

MODELLI DI MALATTIA

PROTEOGLICANI E DANNO ATEROMASICO IN CONDIZIONI DI INCREMENTATO RISCHIO CARDIOVASCOLARE

Proteoglycans and atherosclerosis in high cardiovascular risk conditions

**GIUSEPPE MANDRAFFINO, MICHELE SCURUCHI, CATERINA ORIANA ARAGONA,
ALBERTO LO GULLO, VALENTINA CAIRO, ANTONINO SAITTA**

University of Messina; Department of Clinical and Experimental Medicine

SUMMARY

Atherosclerosis (ATH) is a chronic, dynamic, evolutive process involving morphological and structural subversion of artery walls and leading to the formation of atherosclerotic plaques. ATH generally initiates during the childhood, occurring as a result of a number of changes in the intima tunica and in the media of arteries. A key event occurring during the pathobiology of ATH is the accumulation of lipoproteins in the sub-intimal spaces mediated by extracellular matrix (ECM) molecules, especially by the chondroitin sulfate/dermatan sulfate (CS/DS) –containing proteoglycans (CS/DSPGs). Among them, the proteoglycan biglycan (BGN) is critically involved in the onset and progression of ATH and evidence show that BGN represents a link between the pro-atherogenic status induced by cardiovascular risk conditions and the development and progression of vascular damage. In the light of these findings, the role of BGN in hypertension, cigarette smoking, dyslipidemia, diabetes and inflammatory status is briefly analyzed and discussed.

Key words: *atherosclerosis; extracellular matrix; proteoglycans; biglycan; cardiovascular risk factors; inflammation.*

Introduzione

L'arteriosclerosi/aterosclerosi (ATH) rappresenta un continuum di alterazioni morfostrutturali a carico dei vasi arteriosi,

prevalentemente legate a fenomeni di invecchiamento vascolare, con progressivo sovertimento dell'architettura delle pareti vascolari (tonaca media) e conseguente perdita delle proprietà elastiche, associate a danneggiamento endoteliale cronico, con attivazione di fenomeni immunomediati ed alterazione dei processi biologici propri del tessuto, che comportano progressivo ispessimento mediointimale per fenomeni flogistici, accumulo di lipidi ossidabili e for-

Indirizzo per la corrispondenza

Giuseppe Mandraffino
Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale
Università degli Studi di Messina
Via Consolare Valeria - 98125 - Messina
E-mail: gmandraffino@unime.it

mazione di placche lungo l'albero arterioso (1-3). La malattia aterosclerotica rappresenta la principale causa di morte e disabilità nel mondo occidentale (4, 5). La patogenesi della malattia aterosclerotica consiste in un processo dinamico che da una lesione primaria, formata in età precoce, porta progressivamente alla formazione della placca aterosclerotica, con possibilità di evoluzione patologica acuta (aterotrombosi) (2, 6, 7). La lesione precoce alla base della progressione dell'aterosclerosi è rappresentata dalla cosiddetta *pathological intima thickening* (PIT), un ispessimento dell'intima vascolare dovuto all'accumulo extracellulare di lipidi, proteoglicani e acido ialuronico (8). In seguito all'ispessimento patologico dell'intima si assiste ad una abnorme risposta infiammatoria con conseguente infiltrazione di macrofagi che determina la progressione della PIT in fibroateroma (8, 9). Dalla definizione della *response-to-retention hypothesis* (10), grande importanza è stata data al ruolo dei proteoglicani dimostrandone, come vedremo, un ruolo sia nell'induzione che nel mantenimento del danno vascolare.

Ruolo dei proteoglicani nell'omeostasi vascolare

I proteoglicani (PGs) sono molecole complesse formate da un core proteico centrale covalentemente legato con catene di glicosaminoglicani (GAGs): condroitin solfato (CS), dermatan solfato (DS), cheratan solfato (KS), eparina (HP) ed eparan solfato (HS). I GAGs sono dei polisaccaridi, formati da unità ripetitive di esosammine acetilate (N-acetilgalattosammine o N-acetilglucosamina) e un residuo di acido uronico (Acido D-glucuronico o acido L-iduronico). Il KS è l'unico GAG formato da N-acetilglucosamina e galattosio (11).

