



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Thromboinflammation in high-risk human populations**

Yuan, L.

### **Citation**

Yuan, L. (2023, November 7). *Thromboinflammation in high-risk human populations*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3656071>

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/1887/3656071>

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

**CHAPTER**

**8**

**Nederlandse Samenvatting,  
algemene discussie, en  
toekomstperspectieven**

Thromboïnfammatie, een belangrijke trigger voor endotheliale dysfunctie, is een nieuwe term om de verbinding tussen de gelijktijdige activatie van de stollingsroute en immuunrespons te beschrijven. In dit proefschrift wordt de rol van thromboïnfammatie bij verschillende hoog risico populaties, zoals vrouwen versus mannen in de algemene Nederlandse bevolking, patiënten met type 2 diabetes mellitus (T2DM) van verschillende etniciteit en COVID-19-patiënten, belicht.

### **Thromboïnfammatie, gender verschillen en hart- en vaatziekten**

Thromboïnfammatie vertoont geslachtsverschillen en draagt bij aan het risico op hart- en vaatziekten. De endotheliale glycocalyx, een belangrijke regulator van thromboïnfammatie, is ook betrokken bij verschillende vasculaire complicaties.

In **hoofdstuk 2** van dit proefschrift hebben we een verband waargenomen tussen vroege (preklinische) microvasculaire gezondheidsveranderingen, gemeten met sidestream dark-field (SDF)-imaging, en activatie van coagulatie factoren. We ontdekten een opvallend geslachtsverschil in microvasculaire gezondheid, waarbij vrouwen een verstoord endotheliale glycocalyx vertoonden in combinatie met een meer procoagulant endotheel oppervlak. Deze associatie niet werd waargenomen bij mannen. Op basis van eerdere studies [1-3], met name bij vrouwen, wordt een verstoring van de endotheliale glycocalyx geassocieerd met een verhoogd risico op cardiovasculaire hartziekten (CHD). Deze bevindingen benadrukken het belang van geslachtsverschillen in micro circulatoire verstoringen bij CHD, en suggereert dat het monitoren van microcirculatoire veranderingen specifiek bij vrouwen potentieel klinisch nuttig kan zijn om de ontwikkeling van CHD te voorkomen. In lijn met deze bevindingen zijn eerdere studies die aantoonen dat vooral premenopauzale vrouwen die verdacht werden van, of een bevestigde klinische ischemische hartziekte hebben, minder atherosclerose vertonen dan mannen met ook een lagere prevalentie van obstructieve coronaire hartziekte (CAD) [4]. Bovendien testte meer

dan 50% van de vrouwen met angina negatief voor coronaire angiografie, wat verdere aanwijzingen geeft voor geslachtsverschillen in de ontwikkeling van CHD [5]. Op basis van deze eerdere bevindingen toont toenemend bewijs aan dat verstoring van de microcirculatie duidelijk bijdraagt aan CHD bij vrouwen [6].

Verstoring van de endotheliale glycocalyx kan leiden tot een procoagulante toestand [7], en samen met eerdere studies die aantoonde dat de onderliggende systemische aanwezigheid van een hyper-coagulante toestand geassocieerd was met de incidentie van CHD [8-10], wijst dit op een verband tussen de gezondheid van de endotheliale glycocalyx en CHD welke is gemedieerd door coagulatie activatie. Vanuit de Tromsø Studie, een case-cohort studie design met 1495 geïncludeerde participanten, kwam naar voren dat Syndecan-4, een van de core-eiwitten waaraan heparaan sulfaat (HS) ketens verbonden zijn, in de endotheliale glycocalyx geassocieerd was met myocard infarct incidentie. Deze associatie was ook sterker in vrouwen dan in mannen, wat een link indiceert tussen de endotheliale glycocalyx en CHD als ook gender verschillen [11]. Een interessant gegeven zoals een seks-afhankelijke associatie tussen CHD en verminderde sublinguale microvasculaire glycocalyx barrière functie in vrouwen was ook gevonden in een studie van Brands et al. [12].

### **Thromboïnflematie, diabetes in verschillende etniciteiten, en HDL functie in dyslipidemie.**

HDL heeft functies zoals ontstekingsremmende en antitrombotische eigenschappen, die thromboïnflematie kunnen reguleren in pathologische omstandigheden [13]. In studies naar chronische situaties zoals CHD, diabetes en chronische nierziekte kan HDL zijn beschermende functie verliezen en zelfs schadelijke eigenschappen krijgen, waardoor de progressie van de ziekte verergerd [14-17].

Het mechanisme van T2DM-ziekteprogressie varieert bij verschillende etniciteiten [18] en recente studies hebben aangetoond dat veranderingen in de HDL-functie een van de onderliggende mechanismen kunnen zijn die leiden tot de ontwikkeling en progressie van de ziekte. Aangezien het verlagen van lipoproteïnen met een lage dichtheid (LDL) door het gebruik van statines geassocieerd is met insuline resistentie en een verhoogd risico op hypoglycemische complicaties bij T2DM, kan met name de functionaliteit van HDL een betere kandidaat zijn om de progressie van diabetes te monitoren [19-21].

