



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Emerging risk factors for venous thromboembolism: The role of commonly prescribed drugs for cardiovascular disease and inflammatory disorders

Orsi Loureiro de Andrade, F.

Citation

Orsi Loureiro de Andrade, F. (2020, June 30). *Emerging risk factors for venous thromboembolism: The role of commonly prescribed drugs for cardiovascular disease and inflammatory disorders*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/123183>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/123183>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/123183> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Orsi, Loureiro de Andrade F.

Title: Emerging risk factors for venous thromboembolism: The role of commonly prescribed drugs for cardiovascular disease and inflammatory disorders

Issue Date: 2020-06-30

Samenvatting en Discussie

SAMENVATTING EN ALGEMENE DISCUSSIE

Het doel van dit proefschrift was om te onderzoeken of vaak voorgeschreven geneesmiddelen, als statines en glucocorticoïden, geassocieerd zijn met concentraties van stollingsfactoren en veneuze trombo-embolie (VTE). In dit hoofdstuk worden de belangrijkste uitkomsten uit dit proefschrift besproken alsook de mogelijke klinische implicaties.

STATINES MODULEREN HYPERCOAGULABILITEIT EN TROMBOSE RISICO

Hoofdstuk 2 betreft een samenvatting van de literatuur over het mogelijke effect van statines op hemostase en VTE risico. Meerdere observationele studies alsook klinische trials hebben aangetoond dat statinegebruikers een lager risico hebben op het krijgen van VTE. In de JUPITER trial, die tot dusverre de enige statine trial is waarbij VTE één van de te onderzoeken uitkomstmaten was, hadden rosuvastatine gebruikers een 40% lager risico op het krijgen van het krijgen van VTE [1]. Observationele studies laten een 14-54% lager risico zien op het krijgen van VTE bij statine gebruikers, en een meta-analyse van gerandomiseerde klinische trials (RCT) rapporteerde een 11-25% lager risico op het krijgen van VTE bij statinegebruikers [2-4]. Verder liet een meta-analyse van observationele studies zien dat statine gebruik geassocieerd is met een 27% lager risico op het krijgen van recidief VTE [5].

Hoewel deze bevindingen het gebruik van statine voor VTE preventie lijken aan te moedigen, zijn er een aantal mogelijke valkuilen die een dergelijke conclusie voorbarig maken. Ten eerste kan de JUPITER trial bekritiseerd worden omdat de resultaten voor VTE secundaire onderzoeksresultaten betroffen. Ten tweede waren er slechts 34 deelnemers in de JUPITER trial die een VTE ontwikkelden waardoor een type I fout dit resultaat kan hebben beïnvloed. Ten derde namen de meta-analysen van observationele studies een aantal limitaties van observationeel onderzoek, zoals confounding en survivor bias, niet mee in hun opzet [6, 7]. Als voorbeeld: statine gebruikers kunnen gezonder zijn dan niet statine gebruikers (omdat statine niet wordt voorgeschreven aan mensen met een lage levensverwachting), en daarom, onafhankelijk van statine gebruik een lager VTE risico hebben ('healthy user effect') [8]. Ook kan de inclusie van prevalentie statine gebruikers (dat zijn degenen die al statine gebruiken voordat de studie begint) leiden tot

het missen van gegevens van mensen die wel statine gebruikten, maar daar ofwel mee gestopt waren, of wel overleden waren alvorens de studie begon ('survivor bias'). Ook kunnen observationele studies veelal niet corrigeren voor therapietrouw van statine, en kunnen observationele studies dat zeker niet doen als de niet therapietrouwe patiënten gestopt zijn met statine alvorens de studie begon ('adherence bias') [6]. Ten vierde, de meta-analyse van RCTs had ongepubliceerde (niet 'peer reviewed') data toegevoegd, wat de resultaten mogelijk heeft vertekend. Ten vijfde, de meta-analyse waaruit bleek dat statinetherapie mogelijk het risico op recidief VTE kon verlagen, betrof enkel (kleine) observationele studies en het kan niet uitgesloten worden dat ten gevolge van deze onderzoeksopzet de resultaten vertekend zijn.

Tot dusverre zijn er geen statine trials verricht of op dit moment lopend die recidief trombose als primaire uitkomst hebben. Hoewel betere onderzoeksmethoden nodig zijn om te onderzoeken of statinegebruik het risico op eerste en/of recidief VTE kan verlagen, is de verwachting dat dit de komende jaren niet zal gebeuren omdat dergelijke studies (RCTs) jaren duren en nog niet zijn opgezet. De enige trial die op dit moment patiënten met VTE randomiseert op statine, is de SAVER trial (NCT02679664). Echter, deze trial heeft post-trombotisch syndroom als uitkomstmaat en niet recidief VTE.