Sono molecole essenziali nel manteni-

mento dell'omeostasi vascolare e la loro alterata regolazione rappresenta un elemento chiave durante l'aterogenesi (1, 4, 12); infatti, i GAGs legati al core proteico dei PGs sono in grado di legare e modulare l'azione di diversi enzimi e proteine contribuendo al corretto mantenimento dell'omeostasi vascolare (1, 4, 12).

Negli anni, diversi studi hanno sottolineato l'importanza dell'interazione tra le lipoproteine plasmatiche ed i proteoglicani nell'insorgenza e nella progressione dell'aterosclerosi, supportando la teoria della *response-to-retention hypothesis* di Williams e Tabas (10, 13-25). Brevemente, secondo tale meccanismo, in presenza di una *noxa* le cellule muscolari lisce (SMCs) aumentano la sintesi locale di PGs con elevata affinità per le lipoproteine plasmatiche. I PGs si legano alle lipoproteine aterogeniche mediante interazioni ioniche tra amminoacidi basici presenti sulla superficie delle apoB100 e cariche negative dei gruppi solfato presenti nei GAGs legati al core proteico dei PGs. Tale interazione porta ad un accumulo di aggregati PGs-lipoproteine a livello dell'intima vascolare che si traduce in una risposta infiammatoria locale e rappresenta l'evento iniziatore della patogenesi dell'aterosclerosi (7, 26, 27). Poiché la *noxa* è rappresentata in genere non da un evento locale ma da una condizione a ricaduta sistemica (ipertensione arteriosa, dislipidemia, diabete mellito, tabagismo, obesità viscerale, malattie infiammatorie croniche), l'aterogenesi si configura come un evento multifattoriale che potenzialmente può insorgere casualmente lungo le pareti arteriose per quanto siano riconoscibili alcuni siti preferenziali (28, 29).

Ruolo centrale di BGN

Il sottotipo di PGs maggiormente rappresentato a livello vascolare è costitui-

to dai proteoglicani a condroitin solfato (CSPGs) e a dermatansolfato (DSPGs) (12, 30); tra questi il versicano, la decorina e soprattutto il biglicano (BGN) sono quelli principalmente rappresentati nella matrice extracellulare (ECM) dell'intima vascolare, nonché direttamente coinvolti nei meccanismi di danno vascolare (20, 31). In particolare, studi effettuati su sezioni istologiche di lesione aterosclerotica, sia da modelli sperimentali che da biopsie umane, dimostrano come le lipoproteine abbiano grande affinità con i GAGs legati al core proteico di BGN (21, 32-34).

BGN è un proteoglicano a condroitin/dermatan solfato appartenente alla famiglia degli small leucine-rich proteoglycans (SLRPs) (35). Dagli studi di immunostochimica di Nakashima e collaboratori emerge che BGN è presente nelle primissime fasi della lesione pre-aterosclerotica e la sua presenza è determinante per l'iniziale deposizione di lipidi a livello subintimale (7).

BGN in condizioni di incrementato rischio cardiovascolare

Iperensione arteriosa

È noto che i valori di pressione arteriosa siano strettamente correlati con l'incidenza di malattia cardiovascolare (CVD) (36, 37). Inoltre evidenze sperimentali dimostrano che l'angiotensina II (AII) è in grado di stimolare le SMCs vascolari a produrre PGs con elevata affinità di legame per le LDL plasmatiche, mediando pertanto questo aspetto dell'aterogenesi (33, 38). Sulla base di queste osservazioni, diversi autori hanno valutato la correlazione tra ipertensione arteriosa, risposta infiammatoria e sintesi di PGs aterogenetici. Figueroa e collaboratori hanno dimostrato come in SMCs isolate da aorta umana la sintesi di BGN risultava significativamen-