Een studie die de HDL-functie vergeleek bij Zuid-Aziaten van Nederlandse afkomst en Nederlandse blanke Europeanen binnen drie leeftijdsgroepen (pasgeborenen, adolescenten en volwassenen), rapporteerde dat bij afwezigheid van T2DM alleen het vermogen van HDL om oxidatie van LDL te voorkomen verminderd was bij te zware Zuid-Aziaten van Nederlandse afkomst in vergelijking met obese Nederlandse blanke Europeanen [22]. Een andere single-center studie in Rotterdam die de relatie tussen de ontwikkeling van dyslipidemie en glucose-intolerantie onderzocht, vond dat kleine HDL-fracties geassocieerd waren met insulineresistentie en beta-cel dysfunctie bij Zuid-Aziatische families met risico op T2DM [14].

In **hoofdstuk 3** hebben we de HDL-samenstelling vergeleken tussen gezonde individuen en patiënten met T2DM van Nederlandse Zuid-Aziatische en Nederlandse blanke Kaukasische afkomst. Hier zagen we dat de HDL-samenstelling tussen beide etnische groepen verschilde. De verminderde HDL-functionaliteit die werd gevonden bij Nederlandse Zuid-Aziaten met T2DM kan worden verklaard door het verlies van de kleinste HDL-subfracties; terwijl bij Nederlandse blanke Kaukasiërs met T2DM een verhoogd triglyceridegehalte in de kleinste HDL-fractie een belangrijke rol speelt bij HDL-dysfunctie. In lijn met deze bevindingen hebben kleine en dichte HDL-deeltjes aangetoond dat ze een vitale rol spelen bij meerdere functies, zoals cellulair cholesterol-efflux, anti oxidatieve-, anti thrombotische-, anti inflammatoire- en anti apoptotische capaciteiten [15]. In onze huidige studie hebben we gevonden dat concentraties van de kleinste HDL-subfracties, behalve het triglyceridegehalte, negatief geassocieerd waren met de duur van de ziekte bij

Nederlandse Zuid-Aziaten met T2DM in plaats van bij Nederlandse blanke Kaukasiërs. Dit suggereert een kwetsbaarder HDL-samenstelling fenotype. Bovendien toonde de in-house HDL functionaliteitstest aan dat T2DM-patiënten in beide etnische groepen een significant verminderde antitrombotische capaciteit hadden als gevolg van een gestoorde HDL-functie. Consistent met een eerdere bevinding werd een gestoorde HDL-functie bij T2DM-patiënten waargenomen in termen van de capaciteit om TNF-geïnduceerde vasculaire cel adhesie molecule-1 (VCAM-1) expressie in endotheelcellen *in vitro* te onderdrukken [23]. Volgens onze bevindingen kan HDL-dysfunctie geïnduceerde thromboïnflectatoire deregulatie bijdragen aan een hoger risico op ziekteontwikkeling en -progressie bij Zuid-Aziaten met T2DM.

Bij door oxidatieve stress veroorzaakte cardiovasculaire ziekte kunnen geoxideerde lipiden via CD36 de activering van bloedplaatjes veroorzaken, wat een verband aantoont tussen ontregelde lipoproteïenmetabolisme, oxidatieve stress en thrombusvorming [24]. Lipiden zijn betrokken bij zowel de intrinsieke als extrinsieke routes van prothrombine-activatie en dyslipidemie is een van de kenmerken van T2DM. In **hoofdstuk 4** hebben we met behulp van een nieuwe gerichte kwantitatieve LC/MS-gebaseerde Shotgun Lipidomics Assistant platform een uitgebreide mapping van het circulerende lipidoom gegenereerd bij Nederlandse Zuid-Aziaten en Nederlandse blanke Kaukasiërs met of zonder T2DM. Op basis van lipidomics-fenotypering kregen we gedetailleerd inzicht in de complexiteit van het lipidenmetabolisme en de interindividuele variaties binnen de verschillende etnische groepen. Het is vermeldenswaardig dat er duidelijke verschillen waren in het lipidoom, voornamelijk gerelateerd aan het metabolisme van cholesteryl-esters (CEs), diacylglyceriden (DGs), fosfatidylethanolaminen (PEs), sfingomyelinen (SMs) en triglyceriden (TGs) tussen T2DM en gezonde controles in onze studie populatie. Dit was consistent met eerdere bevindingen die waren waargenomen in de case-cohortstudie die was ingebed in de PREDIMED-trial [25] en de longitudinale METSIM-studie [26]. Er waren echter ook tegenstrijdige resultaten gemeld in deze twee studies op basis van Chinese populaties waarbij FFA-, SM- en LPC-lipide soorten verhoogd waren bij Chinezen met

T2DM, terwijl wij tegengestelde resultaten vonden bij Nederlandse patiënten met T2DM, de hoge variabiliteit in de verschillende lipidoom profielen tussen de etniciteiten kan hierbij een rol spelen.