Een mogelijke verklaring waarom kostbare trials niet worden uitgevoerd om het effect van statine of (recidief) VTE te onderzoeken is omdat de pathofysiologie van *hoe* statines VTE risico kunnen verlagen niet duidelijk is. Om deze reden werden de effecten van statines op de hemostase samengevat in **Hoofdstuk 2**, waar we zagen dat zowel basale als klinische studies suggereren dat statines plaatjesreactiviteit kunnen beïnvloeden [9-21], de initiatie en amplificatie van de stolling downreguleren [12, 14, 22-32] en de fibrinolyse stimuleren [33-37]. Echter, het mechanisme dat het onderliggende effect van statines op de hemostase doet verklaren is onbekend. De gerapporteerde bevindingen van statine effecten op de hemostase kunnen daarom ook wel worden bekeken worden als de parabel van de blinde reizigers en de olifant. Deze parabel gaat over zes blinde reizigers die op hun levensweg tegen verschillende delen van een olifant aanlopen. Elke blinde reiziger schept vervolgens zijn eigen versie van de realiteit, gebaseerd op zijn eigen beperkte ervaring en perspectief. De moraal van deze parabel is een waarschuwing tegen absolute waarheden op plekken waar scepsis meer op zijn plaats is.

Het meest bekende mechanisme van hoe statines de hemostase kunnen beïnvloeden is via downregulatie van tissue factor (TF) expressie op het endotheel en monocytten door een direct remmend effect op de transcriptieactiviteit van het TF gen [38-42]. Ofschoon dit mechanisme deels de downregulatie van coagulatie kan verklaren, verklaart het niet de remming van plaatjesfunctie en fibrinolyse, wat ook wordt toegeschreven aan statinegebruik. Verder is TF niet geassocieerd met VTE risico [43] en kan om die reden TF antigeen- of activiteitremming door statine niet het effect van statine op vermindering van het VTE risico verklaren. Het zou interessant zijn om te kijken of statine ook globale testen van pro-coagulatie kan beïnvloeden die *wel* geassocieerd zijn met een verhoogd VTE risico.

Om deze reden werd in **Hoofdstuk 3** onderzocht of rosuvastatine trombinegeneratie kan beïnvloeden in patiënten met VTE die gerandomiseerd waren in de START trial. De trombinegeneratie test is een globale stollingstest, [44,45] die het risico op eerste VTE en recidief VTE kan voorspellen [49-51]. De START trial is een RCT die als primair onderzoeksdoel heeft om te onderzoeken of het stollingsprofiel verandert door statine bij patiënten die eerder VTE hadden gehad. Nadat patiënten gestopt waren met antistollingstherapie werden zij voor vier weken al dan niet gerandomiseerd op rosuvastatine (20mg/dag). De trombinegeneratie potentiaal werd beoordeeld aan het begin van de studie (baseline) en 4 weken later (end of study). Het primaire eindpunt was het verschil in verandering van endogeen trombine potentiaal (ETP) en trombine generatie piek tussen rosuvastatinegebruikers en niet-statine gebruikers. De analyses werden onder 'intention to treat' uitgevoerd en regressiemodellen werden gecorrigeerd voor leeftijd en geslacht. De studie bevatte 245 patiënten, 126 rosuvastatine gebruikers en 199 niet-statine gebruikers. De gemiddelde leeftijd was 58 jaar, 61% was man, 49% had een niet-uitgelokte VTE en 75% had cardiovasculaire (CV) risicofactoren. De ETP nam toe van baseline naar end of study in de niet-statine gebruikers (gemiddeld verschil 97.22nM*min; 95%BI 40.92 tot 153.53) en nam af in rosuvastatine gebruikers (gemiddeld verschil -24.94nM*min; 95%BI -71.81 tot 21.93). Het gemiddeld verschil in ETP verandering tussen beide behandelgroepen was -120.24nM*min (95%BI -192.97 tot -47.51), oftewel een 10.4% reductie in ETP door rosuvastatine. De trombinepiek nam toe in zowel de niet-statine groep (gemiddeld verschil: 20.69nM; 95%BI 9.80 tot 31.58) en de rosuvastatine groep (gemiddeld verschil: 8.41nM; 95%BI -0.86 tot 17.69). Het

gemiddelde verschil in trombine piek tussen beide behandelgroepen was -11.88nM (95%BI -26.11 tot 2.35), oftewel een 5% afname in trombinepiek door rosuvastatine. Andere trombinegeneratie parameters, zoals tijd tot piek, 'lag time' en 'velocity index' veranderden niet substantieel. Subgroep-analysen in relatie tot geslacht en oorzaak van VTE (uitgelokt vs onuitgelokt) lieten soortgelijke resultaten zien als de hoofdanalyse, maar de reductie van ETP was sterker in deelnemers met CV risicofactoren en met een longembolie.

Geconcludeerd werd dat 20mg/dag rosuvastatine het stollingsprofiel verbetert in patiënten met eerdere VTE omdat het de trombinegeneratiepotentiaal verlaagt. Gegeven dat trombinegeneratie geassocieerd is met eerste VTE [16, 28, 29, 31] en het risico op recidief VTE kan voorspellen [25-27, 30], interpreteren wij deze bevinding als zijnde dat statines het potentieel hebben om de kans op VTE te verlagen doordat zij de trombinegeneratie verlagen.