te aumentata in seguito a trattamento con AII, mentre il trattamento delle stesse con Losartan, antagonista del recettore dell'angiotensina II, bloccava la sintesi di BGN (38). In topi infusi con AII sono stati osservati aumento della sintesi di BGN, aumentata ritenzione e co-localizzazione delle LDL con questo PG associati a maggiore sviluppo di aterosclerosi (33). Successivamente, in due diversi esperimenti, abbiamo osservato come i livelli di BGN in monociti isolati da pazienti affetti da ipertensione arteriosa risultassero aumentati, e come il trattamento *in vitro* con AII determinasse un ulteriore significativo aumento di BGN (39). Al contrario, in pazienti ipertesi in trattamento con Losartan i valori di BGN risultavano significativamente ridotti e contemporaneamente è stata anche osservata una riduzione dei livelli plasmatici di mediatori dell'infiammazione (40).

Fumo di sigaretta

Il fumo di sigaretta rappresenta un importante fattore di rischio cardiovascolare; è stato infatti dimostrato come favorisca la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) con conseguente aumento dello stress ossidativo (41). Inoltre il tabagismo determina riduzione della produzione di ossido nitrico (NO), interferisce con le funzioni endoteliali e favorisce la risposta infiammatoria (42-44). Recentemente è stato inoltre dimostrato che il fumo di sigaretta è in grado di alterare l'organizzazione della matrice extracellulare (45-47). In seguito al danno tissutale e lo stress ossidativo BGN, ad opera di enzimi proteolitici, viene liberato dalla ECM e rilasciato in circolo. In questo contesto BGN sembra in grado di attivare la risposta infiammatoria da parte di macrofagi e cellule dendritiche mediante l'interazione selettiva con i recettori Toll-like (TLR) TLR2/4 ed i recettori

purinergici P2X7/P2X4 (48). In un nostro precedente lavoro, in monociti isolati da una coorte di giovani fumatori, abbiamo dimostrato un significativo aumento dell'espressione di BGN. Tale aumento risultava altamente correlato con gli indici di rigidità vascolare e con lo spessore medio-intimale dei soggetti arruolati. Inoltre, l'indice di esposizione al fumo attivo sembrava il principale fattore in grado di indurre l'aumentata sintesi di BGN (49). Ad ulteriore conferma, in un recente studio abbiamo riportato che l'astensione dal fumo di sigaretta per almeno un anno determinava una significativa riduzione dell'espressione di BGN (50).

Dislipidemia

Secondo studi di co-localizzazione BGN risulta essere parte attiva nel guidare l'accumulo di lipoproteine aterogeniche nell'intima vascolare (26, 32-34). Tannock e collaboratori hanno dimostrato che in topi transgenici in grado di over-esprimere BGN si assisteva ad un aumento della ritenzione lipidica e maggiore tendenza a sviluppare l'aterosclerosi. In questi topi la gravità della lesione aterosclerotica era strettamente correlata ai livelli plasmatici di BGN (51). La lipoprotein lipasi (LPL) è un enzima chiave nel metabolismo lipidico e la sua azione è strettamente correlata al legame con BGN (52, 53). In modello di conigli transgenici over-esprimenti LPL e sottoposti ad una dieta con elevato contenuto di colesterolo, Ichikawa e colleghi hanno osservato che, in seguito all'azione idrolitica di questo enzima, si assisteva ad una diminuzione delle VLDL ma, contemporaneamente, aumentavano i livelli di LDL di piccole dimensioni (small-sized LDLs). Queste ultime mostravano infine una maggiore suscettibilità all'ossidazione e quindi un'elevata affinità di legame per BGN rispetto alle lipoproteine di dimen-

sioni più grandi (54). Dati analoghi sono stati ottenuti da Koike e colleghi in un modello di coniglio con dislipidemia ereditaria (55). Oberkersch e colleghi notarono, in ratti Wistar alimentati con Western diet, una diminuzione dell'espressione di BGN che correlava con la scarsa tendenza a sviluppare aterosclerosi che caratterizza questi animali (23). Inoltre sembra che il trattamento con cerivastatina sia in grado di ridurre l'espressione di BGN inibendo la produzione da parte delle SMCs vascolari (56).