### **Thromboïnflemmatie en diabetes-gerelateerde complicaties**

Lipoproteïne- en lipidenmetabolisme bij patiënten met T2DM kunnen leiden tot de ontregeling van thromboïnflemmatie en verder de ontwikkeling of verergering van diabetes-gerelateerde complicaties beïnvloeden. Verschillende studies ontdekten dat dyslipidemie geassocieerd was met een verhoogd risico op diabetes-gerelateerde microvasculaire complicaties zoals neuropathie en retinopathie [27-29]. Zuid-Aziaten hebben een hogere prevalentie van diabetische retinopathie dan witte Europeanen en een kortere verergeringstijd, en de diabetische retinopathie-laesies [30] hebben de neiging om meer centraal te worden verdeeld [31]. In **hoofdstuk 3** observeerden we specifiek dat lagere totale ApoA2- en HDL-4-subklasseconcentraties bij Nederlandse Zuid-Aziatische personen met T2DM geassocieerd waren met een hogere kans op diabetes-gerelateerde pan-microvasculaire complicaties zoals retinopathie en neuropathie.

Naast diabetische neuropathie en retinopathie hebben Zuid-Aziatische patiënten met T2DM meer kans op het ontwikkelen van microvasculaire complicaties zoals diabetische nefropathie, met een hogere incidentie van micro- en macroalbuminurie bij Zuid-Aziaten in vergelijking met witte Europese Kaukasiërs met T2DM en een snellere progressie naar eindstadium nierziekte [32, 33]. Dit zou kunnen komen doordat deze patiënten een hogere belasting hebben van systemische en glomerulaire ontstekingen. Bovendien hebben Zuid-Aziaten een unieke lichaamssamenstelling, met een meer abdominaal obesitas fenotype en een hoog percentage visceraal vet, dat dominant is in de productie en secretie van bepaalde inflammatoire cytokines die bijdragen aan de chronische laaggradige inflammatoire toestand [34]. Ondertussen hebben we in **hoofdstuk 4** een

unieke lipide soort, diacylglycerol (DG), geïdentificeerd die geassocieerd was met diabetische nefropathie en verslechterde renale functies. Het DG-proteïne kinase C (PKC) / proteïne kinase D (PKD) signaleringsnetwerk kan de redoxbalans reguleren en oxidatieve stress veroorzaken [35]. Bij T2DM neemt de concentratie DG toe en de ophoping van DG activeert het PKC / PKD, wat resulteert in diabetische nefropathie [36]. Het was opmerkelijk dat DG 18:1\_18:2 hoger was bij diabetische nefropathie, vooral bij Zuid-Aziaten met T2DM, en correleerde met de meeste klinische parameters. Zelfs in een extern cohort van Chinese patiënten met IgA-nefropathie bleven deze correlaties met nierfunctie bestaan. Het verdient de aanbeveling om toekomstige studies over diabetische nefropathie bij meerdere ethniciteiten uit te voeren met grotere aantallen deelnemers om deze bevindingen te verifiëren.

### **Thromboïnflemmatie en COVID-19**

Hyperinflammatie is een kenmerk van COVID-19 en de inflammatoire respons op SARS-CoV-2-infectie veroorzaakt vaak een opmerkelijke activering van de stollingscascade. Het daaropvolgende proces genaamd thromboïnflemmatie wordt gekenmerkt door systemische endotheliale beschadiging en verlies van antistolling eigenschappen [37, 38].

Hyperinflammatie veroorzaakt door COVID-19 kan de vasculaire integriteit verstoren. De endotheliale glycocalyx reguleert cel integriteit en homeostase door middel van de beschermende permeabiliteit functie van de vasculaire barrière, anti-inflammatie en antistolling capaciteit. Buijsers et al. merkten op dat de activiteit van het endotheliale glycocalyx-afbrekende enzym heparanase, dat betrokken was bij vasculaire lekkage en ontsteking, verhoogd was bij COVID-19-patiënten en geassocieerd was met de ernst van de ziekte [39]. Bovendien toonden Kùmpers et al. aan dat niet-antistolling heparine fragmenten de activiteit van heparanase konden remmen en zo endotheliale glycocalyx beschadiging konden voorkomen in reactie op COVID-19-serum [40]. Ondertussen leverde

de MYSTIC-studie ook bewijs dat de gezondheid van de glycocalyx, gemeten door veranderingen in de perfusie grensregio op het endotheel oppervlak (PBR) in kleine bloedvaten, een voorspellende prognostische marker was voor COVID-19-septische patiënten [41]. In **hoofdstuk 5** hebben we aangetoond dat verlies van de endotheliale glycocalyx als reactie op serum van COVID-19-patiënten op de intensieve care (ICU) endotheliale disfunctie induceerde door verhoogde IL-6, ICAM1, ANG2 en HPSE1 genexpressie en activering van de NF- $\kappa$ B signaal route. Bovendien leidde beschadiging van het endotheliale glycocalyx tot vasculaire lekkage en een verstoord cel-cel contact.