Een andere vraag is of het effect van statines op de hemostase afhankelijk is van de lipiden-veranderende effecten van statine gebruik. *In vitro* studies hebben aangetoond dat statines in staat zijn om TF-expressie en plaatjesactiviteit te onderdrukken via een mechanisme dat niet samenhangt met de lipiden-veranderende effecten van statinegebruik [11, 20, 52]. Echter, of de effecten van statinegebruik op de hemostase volledig via niet-lipiden-veranderende mechanismen lopen is niet aangetoond [16, 53, 54]. Recentelijk zijn apolipoproteïnen (apos) A en B geassocieerd met een afwijkend stollingsprofiel [53]. In **Hoofdstuk 4**, hebben we onderzocht of er een associatie bestond tussen apos C-I,-II,-III and E met coagulatie en VTE risico.

Apos C-I, C-II, C-III en E zijn geassocieerd met het risico op arteriële cardiovasculaire aandoeningen, maar of deze apos ook prothrombotische eigenschappen hebben, en daarmee het risico op VTE verhogen, is onbekend. Om protrombotische effecten van deze apos te onderzoeken werden 127 VTE patiënten en 299 controles geselecteerd uit de MEGA studie. Apos waarden werden bepaald met massaspectrometrie (LC/MS/MS). In controles waren stijgende waarden van apolipoproteïnen geassocieerd met toegenomen waarden van vitamine K afhankelijke stollingsfactoren, factor XI en clot lysis tijd. Daarnaast waren hogere apos C-III en E geassocieerd met toegenomen factor VIII en von Willebrand factor. C-reactief proteïne was niet geassocieerd met apolipoproteïne. De

leeftijd en geslacht gecorrigeerde odds ratio voor VTE van apos E, C-III, CII en CI (per SD toename) waren respectievelijk 1.21 (95% BI, 0.98-1.49), 1.19 (0.99-1.44), 1.24 (0.95-1.61) en 1.06 (95% BI, 0.87-1.30). Deze odds ratios werden niet beïnvloed door correcties voor statinegebruik, oestrogeengebruik, BMI, alcoholgebruik, en diabetes. Geconcludeerd werd dat apos C-I, C-II, C-III en E geassocieerd zijn met meerdere stollingsfactoren. Echter, of deze apos ook geassocieerd zijn met een toegenomen VTE risico is onzeker gezien de analyse in ons onderzoek gebaseerd was op kleine aantallen. De bevindingen zijn echter consistent met uitkomsten uit andere populatiestudies waar apo A en B geassocieerd waren met een mild verhoogd risico op VTE [53]. Toekomstige klinische studies en trials dienen uit te wijzen of de effecten van statine op stollingsfactoren al dan niet lopen via apolipoproteïnen.

ROL VAN GLUCOCORTICOIDEN MET BETREKKING TOT TROMBOSE RISICO: SPELERS OF TOESCHOUWERS?

Systemische glucocorticoïden zijn hormonale steroïden die voorgeschreven worden om opvlammingen van inflammatoire ziekten te remmen [58-62]. Deze middelen zijn effectief, maar hebben ook een aantal bijwerkingen. Experimentele studies hebben aangetoond dat glucocorticoïdgebruik leidt tot stijging van stollingsfactoren, en mogelijk ook het risico op VTE doet verhogen [63-65]. Echter, verschillende confounders zouden het toegenomen VTE risico in deze relatie kunnen doen verklaren, zoals opvlammingen van inflammatoire ziekten [59, 66, 67], co-morbiditeit [58-62,68] en toxiciteit van concomitant medicijngebruik [69]. Het effect van onderliggende ziekte is een probleem omdat onderliggende ziekten als astma, reumatoïde artritis, maligniteit en SLE vaak worden behandeld met glucocorticoïden, terwijl al deze ziekten ook het risico op VTE 3-9-voudig verhogen [59-62, 66, 67, 70, 71]. Wat ook problematisch is, is dat de suppressie van inflammatie door glucocorticoïden het ontstaansproces van VTE kan remmen ('confounding by indication') [68,72, 73]. Om deze redenen hebben wij in **Hoofdstuk 5** onderzocht of het risico op eerste VTE en recidief VTE was geassocieerd met gebruik van orale glucocorticoïden, waarbij we (voor het risico op eerste VTE) potentiële confounders als onderliggende ziekte elimineerden met behulp van de 'self-controlled case-series' (SCCS) methode. Het effect van oraal glucocorticoïdgebruik op recidief VTE werd onderzocht in een cohortdesign. Patiënten met VTE uit de MEGA-studie werden gekoppeld aan het register van Stichting Farmaceutische Kengetallen (SFK). De

