeciwieństwie do 8-izo-PGF $_{2\alpha}$ w osoczu, stężenie 8-izo-PGF $_{2\alpha}/\text{mg}$ kreatyniny w moczu było wyjściowo znamienne większe w grupie kontrolnej ($221,58\pm 156,37$ pg/mg kreat. vs. $285,25\pm 156,60$ pg/mg kreat.; $p=0,01$). Po leczeniu fenofibratem stwierdzono znamienne większe średnie stężenia w moczu 8-izo-PGF $_{2\alpha}$, ($221,58\pm 156,37$ pg/mg kreat. vs. $439,52\pm 257,95$ pg/mg kreat. vs. $390,63\pm 239,18$ pg/mg kreat.; $p<0,00001$ oraz $p<0,0001$, po 6 i 12 miesiącach, odpowiednio).

Średnia wartość FMD była znamienne mniejsza w grupie chorych w porównaniu do kontroli ($6,44\pm 2,68\%$ vs. $8,02\pm 3,22\%$; $p=0,03$). Stwierdzono poprawę odpowiedzi rozkurczowej tętnicy ramiennej po leczeniu fenofibratem ($6,44\pm 2,68\%$ vs. $9,83\pm 3,31\%$ vs. $9,12\pm 2,73\%$; $p=0,00009$ oraz $p=0,0006$; po 6 i 12 miesiącach, odpowiednio). Ponadto,

po 12 miesiącach leczenia fenofibratem, wartość FMD była nieistotnie większa w porównaniu do FMD w grupie kontrolnej ($p=0,07$). W grupie kontrolnej, nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy wyjściową oraz po 12 miesiącach wartością FMD ($8,02\pm 3,22\%$ vs. $8,30\pm 3,05\%$; $p=0,51$).

Po leczeniu fenofibratem, wartość FMD była dodatnio związana ze stężeniami MNA w osoczu ($B=0,103$, $p=0,03$), oraz ujemnie ze stężeniem triglicerydów ($B=-1,400$, $p=0,0018$). Natomiast w modelu wieloczynnikowym, uwzględniającym parametry lipidowe surowicy, MNA (w osoczu lub moczu), skorygowanym na wiek i palenia papierosów, wartość FMD była ujemnie związana tylko ze stężeniem triglicerydów ($B=-1,394$, $p=0,01$, oraz $B=-1,937$, $p=0,0009$, MNA w osoczu, lub moczu odpowiednio). W analizie jednoczynnikowej i wieloczynnikowej, nie wykazano związku FMD ze stężeniem homocysteiny w osoczu. Wyjściowo, średnia wartość IMT była istotnie większa w grupie chorych z w porównaniu do grupy kontrolnej ($0,59\pm 0,01$ mm vs. $0,53\pm 0,08$ mm, $p=0,002$). W grupie chorych, nie stwierdzono zmian wartości IMT po leczeniu fenofibratem ($p=n.s.$). Podobnie, w grupie kontrolnej, nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy wartościami IMT przed i po 12 miesiącach ($p=0,82$).

Średnia aktywność PON1 w surowicy w grupie chorych nie różniła się od aktywności w grupie kontrolnej ($123,25\pm 49,20$ U/L vs. $117,46\pm 70,57$ U/L; $p=0,17$). U osób z genotypem 192QQ, aktywność PON1 przed interwencją, była znamienne większa w grupie chorych w porównaniu do kontroli ($87,30\pm 21,38$ U/L vs. $69,87\pm 18,27$ U/L; $p=0,008$), natomiast u nosicieli allelu 192R, nie stwierdzono istotnych różnic w aktywności PON1 pomiędzy chorymi i kontrolą ($173,13\pm 56,31$ U/L vs. $186,68\pm 60,04$ U/L; $p=0,77$). U nosicieli allelu 192R średnia aktywność PON1 była istotnie większa w porównaniu do osób z genotypem 192QQ ($173,13\pm 56,31$ U/L vs. $87,30\pm 21,38$ U/L; $p<0,0001$ oraz $186,68\pm 60,04$ U/L vs. $69,87\pm 18,27$ U/L; $p<0,0001$, dla chorych i kontroli, odpowiednio). Uwzględniając polimorfizm Q192R, po 6 i 12 miesiącach leczenia fenofibratem, nieistotnie większa aktywność PON1 występowała w podgrupie z genotypem 192QQ. Średnia aktywność PON1, w całej grupie kontrolnej, oraz w podgrupach uwzględniając polimorfizm Q192R, była nieistotnie większa po 12 miesiącach.