Remming van de beschermende ANG1/TIE2 signaal route door ANG2 is een centrale regulator bij de bescherming van de bloedvaten tegen thrombus vorming en reguleert vasculaire stabilisatie [42, 43]. Een aantal studies toonde aan dat circulerende ANG2-niveaus verhoogd waren bij COVID-19 en geassocieerd werden met een slechtere prognose [44-46]. In lijn met deze bevindingen vonden we ook dat ANG2-niveaus verhoogd waren bij ICU COVID-19-patiënten (**Hoofdstuk 5**). De aanwezigheid van het endotheliale glycocalyx is vereist voor antistolling eigenschappen en het normaal functionerend endotheel. We hebben ook aangetoond dat verlies van het endotheliale glycocalyx als reactie op serum van ICU COVID-19-patiënten een pro-coagulant cel oppervlakte vormt door verhoogde expressie van tissue factor en verhoogde secretie van ANG2 en vWF (**Hoofdstuk 5**). Om verder de hypothese te valideren dat een beschadigde glycocalyx bijdraagt aan thromboinflammatie in COVID-19, hebben we getest of preservatie van de endotheliale glycocalyx een effectieve interventie kan zijn en vasculaire gezondheid kan bevorderen. We hebben gevonden dat de aanwezigheid van het HS-mimeticum fucoidan endotheel functionaliteit kan herstellen, inclusief de endotheliale glycocalyx. Hierdoor wordt endotheliale activiteit vermindert wat leidt tot bescherming van de endotheliale barrière functie en herstel van de anti thrombotisch oppervlak (**Hoofdstuk 5**).

Michalick et al. ontdekten dat plasma mediators bij patiënten met ernstige COVID-19 konden leiden tot falen van de pulmonaire endotheel barrière [47]. Ondertussen toonde

Stahl et al. aan dat de bloed samenstelling bij ernstig zieke COVID-19 patiënten endotheel letsel kon veroorzaken, waaronder verlies van glycocalyx integriteit en vasculaire destabilisatie [48]. Naast verhoging van een aantal cytokines en chemokines bij COVID-19 patiënten blijkt de waargenomen cytokinestorm lager dan bij niet-COVID-19 patiënten met bijvoorbeeld ernstige gevallen met acuut nierfalen (ARDS), sepsis en influenza virusinfectie [49, 50]. Deze discrepantie suggereert dat andere mediators, zoals geoxideerde lipiden of dysfunctionele lipoproteïnen, mogelijk bijdragen aan COVID-19 pathogenese. Aangezien COVID-19 uiteindelijk een endotheel ziekte is, vullen we in **hoofdstuk 6** het ontbrekende puzzelstukje van bloedmediators die leiden tot endotheel disfunctie bij COVID-19 in. We vonden dat verhoogde niveaus van HDL-triglyceriden en verminderde hoeveelheden van de kleinste HDL-subklasse geassocieerd waren met endotheel disfunctie en de ernst van COVID-19. Bovendien had dysfunctioneel HDL bij COVID-19-patiënten minder antithrombotische capaciteit dan bij gezonde individuen, wat wijst op een hoger risico op thromboïnfinitie. Deze bevindingen waren ook in lijn met onze eerdere waarnemingen dat een verstoorte endotheliale glycocalyx bij COVID-19-patiënten leidde tot de vorming van een pro-coagulant celoppervlak (**Hoofdstuk 5**).

#### Toekomstperspectieven en open vragen

In dit proefschrift benadrukken we thromboïnfinitie bij hoog risico populaties zoals vrouwen, Zuid-Aziaten, T2DM patiënten en COVID-19 patiënten. We laten ook zien dat verstoring van de endotheliale glycocalyx, HDL disfunctie en ontregeling van het lipiden metabolisme kunnen leiden tot thromboïnfinitie, die allemaal een kritieke rol kunnen spelen bij acute of chronische ziekte ontwikkeling. In **hoofdstuk 2** toonden we aan dat verandering van de glycocalyx functie samen met pro-coagulatiefactoren kon bijdragen aan de vroege ontwikkeling van CHD bij vrouwen. We missen echter nog een gedetailleerd mechanisme en follow-up informatie over deze vorm van niet-obstructieve CHD, dat moet worden onderzocht. In **hoofdstuk 3** toonden we de veranderingen in HDL-compositie en -functie bij Zuid-Aziaten met T2DM aan. HDL-functie was afhankelijk van zowel het lipidoom als het proteoom. Daarom is de specifieke bepaling van het proteoom in

geïsoleerde HDL-deeltjes de volgende stap om het onderliggende mechanisme van HDL dysfunctie te ontdekken. In **hoofdstuk 4**, vonden we dat een specifiek lipide alleen te vinden was bij nierziekten (diabetische nefropathie en IgA-nefropathie). Alhoewel, de concentratie van dit lipide vrij laag is, dit maakt het noodzakelijk dat er preciezer en een meer in-depth metingen en analyse uitgevoerd moet worden in een groter nierziekte cohort om dit lipide als biomarker aan te kunnen merken. In **hoofdstuk 5** en **hoofdstuk 6** hebben we alleen gezonde controles met COVID-19 patiënten op de ICU getest. Om dit specifiek aan deze patiënten toe te schrijven is het noodzakelijk om in een vervolgstudie niet-COVID-19 patiënten op de ICU te includeren.