koppeling werd gemaakt op basis van een combinatie van leeftijd, geslacht, 4 karakter postcode en vitamine K antagonist gebruik in de maand rondom datum van VTE. Voorschriften van orale glucocorticoïden werden daarna gekoppeld op individueel niveau aan deze patiënten uit de MEGA studie. Het relatief risico op eerste VTE werd berekend met de SCCS methode. De associatie tussen oraal glucocorticoïd gebruik en recidief VTE werd geschat met behulp van Cox regressie. In totaal werden 2547 patiënten gekoppeld aan het SFK register. Van hen ontvingen 363 patiënten ten minste één medicijnvoorschrift voor orale glucocorticoïden. Het risico op eerste VTE was 3.5-voudig verhoogd over de totale follow-up periode (incidence rate ratio [IRR] 3.5, 95% BI, 2.6-4.8). De IRR voor eerste VTE was 2.5 (95% BI, 1.1– 5.7) in de week voordat de behandeling startte, 5.3 (95% BI, 2.9 – 9.5) in de eerste 7 dagen van behandeling, 3.7 (95% BI, 2.6 – 5.2) tot aan 6 maanden van behandeling en 1.6 (95% BI, 0.8 – 3.1) na 6 maanden behandeling met orale glucocorticoïden. Een dosis-response effect tussen oraal glucocorticoïd gebruik en VTE risico werd gezien, waarbij de IRR van oraal glucocorticoïd gebruik en VTE risico 3.4 (95% BI, 2.3 – 5.0) was met cumulatieve glucocorticoïd doseringen beneden 300 mg per 30 dagen tot 4.9 (95% BI, 1.7 – 14.0) met cumulatieve doseringen boven de 2000mg per 30 dagen. De IRR voor DVT (3.9; 95% BI, 2.9 – 9.5) was vergelijkbaar met de IRR voor PE (3.1; 95% BI, 2.0 – 4.9) en iets lager voor de IRR voor niet-uitgelokte VTE (2.4; 95% BI, 1.3 – 4.7) dan voor uitgelokte VTE (4.2; 95% BI, 2.9 – 6.0). De incidenties voor recidief VTE waren verhoogd in patiënten met niet-uitgelokte eerste VTE en in patiënten die een eerste VTE onder glucocorticoïd gebruik hadden ontwikkeld. Het risico op recidief VTE was 2.7-voudig verhoogd (95% BI, 1.6 – 4.8) gedurende behandelperioden met glucocorticoïden. Geconcludeerd werd dat patiënten die glucocorticoïden gebruiken een >3-voudig verhoogd risico op eerste VTE hebben en een 2-voudig verhoogd risico voor recidief VTE hebben. Verklarende factoren als onderliggende ziekte bij patiënten die glucocorticoïden gebruiken konden deze bevindingen maar deels verklaren. Een klinische implicatie van deze bevindingen is dat tromboseprofylaxe strategieën op hun plaats lijken te zijn in patiënten die worden behandeld met glucocorticoïden. Klinische trials zijn nodig om deze bevindingen te bevestigen.

Conclusies

Statines en systemische glucocorticoïden zijn vaak voorgeschreven geneesmiddelen en kunnen het risico op VTE op verschillende manieren beïnvloeden. Systemisch

glucocorticoïd gebruik verhoogt het risico op eerste VTE meer dan 3-voudig en leidt tot een 5% hoger *absoluut risico* op het krijgen van een recidief VTE. Deze data ondersteunen dat tijdelijk gebruik van glucocorticoïden ten tijde van trombose dient te worden gezien als uitlokkende factor van VTE. Ook benadrukken deze data dat behandelstrategieën nodig zijn om het risico van VTE te verlagen ten tijde van glucocorticoïd gebruik. Deze behandelstrategieën dienen te worden onderzocht in klinische trials.

Daarnaast kan rosuvastatine mogelijk het risico op eerste VTE met 40% reduceren. Hoewel het mechanisme achter deze bevinding niet volledig duidelijk is, heeft dit proefschrift laten zien dat rosuvastatine in staat is om de trombinegeneratiepotentiaal met 10% te verminderen bij patiënten die eerder een VTE hebben gehad. Dat rosuvastatine het stollingsprofiel kan moduleren terwijl rosuvastatine niet geassocieerd is met een verhoogd bloedingsprofiel, maakt langdurige behandeling van VTE met rosuvastatine een aantrekkelijke keus. Echter, of statines het risico op recidief VTE kunnen verlagen is niet onderzocht in dit proefschrift en dient elders te worden onderzocht met behulp van klinische trials.

In conclusie, dit proefschrift heeft aangetoond dat zowel statines als systemische glucocorticoïden het risico op VTE kunnen beïnvloeden. Deze bevindingen kunnen klinisch relevant zijn gezien de bevindingen impliceren dat beide geneesmiddelen in overweging moeten worden genomen bij het beoordelen van VTE risico. Daarnaast ondersteunen deze data dat behandelstrategieën nodig zijn met betrekking tot het voorkomen van VTE met statines als dat ook behandelstrategieën nodig om VTE te voorkomen bij patiënten die glucocorticoïden gebruiken.