Podsumowując, w następstwie terapii fenofibratem, poprawa funkcji śródbłonna była związana z redukcją triglicerydów oraz zwiększeniem stężenia MNA, ale nie homocysteiny. Stwierdzono także zmniejszenie ogólnoustrojowego stresu oksydacyjnego oraz stanu prozapalnego, co mogło się również przyczynić do poprawy FMD. W znaczeniu klinicznym, terapia fenofibratem, poza poprawą profilu lipidowego surowicy, skutkuje również licznymi

plejotropowymi efektami, a jej wdrożenie we wczesnym, odwracalnym okresie upośledzenia funkcji śródbłonna związanego z hipertriglicydemią, odgrywa ważną rolę w ochronie naczyń.

Summary

Cardiovascular diseases are deemed the leading cause of adult deaths worldwide. The main modifiable risk factors are smoking, hypertension, dyslipidemia, obesity (mainly central) and hyperglycemia. The incidence of hypertriglyceridemia is on the rise, especially in the developed countries; this being to some extent associated with an increase in the incidence of obesity and type 2 diabetes. The NATPOL 2011 study found hypertriglyceridemia in 21.1% of Polish population (28.4% in men, and 14.0% in women). Atherogenic dyslipidemia is also likely to be on the rise. Hypertriglyceridemia was diagnosed in 23.9% and 36.2% of the subjects, as well as low HDL cholesterol in 27.4% and 31.7% (overweight and obese persons, respectively).

Atherosclerosis is a disease whose most pathological feature consists in the accumulation of cholesterol in the arterial wall, which does not hold true for the triglycerides, though. LDL penetration, cholesterol accumulation, and plaque formation occur mainly at the sites of arterial endothelial dysfunction. On the other hand, experimental studies corroborated the accumulation of chylomicrons and VLDL remnants enriched with apo E in atherosclerotic plaques in both humans and rabbits. The effect of lipoprotein remnants rich in triglycerides on the progression of atherosclerosis is attributed to their lipolysis in the arterial wall. Furthermore, lipolysis of VLDL promotes release of many additional, potentially toxic, oxidized fatty acids.

Although the origin of endothelial dysfunction is complex in character, oxidative stress is a common pathogenic mechanism for various risk factors, as well as stands for metabolic disorders, such as obesity, insulin resistance, dyslipidemia and metabolic syndrome. Not only does oxidative stress lead to reduced bioavailability of NO, but also contributes to the oxidative modification of lipoproteins, facilitating the formation of ox-LDL, derivatives of strong proatherogenic properties. In the early period, endothelial dysfunction may be a reversible stage of atherosclerosis, which is why its assessment may well be used as an essential instrument in the prevention, or inhibiting the progression of atherosclerosis and CVD. The FMD measurement of the brachial artery (referred to as the "reactive hyperemia test") provides information on the endothelium-dependent diastolic artery function, being also a marker of NO bioavailability.

Apart from affecting lipid metabolism, fibrates also exhibit pleiotropic effects whose benefits are extended beyond lipid lowering through activating the peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α). In clinical trials, fenofibrate therapy has been acknowledged to enhance the diastolic response of brachial artery, whereas experimental studies have shown that PPAR α ligands increase eNOS expression in endothelial cells, and this effect is associated with the reduction of oxidative stress. Fibrates increase HDL cholesterol only to a small extent. Furthermore, their effect on HDL antioxidant properties (paraoxonase activity, PON1), and on the oxidative stress markers are less documented in humans.