We hebben laten zien dat bepaalde HDL subfracties in diabetes en COVID-19 verlaagd zijn. Echter, weten we nog niet of HDL mimeticum HDL verhogende medicatie toediening een potentieel therapeutische strategie kan zijn voor patiënten met COVID-19, diabetes, of diabetes gerelateerde complicaties, dat zal nog verder onderzocht moeten worden.

## Referenties

- 1 Zakai NA, Judd SE, Kissela B, Howard G, Safford MM, Cushman M. Factor VIII, Protein C and Cardiovascular Disease Risk: The REasons for Geographic and Racial Differences in Stroke Study (REGARDS). *Thromb Haemost.* 2018; **118**: 1305-15. 10.1055/s-0038-1655766.
- 2 Olson NC, Raffield LM, Lange LA, Lange EM, Longstreth WT, Jr., Chauhan G, Debette S, Seshadri S, Reiner AP, Tracy RP. Associations of activated coagulation factor VII and factor VIIa-antithrombin levels with genome-wide polymorphisms and cardiovascular disease risk. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* 2018; **16**: 19-30. 10.1111/jth.13899.
- 3 Fibrinogen Studies C, Danesh J, Lewington S, Thompson SG, Lowe GD, Collins R, Kostis JB, Wilson AC, Folsom AR, Wu K, Benderly M, Goldbourt U, Willeit J, Kiechl S, Yarnell JW, Sweetnam PM, Elwood PC, Cushman M, Psaty BM, Tracy RP, Tybjaerg-Hansen A, Haverkate F, de Maat MP, Fowkes FG, Lee AJ, Smith FB, Salomaa V, Harald K, Rasi R, Vahtera E, Jousilahti P, Pekkanen J, D'Agostino R, Kannel WB, Wilson PW, Tofler G, Arocha-Pinango CL, Rodriguez-Larralde A, Nagy E, Mijares M, Espinosa R, Rodriguez-Roa E, Ryder E, Diez-Ewald MP, Campos G, Fernandez V, Torres E, Marchioli R, Valagussa F, Rosengren A, Wilhelmsen L, Lappas G, Eriksson H, Cremer P, Nagel D, Curb JD, Rodriguez B, Yano K,

Salonen JT, Nyyssonen K, Tuomainen TP, Hedblad B, Lind P, Loewel H, Koenig W, Meade TW, Cooper JA, De Stavola B, Knottenbelt C, Miller GJ, Cooper JA, Bauer KA, Rosenberg RD, Sato S, Kitamura A, Naito Y, Palosuo T, Ducimetiere P, Amouyel P, Arveiler D, Evans AE, Ferrieres J, Juhan-Vague I, Bingham A, Schulte H, Assmann G, Cantin B, Lamarche B, Despres JP, Dagenais GR, Tunstall-Pedoe H, Woodward M, Ben-Shlomo Y, Davey Smith G, Palmieri V, Yeh JL, Rudnicka A, Ridker P, Rodeghiero F, Tosetto A, Shepherd J, Ford I, Robertson M, Brunner E, Shipley M, Feskens EJ, Kromhout D, Dickinson A, Ireland B, Juzwishin K, Kaptoge S, Lewington S, Memon A, Sarwar N, Walker M, Wheeler J, White I, Wood A. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2005; **294**: 1799-809. 10.1001/jama.294.14.1799.

4 Reynolds HR, Bairey Merz CN, Berry C, Samuel R, Saw J, Smilowitz NR, de Souza A, Sykes R, Taqueti VR, Wei J. Coronary Arterial Function and Disease in Women With No Obstructive Coronary Arteries. *Circulation research*. 2022; **130**: 529-51. 10.1161/CIRCRESAHA.121.319892.

5 Lee BK, Lim HS, Fearon WF, Yong AS, Yamada R, Tanaka S, Lee DP, Yeung AC, Tremmel JA. Invasive evaluation of patients with angina in the absence of obstructive coronary artery disease. *Circulation*. 2015; **131**: 1054-60. 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.012636.

6 Pries AR, Reglin B. Coronary microcirculatory pathophysiology: can we afford it to remain a black box? *European heart journal*. 2017; **38**: 478-88. 10.1093/eurheartj/ehv760.

7 Yuan L, Cheng S, Sol W, van der Velden AIM, Vink H, Rabelink TJ, van den Berg BM. Heparan sulfate mimetic fucoidan restores the endothelial glycocalyx and protects against dysfunction induced by serum of COVID-19 patients in the intensive care unit. *ERJ Open Res*. 2022; **8**. 10.1183/23120541.00652-2021.

8 Bratseth V, Pettersen AA, Opstad TB, Arnesen H, Seljeflot I. Markers of hypercoagulability in CAD patients. Effects of single aspirin and clopidogrel treatment. *Thromb J*. 2012; **10**: 12. 10.1186/1477-9560-10-12.