Diabete Mellito

I pazienti affetti da diabete presentano un elevato rischio di sviluppare aterosclerosi ed incorrere in eventi clinici cardiovascolari (57). Negli anni, diversi autori hanno osservato anomalie dei PGs associati alla placca aterosclerotica in condizioni di iperglicemia. McDonald e colleghi hanno dimostrato che l'espressione di BGN, in condizioni di iperlipemia, risultava notevolmente aumentata nelle sezioni arteriose di un modello porcino diabetico (57). Mangat e collaboratori, in studi effettuati su ratti insulino-resistenti e diabetici hanno suggerito che l'aumentata deposizione arteriosa di colesterolo era associata ad esacerbata espressione di BGN (58). Wilson e collaboratori hanno osservato che l'alterato metabolismo dei PGs era determinato da elevati livelli di TGF- β che caratterizzano i soggetti diabetici (59). In una recente revisione della letteratura, Hiebert riporta come i PGs risultino alterati in soggetti diabetici in presenza di iperglicemia e che tali alterazioni sarebbero correlate ad aumentata degradazione dei GAGs e/o mediate da aumentata sintesi di ROS; l'alterata degradazione dei PGs sarebbe responsabile di molte complicanze micro e macrovascolari nel soggetto diabetico (60).

Infiammazione

Alcune evidenze sperimentali suggeriscono che BGN, oltre a promuovere l'aterogenesi mediante la ritenzione sub-intimale delle lipoproteine aterogenetiche, sia in grado di promuovere esso stesso l'infiammazione a livello della lesione aterosclerotica agendo da molecola segnale (61, 62). In seguito a danno tissutale, BGN viene scisso nella ECM ad opera di enzimi proteolitici generando una forma solubile che mantiene intatto il core proteico e le catene di GAGs ad esso legate (63-65). BGN solubile è in grado di attivare in maniera autocrina e paracrina i recettori TLR2/4 e favorire la sintesi di citochine pro-infiammatorie (TNF- α e IL-1 β) e chemochine per macrofagi, linfociti T e B e monociti generando una rapida risposta infiammatoria, che non necessita della sintesi *de novo* di BGN (66, 67). Babelova e collaboratori hanno inoltre dimostrato che BGN solubile favorisce l'organizzazione di un complesso multi-recettoriale formato da recettori TLR 2 e 4 e purinergici P2X (68). Questo sistema di co-operatività recettoriale è in grado di attivare l'inflammosoma NLRP3/ASC che mediante l'attivazione della caspasi-3 favorisce direttamente la maturazione ed il rilascio della IL-1 β matura senza l'intervento di fattori co-stimolatori addizionali. Questa funzione unica di BGN, favorita dalla presenza di ROS e dal rilascio delle heat shock protein 90 (HSP90), genera una potente risposta infiammatoria (68).

Le vie biochimiche attivate dall'interazione di BGN con i recettori TLR2 e 4, forniscono un link potenziale tra la risposta innata e quella adattativa. Popovic e collaboratori hanno dimostrato che in seguito a danno cardiaco, BGN solubile appare in grado di mediare l'attivazione delle cellule T, amplificando la risposta autoimmune a carico del tessuto cardiaco (69).

Conclusioni

Negli ultimi vent'anni le nostre conoscenze sulla patogenesi e l'evoluzione del danno ateromatoso sono state potenziate da nuove importanti acquisizioni. Le alterazioni a carico dei costituenti l'ECM ed in particolare a carico dei PGs inducono e mantengono la risposta infiammatoria non solo a livello locale ma anche sistemico, come dimostrato dalle variazioni dei livelli circolanti di alcuni PGs in diverse condizioni di aumentato rischio cardiovascolare. Abbiamo visto come la ricerca ci ha fino ad oggi permesso di conoscere quali siano i PGs principalmente coinvolti, come il loro ruolo risulti particolarmente precoce e talora reversibile, quali siano i siti di clivaggio per gli enzimi proteolitici e come i PGs modificati inneschino e mantengano la risposta infiammatoria. Tuttavia poco è noto sulla possibilità di rallentare il processo quando già avviato e/o di modulare la risposta infiammatoria associata. Nuovi studi sono ancora necessari in questo senso per ottenere risposte concrete e ripetibili.