Referentielijst

1. Glynn RJ, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Ridker PM. A randomized trial of rosuvastatin in the prevention of venous thromboembolism. *The New England journal of medicine*. 2009; **360**: 1851-61. 10.1056/NEJMoa0900241.
2. Kunutsor SK, Seidu S, Khunti K. Statins and primary prevention of venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Haematology*. 2017; **4**: e83-e93. 10.1016/S2352-3026(16)30184-3.
3. Pai M, Evans NS, Shah SJ, Green D, Cook D, Crowther MA. Statins in the prevention of venous thromboembolism: a meta-analysis of observational studies. *Thromb Res*. 2011; **128**: 422-30. 10.1016/j.thromres.2011.05.012.
4. Rahimi K, Bhala N, Kamphuisen P, Emberson J, Biere-Rafi S, Krane V, Robertson M, Wikstrand J, McMurray J. Effect of statins on venous thromboembolic events: a meta-analysis of published and unpublished evidence from randomised controlled trials. *PLoS Med*. 2012; **9**: e1001310. 10.1371/journal.pmed.1001310.
5. Kunutsor SK, Seidu S, Khunti K. Statins and secondary prevention of venous thromboembolism: pooled analysis of published observational cohort studies. *European heart journal*. 2017; **38**: 1608-12. 10.1093/eurheartj/ehx107.
6. van Rein N, Cannegieter SC, le Cessie S, Rosendaal FR, Reitsma PH, van der Meer FJ, Lijfering WM. Statins and Risk of Bleeding: An Analysis to Evaluate Possible Bias Due to Prevalent Users and Healthy User Aspects. *Am J Epidemiol*. 2016; **183**: 930-6. 10.1093/aje/kwv255.
7. Danaei G, Tavakkoli M, Hernan MA. Bias in observational studies of prevalent users: lessons for comparative effectiveness research from a meta-analysis of statins. *Am J Epidemiol*. 2012; **175**: 250-62. 10.1093/aje/kwr301.
8. Thomsen RW. The lesser known effects of statins: benefits on infectious outcomes may be explained by "healthy user" effect. *BMJ*. 2006; **333**: 980-1. 10.1136/bmj.39024.513218.BE.

9. Ali FY, Armstrong PC, Dhanji AR, Tucker AT, Paul-Clark MJ, Mitchell JA, Warner TD. Antiplatelet actions of statins and fibrates are mediated by PPARs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; **29**: 706-11. 10.1161/ATVBAHA.108.183160.
10. Puccetti L, Pasqui AL, Pastorelli M, Bova G, Cercignani M, Palazzuoli A, Angori P, Auteri A, Bruni F. Time-dependent effect of statins on platelet function in hypercholesterolaemia. *European journal of clinical investigation.* 2002; **32**: 901-8.
11. Haramaki N, Ikeda H, Takenaka K, Katoh A, Sugano R, Yamagishi S, Matsuoka H, Imaizumi T. Fluvastatin alters platelet aggregability in patients with hypercholesterolemia: possible improvement of intraplatelet redox imbalance via HMG-CoA reductase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; **27**: 1471-7. 10.1161/ATVBAHA.106.128793.
12. Ural AU, Yilmaz MI, Avcu F, Yalcin A. Treatment with cerivastatin in primary mixed hyperlipidemia induces changes in platelet aggregation and coagulation system components. *International journal of hematology.* 2002; **76**: 279-83.
13. Puccetti L, Pasqui AL, Pastorelli M, Bova G, Di Renzo M, Leo A, Cercignani M, Palazzuoli A, Auteri A, Bruni F. Platelet hyperactivity after statin treatment discontinuation. *Thromb Haemost.* 2003; **90**: 476-82. 10.1160/TH03-02-0111.
14. Dujovne CA, Harris WS, Altman R, Overhiser RW, Black DM. Effect of atorvastatin on hemorheologic-hemostatic parameters and serum fibrinogen levels in hyperlipidemic patients. *The American journal of cardiology.* 2000; **85**: 350-3.
15. Aoki I, Aoki N, Kawano K, Shimoyama K, Maki A, Homori M, Yanagisawa A, Yamamoto M, Kawai Y, Ishikawa K. Platelet-dependent thrombin generation in patients with hyperlipidemia. *Journal of the American College of Cardiology.* 1997; **30**: 91-6.
16. Lippi G, Franchini M, Targher G. Arterial thrombus formation in cardiovascular disease. *Nature reviews Cardiology.* 2011; **8**: 502-12. 10.1038/nrcardio.2011.91.
17. Hamada M, Sugimoto M, Matsui H, Mizuno T, Shida Y, Doi M, Fukushima H, Nishio K, Yoshioka A, Shima M. Antithrombotic properties of pravastatin reducing intra-thrombus fibrin deposition under high shear blood flow conditions. *Thromb Haemost.* 2011; **105**: 313-20. 10.1160/TH10-09-0587.