The main adverse effect of fibrates consists in the incidence of mild hyperhomocysteinemia, while hyperhomocysteinemia in PPAR α knockout mice has not been encountered. PPAR α activation increases the rate of transmethylation processes that provide the cells with essential metabolites (creatine, N¹-methylnicotinamide; MNA), and with a by-product, i.e. homocysteine. In healthy persons with normo- and hypercholesterolemia, MNA effectively enhanced the diastolic response of the brachial artery, and after stimulation with eNOS agonist, increased the release of NO in human endothelial cells.

The studies on the effect of fibrates on MNA concentrations were pursued in rodents only, whereas despite a widespread use of fenofibrate as a hypolipidemic medication, no such studies in humans are presently available. Neither are there available any studies in humans on the effects of both metabolites, i.e. homocysteine and MNA, on the diastolic response of brachial artery, despite the metabolic linkage between these compounds. The principal aim of the present study therefore consisted in assessing the effect of fenofibrate therapy on the brachial artery diastolic response, homocysteine, and MNA levels in the patients with dyslipidemia. The effect of fenofibrate treatment on the concentration of a reliable marker of oxidative stress, 8-iso-PGF_{2 α} , in plasma and in urine was also investigated.

The study involved 50 professionally active police officers (men) diagnosed with dyslipidemia, aged 32 to 58 years. The control group consisted of 50 healthy, professionally active police officers, aged 32-51. Blood samples for the study were taken initially, and then after 6, and 12 months of treatment with fenofibrate, at a dose of 215 mg/day in the group of patients, while in the control group, initially, and after 12 months. FMD measurement, and that of IMT thickness were also carried out on the internal carotid artery at the same time points. The following variables were determined: 1/ Concentration of CRP, and PON1 activity in blood serum; 2/ TNF- α , homocysteine, and fibrinogen concentration in plasma; 3/ Concentration of MNA and 8-iso-PGF_{2 α} in plasma and urine; 4 / Polymorphism Q192R in the gene encoding PON1.

Both groups differed in age (42.16 ± 5.43 years vs. 39.26 ± 4.27 years, $p < 0.002$), 10-year risk of cardiovascular disease (FRS) ($9.56 \pm 5.79\%$ vs. $3.43 \pm 1.94\%$, $p < 0.00001$). In the group of patients, 58% of persons were obese, while the percentage of overweight people was greater in the control group (36.00% vs. 66.00%, $p = 0.002$). Metabolic syndrome was established in 80% of patients. Hypertension was encountered in 28 (56%) patients, and in 14 (28%) persons in the control group. The number of current smokers was higher among the patients (48% vs. 26%, $p = 0.02$).

At baseline, mean total cholesterol (5.92 ± 0.93 mmol/L vs. 5.13 ± 0.92 mmol/L, $p = 0.0001$) and triglycerides (3.91 ± 1.66 mmol/L vs. 1.33 ± 0.66 mmol/L, $p < 0.0001$) was significantly higher, while HDL cholesterol in the serum was significantly lower (1.01 ± 0.23 mmol/L vs. 1.31 ± 0.22 mmol/L, $p < 0.0001$) in the patients, as compared to the controls. Significantly lower levels of total cholesterol were established after 6 and 12 months of treatment with fenofibrate (5.92 ± 0.93 mmol/L vs. 5.41 ± 1.00 mmol/L vs. 5.19 ± 0.66 mmol/L, $p = 0.0006$), whereas no significant changes were found in LDL cholesterol ($p = 0.21$). Compared to baseline values, following the treatment with fenofibrate, mean HDL cholesterol was significantly higher (1.01 ± 0.23 mmol/L vs. 1.12 ± 0.25 mmol/L vs. 1.11 ± 0.23 mmol/L, $p = 0.02$, after 6 and 12 months). In the group of patients, after fenofibrate treatment, the mean triglyceride concentration was significantly lower (3.91 ± 1.66 mmol/L vs. 2.44 ± 1.15 mmol/L vs. 2.44 ± 0.97 mmol/L; $p < 0.00001$, after 6 and 12 months). In the control group, no significant differences were encountered in total cholesterol, LDL, HDL and triglyceride concentrations after 12 months, as compared to baseline concentrations.