9 Tantry US, Bliden KP, Suarez TA, Kreutz RP, Dichiaro J, Gurbel PA. Hypercoagulability, platelet function, inflammation and coronary artery disease acuity: results of the Thrombotic Risk Progression (TRIP) study. *Platelets*. 2010; **21**: 360-7. 10.3109/09537100903548903.

10 Song CJ, Nakagomi A, Chandar S, Cai H, Lim IG, McNeil HP, Freedman SB, Geczy CL. C-reactive protein contributes to the hypercoagulable state in coronary artery disease. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2006; **4**: 98-106. 10.1111/j.1538-7836.2005.01705.x.

11 Solbu MD, Kolset SO, Jenssen TG, Wilsgaard T, Lochén ML, Mathiesen EB, Melsom T, Eriksen BO, Reine TM. Gender differences in the association of syndecan-4 with

myocardial infarction: The population-based Tromso Study. *Atherosclerosis*. 2018; **278**: 166-73. 10.1016/j.atherosclerosis.2018.08.005.

12 Brands J, Hubel CA, Althouse A, Reis SE, Pacella JJ. Noninvasive sublingual microvascular imaging reveals sex-specific reduction in glycocalyx barrier properties in patients with coronary artery disease. *Physiological reports*. 2020; **8**: e14351. 10.14814/phy2.14351.

13 von Eckardstein A, Nordestgaard BG, Remaley AT, Catapano AL. High-density lipoprotein revisited: biological functions and clinical relevance. *European heart journal*. 2022. 10.1093/eurheartj/ehac605.

14 Yahya R, Jainandunsing S, Rashid M, van der Zee L, Touw A, de Rooij FWM, Sijbrands EJJ, Verhoeven AJM, Mulder MT. HDL associates with insulin resistance and beta-cell dysfunction in South Asian families at risk of type 2 diabetes. *Journal of diabetes and its complications*. 2021; **35**: 107993. 10.1016/j.jdiacomp.2021.107993.

15 He Y, Ronsein GE, Tang C, Jarvik GP, Davidson WS, Kothari V, Song HD, Segrest JP, Bornfeldt KE, Heinecke JW. Diabetes Impairs Cellular Cholesterol Efflux From ABCA1 to Small HDL Particles. *Circulation research*. 2020; **127**: 1198-210. 10.1161/CIRCRESAHA.120.317178.

16 Li Y, Zhao M, He D, Zhao X, Zhang W, Wei L, Huang E, Ji L, Zhang M, Willard B, Fu Z, Wang L, Pan B, Zheng L, Ji L. HDL in diabetic nephropathy has less effect in endothelial repairing than diabetes without complications. *Lipids in health and disease*. 2016; **15**: 76. 10.1186/s12944-016-0246-z.

17 Jia C, Anderson JLC, Gruppen EG, Lei Y, Bakker SJL, Dullaart RPF, Tietge UJF. High-Density Lipoprotein Anti-Inflammatory Capacity and Incident Cardiovascular Events. *Circulation*. 2021; **143**: 1935-45. 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.050808.

18 Sattar N, Gill JM. Type 2 diabetes in migrant south Asians: mechanisms, mitigation, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015; **3**: 1004-16. 10.1016/S2213-8587(15)00326-5.

19 Mansi IA, Chansard M, Lingvay I, Zhang S, Halm EA, Alvarez CA. Association of Statin Therapy Initiation With Diabetes Progression: A Retrospective Matched-Cohort Study. *JAMA Intern Med*. 2021; **181**: 1562-74. 10.1001/jamainternmed.2021.5714.

20 Liew SM, Lee PY, Hanafi NS, Ng CJ, Wong SS, Chia YC, Lai PS, Zaidi NF, Khoo EM. Statins use is associated with poorer glycaemic control in a cohort of hypertensive patients with diabetes and without diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 2014; **6**: 53. 10.1186/1758-5996-6-53.

21 Sukhija R, Prayaga S, Marashdeh M, Bursac Z, Kakar P, Bansal D, Sachdeva R, Kesan SH, Mehta JL. Effect of statins on fasting plasma glucose in diabetic and nondiabetic patients. *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research*. 2009; **57**: 495-9. 10.2310/JIM.0b013e318197ec8b.