18. Gertz K, Laufs U, Lindauer U, Nickenig G, Bohm M, Dirnagl U, Endres M. Withdrawal of statin treatment abrogates stroke protection in mice. *Stroke*. 2003; **34**: 551-7.
19. Ni R, Peleg T, Gross PL. Atorvastatin delays murine platelet activation in vivo even in the absence of endothelial NO synthase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012; **32**: 2609-15. 10.1161/ATVBAHA.112.300090.
20. Laufs U, Gertz K, Huang P, Nickenig G, Bohm M, Dirnagl U, Endres M. Atorvastatin upregulates type III nitric oxide synthase in thrombocytes, decreases platelet activation, and protects from cerebral ischemia in normocholesterolemic mice. *Stroke*. 2000; **31**: 2442-9.
21. Schafer A, Fraccarollo D, Eigenthaler M, Tas P, Firmschild A, Frantz S, Ertl G, Bauersachs J. Rosuvastatin reduces platelet activation in heart failure: role of NO bioavailability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; **25**: 1071-7. 10.1161/01.ATV.0000161926.43967.df.
22. Sahebkar A, Serban C, Mikhailidis DP, Undas A, Lip GY, Muntner P, Bittner V, Ray KK, Watts GF, Hovingh GK, Rysz J, Kastelein JJ, Banach M, Lipid, Blood Pressure Meta-analysis Collaboration G. Association between statin use and plasma D-dimer levels. A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Thrombosis and haemostasis*. 2015; **114**: 546-57. 10.1160/TH14-11-0937.
23. Sahebkar A, Serban C, Ursoniu S, Mikhailidis DP, Undas A, Lip GY, Bittner V, Ray K, Watts GF, Hovingh GK, Rysz J, Kastelein JJ, Banach M, Lipid, Blood Pressure Meta-analysis Collaboration G. The impact of statin therapy on plasma levels of von Willebrand factor antigen. Systematic review and meta-analysis of randomised placebo-controlled trials. *Thrombosis and haemostasis*. 2016; **115**: 520-32. 10.1160/TH15-08-0620.
24. Ordulu E, Erdogan O. Early effects of low versus high dose atorvastatin treatment on coagulation and inflammation parameters in patients with acute coronary syndromes. *International journal of cardiology*. 2008; **128**: 282-4. 10.1016/j.ijcard.2007.06.030.
25. Tousoulis D, Bosinakou E, Kotsopoulou M, Antoniadis C, Katsi V, Stefanadis C. Effects of early administration of atorvastatin treatment on thrombotic process in

normocholesterolemic patients with unstable angina. *International journal of cardiology*. 2006; **106**: 333-7. 10.1016/j.ijcard.2005.02.011.

26. Undas A, Celinska-Lowenhoff M, Brummel-Ziedins KE, Brozek J, Szczeklik A, Mann KG. Simvastatin given for 3 days can inhibit thrombin generation and activation of factor V and enhance factor Va inactivation in hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; **25**: 1524-5. 10.1161/01.ATV.0000168913.25278.38.

27. Undas A, Brummel KE, Musial J, Mann KG, Szczeklik A. Simvastatin depresses blood clotting by inhibiting activation of prothrombin, factor V, and factor XIII and by enhancing factor Va inactivation. *Circulation*. 2001; **103**: 2248-53.

28. Krysiak R, Okopien B. Effect of simvastatin on hemostasis in patients with isolated hypertriglyceridemia. *Pharmacology*. 2013; **92**: 187-90. 10.1159/000341909.

29. Morishita E, Asakura H, Saito M, Yamazaki M, Ontachi Y, Mizutani T, Kato M, Matsuda T, Nakao S. Elevated plasma levels of free-form of TFPI antigen in hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis*. 2001; **154**: 203-12.

30. Porreca E, Di Febbo C, Amore C, Di Castelnuovo A, Baccante G, Donati MB, Cuccurullo F, Iacoviello L. Effect of lipid-lowering treatment on factor VII profile in hyperlipidemic patients. *Thromb Haemost*. 2000; **84**: 789-93.

31. Morishita E, Minami S, Ishino C, Kanno M, Uotani C, Asakura H, Matsuda T, Nakao S. Atorvastatin reduces plasma levels of factor VII activity and factor VII antigen in patients with hyperlipidemia. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2002; **9**: 72-7.

32. Biedermann JS, Kruip M, van der Meer FJ, Rosendaal FR, Leebeek FWG, Cannegieter SC, Lijfering WM. Rosuvastatin use improves measures of coagulation in patients with venous thrombosis. *European heart journal*. 2018; **39**: 1740-7. 10.1093/eurheartj/ehy014.

33. Sahebkar A, Catena C, Ray KK, Vallejo-Vaz AJ, Reiner Z, Sechi LA, Colussi G. Impact of statin therapy on plasma levels of plasminogen activator inhibitor-1. A

systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Thrombosis and haemostasis*. 2016; **116**: 162-71. 10.1160/TH15-10-0770.

34. Bruni F, Pasqui AL, Pastorelli M, Bova G, Di Renzo M, Cercigani M, Leo A, Auteri A, Puccetti L. Effect of atorvastatin on different fibrinolysis mechanisms in hypercholesterolemic subjects. *International journal of cardiology*. 2004; **95**: 269-74. 10.1016/j.ijcard.2003.08.003.

35. Dangas G, Smith DA, Unger AH, Shao JH, Meraj P, Fier C, Cohen AM, Fallon JT, Badimon JJ, Ambrose JA. Pravastatin: an antithrombotic effect independent of the cholesterol-lowering effect. *Thromb Haemost*. 2000; **83**: 688-92.

36. Dangas G, Badimon JJ, Smith DA, Unger AH, Levine D, Shao JH, Meraj P, Fier C, Fallon JT, Ambrose JA. Pravastatin therapy in hyperlipidemia: effects on thrombus formation and the systemic hemostatic profile. *J Am Coll Cardiol*. 1999; **33**: 1294-304.

37. Bevilacqua M, Bettica P, Milani M, Vago T, Rogolino A, Righini V, Santoli E, Norbiato G. Effect of fluvastatin on lipids and fibrinolysis in coronary artery disease. *The American journal of cardiology*. 1997; **79**: 84-7.