In the group of patients, at baseline, the serum uric acid concentration was significantly higher, as compared to its concentration in the control group ($p < 0.0001$). Significantly lower serum uric acid levels were reported at 6 (415.56 ± 78.07 $\mu\text{mol/L}$ vs. 314.15 ± 61.90 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0.0001$), and after 12 months (415.56 ± 78.07 $\mu\text{mol/L}$ vs. 329.31 ± 71.90 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0.0001$) of treatment with fenofibrate. In the control group, no significant differences in uric acid concentrations were reported.

At baseline, mean plasma fibrinogen concentration was significantly higher in the group of patients, as compared to the controls ($p = 0.02$), whereas after treatment with fenofibrate this concentration was significantly lower (3.58 ± 0.92 g/L vs. 3.19 ± 0.76 g/L vs. 2.97 ± 0.77 g/L, $p = 0.002$ and $p = 0.0001$, after 6 and 12 months, respectively). There were no significant differences in fibrinogen concentration at baseline, and after 12 months in the control group ($p = 0.85$).

Baseline mean concentrations of CRP and TNF- α were significantly higher in the group of patients, as compared to the controls ($p=0.01$, $p=0.0001$, respectively). After treatment with fenofibrate, CRP levels were significantly lower after 12 months (2.16 ± 1.94 mg/L vs. 1.42 ± 1.12 mg/L, $p=0.02$). There were no significant differences in TNF- α concentrations after treatment with fenofibrate ($p=n.s.$). In the control group, the mean concentrations of CRP and TNF- α were similar at both time points of the measurement ($p=n.s.$).

Prior to the intervention, the mean concentration of MNA in plasma in the group of patients did not differ from the one in the control group (18.73 ± 7.29 vs. 18.09 ± 8.43 ng/mL, $p=0.39$). In the group of patients, significantly higher concentration of MNA was reported after 6 months (18.73 ± 7.29 ng/mL vs. 25.70 ± 11.64 ng/mL, $p<0.0001$), and this effect persisted after 12 months of treatment with fenofibrate (18.73 ± 7.29 ng/mL vs. 26.08 ± 16.29 ng/mL; $p=0.001$). Whereas MNA concentration in urine (expressed as $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine) was found insignificantly higher after the treatment ($p=0.12$ and $p=0.25$, after 6 and 12 months, respectively). There were no significant differences in MNA concentration ($p=0.78$, and $p=0.82$, for plasma and urine, respectively) in the control group at baseline, nor after 12 months.

At baseline, the mean homocysteine plasma concentration in the group of patients did not differ from the one in the controls (11.08 ± 3.70 $\mu\text{mol}/\text{L}$ vs. 11.07 ± 1.65 $\mu\text{mol}/\text{L}$, $p=0.14$). Significantly higher mean homocysteine concentration after 6 and 12 months of fenofibrate treatment was reported (11.08 ± 3.70 $\mu\text{mol}/\text{L}$ vs. 13.38 ± 2.82 $\mu\text{mol}/\text{L}$ vs. 14.39 ± 4.28 $\mu\text{mol}/\text{L}$; $p<0.00001$). In the control group, mean homocysteine concentrations were similar before, and after 12 months (11.07 ± 1.65 $\mu\text{mol}/\text{L}$ vs. 10.58 ± 1.66 $\mu\text{mol}/\text{L}$, $p=0.38$).