- 22 Bakker LE, Boon MR, Annema W, Dijkers A, van Eyk HJ, Verhoeven A, Mayboroda OA, Jukema JW, Havekes LM, Meinders AE, Willems van Dijk K, Jazet IM, Tietge UJ, Rensen PC. HDL functionality in South Asians as compared to white Caucasians. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2016; **26**: 697-705. 10.1016/j.numecd.2016.02.010.
- 23 Ebtehaj S, Gruppen EG, Parvizi M, Tietge UJF, Dullaart RPF. The anti-inflammatory function of HDL is impaired in type 2 diabetes: role of hyperglycemia, paraoxonase-1 and low grade inflammation. *Cardiovascular diabetology*. 2017; **16**: 132. 10.1186/s12933-017-0613-8.
- 24 Jackson SP, Calkin AC. The clot thickens--oxidized lipids and thrombosis. *Nature medicine*. 2007; **13**: 1015-6. 10.1038/nm0907-1015.
- 25 Razquin C, Liang L, Toledo E, Clish CB, Ruiz-Canela M, Zheng Y, Wang DD, Corella D, Castaner O, Ros E, Aros F, Gomez-Gracia E, Fiol M, Santos-Lozano JM, Guasch-Ferre M, Serra-Majem L, Sala-Vila A, Buil-Cosiales P, Bullo M, Fito M, Portoles O, Estruch R, Salas-Salvado J, Hu FB, Martinez-Gonzalez MA. Plasma lipidome patterns associated with cardiovascular risk in the PREDIMED trial: A case-cohort study. *International journal of cardiology*. 2018; **253**: 126-32. 10.1016/j.ijcard.2017.10.026.
- 26 Suvitaival T, Bondia-Pons I, Yetukuri L, Poho P, Nolan JJ, Hyotylainen T, Kuusisto J, Oresic M. Lipidome as a predictive tool in progression to type 2 diabetes in Finnish men. *Metabolism: clinical and experimental*. 2018; **78**: 1-12. 10.1016/j.metabol.2017.08.014.
- 27 Hukportie DN, Li FR, Zhou R, Zheng JZ, Wu XX, Zou MC, Wu XB. Lipid variability and risk of microvascular complications in Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial: A post hoc analysis. *Journal of diabetes*. 2022; **14**: 365-76. 10.1111/1753-0407.13273.
- 28 Rao H, Jalali JA, Johnston TP, Koulen P. Emerging Roles of Dyslipidemia and Hyperglycemia in Diabetic Retinopathy: Molecular Mechanisms and Clinical Perspectives. *Frontiers in endocrinology*. 2021; **12**: 620045. 10.3389/fendo.2021.620045.
- 29 Narindrarangkura P, Bosl W, Rangsin R, Hatthachote P. Prevalence of dyslipidemia associated with complications in diabetic patients: a nationwide study in Thailand. *Lipids in health and disease*. 2019; **18**: 90. 10.1186/s12944-019-1034-3.
- 30 van Niel J, Geelhoed-Duijvestijn P, Numans ME, Kharagjitsing AV, Vos RC. Type 2 diabetes in South Asians compared to Europeans: Higher risk and earlier development of major cardiovascular events irrespective of the presence and degree of retinopathy. Results from The HinDu The Hague Diabetes Study. *Endocrinol Diabetes Metab*. 2021; **4**: e00242. 10.1002/edm2.242.
- 31 He Y, Verma A, Nittala MG, Velaga SB, Esmaeilkhanian H, Li X, Su L, Li X, Jayadev C, Tsui I, Prasad P, Sadda SR. Ethnic Variation in Diabetic Retinopathy Lesion Distribution on

Ultra-widefield Imaging. *American journal of ophthalmology*. 2023; **247**: 61-9. 10.1016/j.ajo.2022.10.023.

32 Chandie Shaw PK, Baboe F, van Es LA, van der Vijver JC, van de Ree MA, de Jonge N, Rabelink TJ. South-Asian type 2 diabetic patients have higher incidence and faster progression of renal disease compared with Dutch-European diabetic patients. *Diabetes care*. 2006; **29**: 1383-5. 10.2337/dc06-0003.

33 Chandie Shaw PK, Vandenbroucke JP, Tjandra YI, Rosendaal FR, Rosman JB, Geerlings W, de Charro FT, van Es LA. Increased end-stage diabetic nephropathy in Indo-Asian immigrants living in the Netherlands. *Diabetologia*. 2002; **45**: 337-41. 10.1007/s00125-001-0758-5.

34 Bakker LE, Sleddering MA, Schoones JW, Meinders AE, Jazet IM. Pathogenesis of type 2 diabetes in South Asians. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2013; **169**: R99-R114. 10.1530/EJE-13-0307.

35 Wang QJ. PKD at the crossroads of DAG and PKC signaling. *Trends in pharmacological sciences*. 2006; **27**: 317-23. 10.1016/j.tips.2006.04.003.

36 Noh H, King GL. The role of protein kinase C activation in diabetic nephropathy. *Kidney international*. 2007: S49-53. 10.1038/sj.ki.5002386.

37 Connors JM, Levy JH. Thromboinflammation and the hypercoagulability of COVID-19. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2020; **18**: 1559-61. 10.1111/jth.14849.

38 Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, Vanstapel A, Werlein C, Stark H, Tzankov A, Li WW, Li VW, Mentzer SJ, Jonigk D. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020. 10.1056/NEJMoa2015432.

39 Buijssers B, Yanginlar C, de Nooijer A, Grondman I, Maciej-Hulme ML, Jonkman I, Janssen NAF, Rother N, de Graaf M, Pickkers P, Kox M, Joosten LAB, Nijenhuis T, Netea MG, Hilbrands L, van de Veerdonk FL, Duivenvoorden R, de Mast Q, van der Vlag J. Increased Plasma Heparanase Activity in COVID-19 Patients. *Frontiers in immunology*. 2020; **11**: 575047. 10.3389/fimmu.2020.575047.