38. Ferro D, Basili S, Alessandri C, Cara D, Violi F. Inhibition of tissue-factor-mediated thrombin generation by simvastatin. *Atherosclerosis*. 2000; **149**: 111-6.

39. Camera M, Toschi V, Comparato C, Baetta R, Rossi F, Fuortes M, Ezekowitz MD, Paoletti R, Tremoli E. Cholesterol-induced thrombogenicity of the vessel wall: inhibitory effect of fluvastatin. *Thromb Haemost*. 2002; **87**: 748-55.

40. Nagata K, Ishibashi T, Sakamoto T, Ohkawara H, Shindo J, Yokoyama K, Sugimoto K, Sakurada S, Takuwa Y, Nakamura S, Teramoto T, Maruyama Y. Rho/Rho-kinase is involved in the synthesis of tissue factor in human monocytes. *Atherosclerosis*. 2002; **163**: 39-47.

41. Eto M, Kozai T, Cosentino F, Joch H, Luscher TF. Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells: role of Rho/Rho-kinase and Akt pathways. *Circulation*. 2002; **105**: 1756-9.

42. Colli S, Eligini S, Lalli M, Camera M, Paoletti R, Tremoli E. Vastatins inhibit tissue factor in cultured human macrophages. A novel mechanism of protection against atherothrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; **17**: 265-72.
43. Manly DA, Boles J, Mackman N. Role of tissue factor in venous thrombosis. *Annual review of physiology.* 2011; **73**: 515-25. 10.1146/annurev-physiol-042210-121137.
44. Brummel-Ziedins K, Vossen CY, Rosendaal FR, Umezaki K, Mann KG. The plasma hemostatic proteome: thrombin generation in healthy individuals. *J Thromb Haemost.* 2005; **3**: 1472-81. 10.1111/j.1538-7836.2005.01249.x.
45. Morishima Y, Kamisato C. Laboratory measurements of the oral direct factor Xa inhibitor edoxaban: comparison of prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and thrombin generation assay. *Am J Clin Pathol.* 2015; **143**: 241-7. 10.1309/AJCPQ2NJD3PXFTUG.
46. Dielis AW, Castoldi E, Spronk HM, van Oerle R, Hamulyak K, Ten Cate H, Rosing J. Coagulation factors and the protein C system as determinants of thrombin generation in a normal population. *J Thromb Haemost.* 2008; **6**: 125-31. 10.1111/j.1538-7836.2007.02824.x.
47. Segers O, van Oerle R, ten Cate H, Rosing J, Castoldi E. Thrombin generation as an intermediate phenotype for venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 2010; **103**: 114-22. 10.1160/TH09-06-0356.
48. ten Cate-Hoek AJ, Dielis AW, Spronk HM, van Oerle R, Hamulyak K, Prins MH, ten Cate H. Thrombin generation in patients after acute deep-vein thrombosis. *Thromb Haemost.* 2008; **100**: 240-5.
49. Ten Cate H. Thrombin generation in clinical conditions. *Thromb Res.* 2012; **129**: 367-70. 10.1016/j.thromres.2011.10.017.
50. Tripodi A. Thrombin Generation Assay and Its Application in the Clinical Laboratory. *Clin Chem.* 2016; **62**: 699-707. 10.1373/clinchem.2015.248625.

51. van Veen JJ, Gatt A, Makris M. Thrombin generation testing in routine clinical practice: are we there yet? *Br J Haematol.* 2008; **142**: 889-903. 10.1111/j.1365-2141.2008.07267.x.
52. Vaughan CJ, Gotto AM, Jr., Basson CT. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology.* 2000; **35**: 1-10.
53. Morelli VM, Lijfering WM, Bos MHA, Rosendaal FR, Cannegieter SC. Lipid levels and risk of venous thrombosis: results from the MEGA-study. *Eur J Epidemiol.* 2017. 10.1007/s10654-017-0251-1.
54. Moyer MP, Tracy RP, Tracy PB, van't Veer C, Sparks CE, Mann KG. Plasma lipoproteins support prothrombinase and other procoagulant enzymatic complexes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; **18**: 458-65.
55. Kraaijenhagen RA, in't Anker PS, Koopman MM, Reitsma PH, Prins MH, van den Ende A, Buller HR. High plasma concentration of factor VIIIc is a major risk factor for venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* 2000; **83**: 5-9.
56. Kyle PA, Minar E, Hirschl M, Bialonczyk C, Stain M, Schneider B, Weltermann A, Speiser W, Lechner K, Eichinger S. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 2000; **343**: 457-62. 10.1056/NEJM200008173430702.
57. Koster T, Blann AD, Briet E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet.* 1995; **345**: 152-5.
58. Bertoletti L, Quenet S, Mismetti P, Hernandez L, Martin-Villasclaras JJ, Tolosa C, Valdes M, Barron M, Todoli JA, Monreal M, Investigators R. Clinical presentation and outcome of venous thromboembolism in COPD. *The European respiratory journal.* 2012; **39**: 862-8. 10.1183/09031936.00058811.
59. Grainge MJ, West J, Card TR. Venous thromboembolism during active disease and remission in inflammatory bowel disease: a cohort study. *Lancet.* 2010; **375**: 657-63. 10.1016/S0140-6736(09)61963-2.