Initially, the mean plasma concentration of 8-iso-PGF_{2 α} was significantly higher in the group of patients, as compared to the control group (7.12 ± 2.24 pg/mL vs. 4.49 ± 1.96 pg/mL, $p<0.0001$). Significantly lower concentrations of 8-iso-PGF_{2 α} were reported after treatment with fenofibrate (7.12 ± 2.24 pg/mL vs. 5.67 ± 2.80 pg/mL vs. 5.20 ± 2.44 pg/mL, $p=0.004$ and $p=0.0003$, at 6 and 12 months, respectively). As opposed to 8-iso-PGF_{2 α} in plasma, the concentration of 8-iso-PGF_{2 α} /mg creatinine in urine was initially significantly higher in the control group (221.58 ± 156.37 pg/mg creat. vs. 285.25 ± 156.60 pg/mg creat. $p=0.01$). After treatment with fenofibrate, significantly higher mean urinary concentrations of 8-iso-PGF_{2 α} were reported (221.58 ± 156.37 pg/mg creat. vs. 43.52 ± 257.95 pg/mg creat. vs. 390.63 ± 239.18 pg/mg creat., $p<0.00001$ and $p<0.0001$, after 6 and 12 months, respectively).

The mean value of FMD was significantly lower in the group of patients, as compared to the controls ($6.44\pm 2.68\%$ vs. $8.02\pm 3.22\%$, $p=0.03$). There was an improvement in diastolic response after treatment with fenofibrate ($6.44\pm 2.68\%$ vs. $9.83\pm 3.31\%$ vs. $9.12\pm 2.73\%$, $p=0.00009$ and $p=0.0006$; 6 and 12 months, respectively). Furthermore, after 12 months of fenofibrate treatment, the FMD value proved insignificantly higher, as compared to FMD in the control group ($p=0.07$). In the control group, there were no significant differences in FMD variable between the baseline measurement and the one after 12 months ($8.02\pm 3.22\%$ vs. $8.30\pm 3.05\%$, $p=0.51$).

After treatment with fenofibrate, FMD was positively associated with plasma MNA ($B=0.103$, $p=0.03$), and negatively with triglycerides ($B=-1.400$, $p=0.0018$). In a multivariate model, however, taking into account plasma lipid parameters and MNA (plasma or urine), adjusted for age and smoking, only negative association FMD with triglycerides concentration was encountered ($B=-1,394$, $p=0.01$, and $B=-1,937$, $p=0.0009$, for plasma and urine MNA, respectively). In the univariate and multivariate analyses, no FMD relationship was encountered with plasma homocysteine concentration, neither initially, nor following the treatment with fenofibrate. Initially, the mean value of IMT was significantly higher in the group of patients, as compared to the control group (0.59 ± 0.01 mm vs. 0.53 ± 0.08 mm, $p=0.002$). In the group of patients, there were no changes in the value of IMT after treatment with fenofibrate ($p=n.s.$). Likewise, in the control group, there was no significant difference between IMT values before and after 12 months ($p=0.82$).

Mean serum PON1 activity in the group of patients did not differ from the control group (123.25 ± 49.20 U/L vs. 117.46 ± 70.57 U/L, $p=0.17$). In the subjects with 192QQ genotype, PON1 activity prior to the intervention was significantly higher in the group of patients, as compared to the controls (87.30 ± 21.38 U/L vs. 69.87 ± 18.27 U/L, $p=0.008$), whereas in the carriers of the 192R allele, there were no significant differences in PON1 activity between patients and the controls (173.13 ± 56.31 U/L vs. 186.68 ± 60.04 U/L, $p=0.77$). In the carriers of the 192R allele, the average PON1 activity was significantly higher, as compared to those with the 192QQ genotype (173.13 ± 56.31 U/L vs. 87.30 ± 21.38 U/L, $p<0.0001$ and 186.68 ± 60.04 U/L vs. 69.87 ± 18.27 U/L, $p<0.0001$, for patients and the controls, respectively).

Taking into account Q202R polymorphism, after 6 and 12 months of fenofibrate treatment, insignificantly higher PON1 activity was reported in the subgroup with 192QQ genotype. The mean activity of PON1 in the entire control group, and within the subgroups, in due consideration of the polymorphism Q192R, did not differ significantly after 12 months.

In clinical terms, fenofibrate therapy, apart from improving the serum lipid profile, also brings about numerous pleiotropic effects, whereas its introduction within the reversible period of impairment of endothelial function associated with hypertriglyceridemia, is believed to be essentially instrumental in vascular protection.