40 Drost CC, Rovas A, Osiaevi I, Rauen M, van der Vlag J, Buijssers B, Salmenov R, Lukasz A, Pavenstadt H, Linke WA, Kumpers P. Heparanase Is a Putative Mediator of Endothelial Glycocalyx Damage in COVID-19 - A Proof-of-Concept Study. *Frontiers in immunology*. 2022; **13**: 916512. 10.3389/fimmu.2022.916512.

41 Rovas A, Osiaevi I, Buscher K, Sackarnd J, Tepasse PR, Fobker M, Kuhn J, Braune S, Gobel U, Tholking G, Groschel A, Pavenstadt H, Vink H, Kumpers P. Microvascular dysfunction in COVID-19: the MYSTIC study. *Angiogenesis*. 2021; **24**: 145-57. 10.1007/s10456-020-09753-7.

- 42 Lovric S, Lukasz A, Hafer C, Kielstein JT, Haubitz M, Haller H, Kumpers P. Removal of elevated circulating angiopoietin-2 by plasma exchange--a pilot study in critically ill patients with thrombotic microangiopathy and anti-glomerular basement membrane disease. *Thromb Haemost*. 2010; **104**: 1038-43. 10.1160/TH10-02-0138.
- 43 Higgins SJ, De Ceunynck K, Kellum JA, Chen X, Gu X, Chaudhry SA, Schulman S, Libermann TA, Lu S, Shapiro NI, Christiani DC, Flaumenhaft R, Parikh SM. Tie2 protects the vasculature against thrombus formation in systemic inflammation. *The Journal of clinical investigation*. 2018; **128**: 1471-84. 10.1172/JCI97488.
- 44 Price DR, Benedetti E, Hoffman KL, Gomez-Escobar L, Alvarez-Mulett S, Capili A, Sarwath H, Parkhurst CN, Lafond E, Weidman K, Ravishankar A, Cheong JG, Batra R, Buyukozkan M, Chetnik K, Easthausen I, Schenck EJ, Racanelli AC, Outtz Reed H, Laurence J, Josefowicz SZ, Lief L, Choi ME, Schmidt F, Borczuk AC, Choi AMK, Krumsiek J, Rafii S. Angiopoietin 2 Is Associated with Vascular Necroptosis Induction in Coronavirus Disease 2019 Acute Respiratory Distress Syndrome. *The American journal of pathology*. 2022; **192**: 1001-15. 10.1016/j.ajpath.2022.04.002.
- 45 Maldonado F, Morales D, Diaz-Papapietro C, Valdes C, Fernandez C, Valls N, Lazo M, Espinoza C, Gonzalez R, Gutierrez R, Jara A, Romero C, Cerda O, Caceres M. Relationship Between Endothelial and Angiogenesis Biomarkers Envisage Mortality in a Prospective Cohort of COVID-19 Patients Requiring Respiratory Support. *Front Med (Lausanne)*. 2022; **9**: 826218. 10.3389/fmed.2022.826218.
- 46 Schmaier AA, Pajares Hurtado GM, Manickas-Hill ZJ, Sack KD, Chen SM, Bhambhani V, Quadir J, Nath AK, Collier AY, Ngo D, Barouch DH, Shapiro NI, Gerszten RE, Yu XG, Collection MC-, Processing T, Peters KG, Flaumenhaft R, Parikh SM. Tie2 activation protects against prothrombotic endothelial dysfunction in COVID-19. *JCI Insight*. 2021; **6**. 10.1172/jci.insight.151527.
- 47 Michalick L, Weidenfeld S, Grimmer B, Fatykhova D, Solymosi PD, Behrens F, Dohmen M, Brack MC, Schulz S, Thomasch E, Simmons S, Muller-Redetzky H, Suttrop N, Kurth F, Neudecker J, Toennies M, Bauer TT, Eggeling S, Corman VM, Hocke AC, Witzenrath M, Hippenstiel S, Kuebler WM. Plasma mediators in patients with severe COVID-19 cause lung endothelial barrier failure. *The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology*. 2021; **57**. 10.1183/13993003.02384-2020.
- 48 Stahl K, Gronski PA, Kiyani Y, Seeliger B, Bertram A, Pape T, Welte T, Hoepfer MM, Haller H, David S. Injury to the Endothelial Glycocalyx in Critically Ill Patients with COVID-19. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2020; **202**: 1178-81. 10.1164/rccm.202007-2676LE.
- 49 Kox M, Waalders NJB, Kooistra EJ, Gerretsen J, Pickkers P. Cytokine Levels in Critically Ill Patients With COVID-19 and Other Conditions. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2020; **324**: 1565-7. 10.1001/jama.2020.17052.

50 Leisman DE, Ronner L, Pinotti R, Taylor MD, Sinha P, Calfee CS, Hirayama AV, Mastroiani F, Turtle CJ, Harhay MO, Legrand M, Deutschman CS. Cytokine elevation in severe and critical COVID-19: a rapid systematic review, meta-analysis, and comparison with other inflammatory syndromes. *Lancet Respir Med*. 2020; **8**: 1233-44. 10.1016/S2213-2600(20)30404-5.