60. Peeters PJ, Bazelier MT, Uitdehaag BM, Leufkens HG, De Bruin ML, de Vries F. The risk of venous thromboembolism in patients with multiple sclerosis: the Clinical Practice Research Datalink. *J Thromb Haemost.* 2014; **12**: 444-51. 10.1111/jth.12523.
61. Carruthers EC, Choi HK, Sayre EC, Avina-Zubieta JA. Risk of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in individuals with polymyositis and dermatomyositis: a general population-based study. *Annals of the rheumatic diseases.* 2016; **75**: 110-6. 10.1136/annrheumdis-2014-205800.
62. Avina-Zubieta JA, Jansz M, Sayre EC, Choi HK. The Risk of Deep Venous Thrombosis and Pulmonary Embolism in Primary Sjogren Syndrome: A General Population-based Study. *The Journal of rheumatology.* 2017; **44**: 1184-9. 10.3899/jrheum.160185.
63. Huerta C, Johansson S, Wallander MA, Garcia Rodriguez LA. Risk factors and short-term mortality of venous thromboembolism diagnosed in the primary care setting in the United Kingdom. *Archives of internal medicine.* 2007; **167**: 935-43. 10.1001/archinte.167.9.935.
64. Johannesdottir SA, Horvath-Puho E, Dekkers OM, Cannegieter SC, Jorgensen JO, Ehrenstein V, Vandenbroucke JP, Pedersen L, Sorensen HT. Use of glucocorticoids and risk of venous thromboembolism: a nationwide population-based case-control study. *JAMA Intern Med.* 2013; **173**: 743-52. 10.1001/jamainternmed.2013.122.
65. Waljee AK, Rogers MA, Lin P, Singal AG, Stein JD, Marks RM, Ayanian JZ, Nallamotheu BK. Short term use of oral corticosteroids and related harms among adults in the United States: population based cohort study. *BMJ.* 2017; **357**: j1415. 10.1136/bmj.j1415.
66. Majoor CJ, Kamphuisen PW, Zwinderman AH, Ten Brinke A, Amelink M, Rijssenbeek-Nouwens L, Sterk PJ, Buller HR, Bel EH. Risk of deep vein thrombosis and pulmonary embolism in asthma. *The European respiratory journal.* 2013; **42**: 655-61. 10.1183/09031936.00150312.
67. Higgins PD, Skup M, Mulani PM, Lin J, Chao J. Increased risk of venous thromboembolic events with corticosteroid vs biologic therapy for inflammatory bowel disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal*

of the American Gastroenterological Association. 2015; **13**: 316-21. 10.1016/j.cgh.2014.07.017.

68. Peters MJ, Symmons DP, McCarey D, Dijkmans BA, Nicola P, Kvien TK, McInnes IB, Haentzschel H, Gonzalez-Gay MA, Provan S, Semb A, Sidiropoulos P, Kitas G, Smulders YM, Soubrier M, Szekanecz Z, Sattar N, Nurmohamed MT. EULAR evidence-based recommendations for cardiovascular risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010; **69**: 325-31. 10.1136/ard.2009.113696.

69. van der Goes MC, Jacobs JW, Boers M, Andrews T, Blom-Bakkens MA, Buttgerit F, Caeyers N, Cutolo M, Da Silva JA, Guillevin L, Kirwan JR, Rovensky J, Severijns G, Webber S, Westhovens R, Bijlsma JW. Monitoring adverse events of low-dose glucocorticoid therapy: EULAR recommendations for clinical trials and daily practice. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010; **69**: 1913-9. 10.1136/ard.2009.124958.

70. Ruggeri M, Toso A, Palandri F, Polverelli N, Mazzucconi MG, Santoro C, Gaidano G, Lunghi M, Zaja F, De Stefano V, Sartori R, Fazi P, Rodeghiero F, Gruppo Italiano Malattie EdAA, Thrombocytopenias Working Party GSITP. Thrombotic risk in patients with primary immune thrombocytopenia is only mildly increased and explained by personal and treatment-related risk factors. *J Thromb Haemost*. 2014; **12**: 1266-73. 10.1111/jth.12636.

71. Timp JF, Braekkan SK, Versteeg HH, Cannegieter SC. Epidemiology of cancer-associated venous thrombosis. *Blood*. 2013; **122**: 1712-23. 10.1182/blood-2013-04-460121.

72. van Zaane B, Nur E, Squizzato A, Gerdes VE, Buller HR, Dekkers OM, Brandjes DP. Systematic review on the effect of glucocorticoid use on procoagulant, anti-coagulant and fibrinolytic factors. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2010; **8**: 2483-93. 10.1111/j.1538-7836.2010.04034.x.

73. Isidori AM, Minnetti M, Sbardella E, Graziadio C, Grossman AB. Mechanisms in endocrinology: The spectrum of haemostatic abnormalities in glucocorticoid excess and defect. *European journal of endocrinology*. 2015; **173**: R101-13. 10.1530/EJE-15-0308.