RIASSUNTO

L'aterosclerosi (ATH) è un processo patologico progressivo, evolutivo, dinamico, che implica il sovrimento morfologico e strutturale delle pareti vascolari favorendo la formazione di placche aterosclerotiche. ATH insorge generalmente già in età precoce, inducendo cambiamenti a livello delle tuniche media ed intima delle arterie. Un evento chiave durante la patogenesi di ATH è rappresentato dalla ritenzione, nello spazio sub-intimale, delle lipoproteine plasmatiche mediata da molecole della matrice extracellulare (ECM), ed in particolare dai proteoglicani a condroitin e dermatan solfato (CS/DSPGs).

Tra questi, il biglicano (BGN) è quello maggiormente coinvolto ed evidenze sperimentali dimostrano come questo proteoglicano rappresenti il *link* tra lo stato pro-aterogenetico, indotto dalla presenza di fattori predisponenti, e lo sviluppo e la progressione del danno vascolare.

Alla luce di queste evidenze, questa rassegna ha come obbiettivo quello di riportare, in forma sinottica, i dati di letteratura riguardanti il ruolo di BGN in condizioni di incrementato rischio cardiovascolare, inclusi ipertensione arteriosa, dislipidemia, diabete mellito, tabagismo, obesità viscerale, malattie infiammatorie croniche.

Parole chiave: *aterosclerosi; matrice extracellulare; proteoglicani; biglicano; fattori di rischio cardiovascolare, flogosi.*

Bibliografia

1. Viola M, E Karousou, M.L. D'Angelo, et al. Extracellular Matrix in Atherosclerosis: Hyaluronan and Proteoglycans Insights. *Curr Med Chem*, 2016; 23: 2958-2971.
2. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999; 340: 115-126.
3. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*. 2001; 104: 365-372.
4. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, et al. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ Res*. 2014; 114: 1852-1866.
5. Murray, C.J. and A.D. Lopez, Measuring the global burden of disease. *N Engl J Med*. 2013; 369: 448-457.
6. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995; 15: 1512-1531.
7. Nakashima Y, Wight TN, Sueishi K. Early atherosclerosis in humans: role of diffuse intimal thickening and extracellular matrix proteoglycans. *Cardiovasc Res*. 2008; 79: 14-23.
8. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005; 352: 1685-1695.
9. Littlewood TD, Bennett MR. Apoptotic cell death in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2003; 14: 469-475.
10. Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995; 15: 551-561.
11. Theocharis AD, Skandalis SS, Tzanakakis GN, et al. Proteoglycans in health and disease: novel roles for proteoglycans in malignancy and their pharmacological targeting. *FEBS J*. 2010; 277: 3904-3923.
12. Karangelis DE, Kanakis I, Asimakopoulou AP, et al. Glycosaminoglycans as key molecules in atherosclerosis: the role of versican and hyaluronan. *Curr Med Chem*. 2010; 17: 4018-4026.
13. Fukuchi M, Watanabe J, Kumagai K, et al. Normal and oxidized low density lipoproteins accumulate deep in physiologically thickened intima of human coronary arteries. *Lab Invest*. 2002; 82: 1437-1447.
14. Gallicchio MA. Culture of human smooth muscle cells. *Methods Mol Med*. 2001; 52: 137-146.
15. Inoue S, Koyama H, Miyata T, et al. Cell replication induces in-stent lesion growth in rabbit carotid artery with preexisting intimal hyperplasia. *Atherosclerosis*. 2002; 162: 345-353.
16. Jonsson-Rylander AC, Nilsson T, Fritsche-Danielson R, et al. Role of ADAMTS-1 in atherosclerosis: remodeling of carotid artery, immunohistochemistry, and proteolysis of versican. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25: 180-185.
17. Kennett EC, Rees MD, Malle E, et al. Peroxynitrite modifies the structure and function of the extracellular matrix proteoglycan perlecan by reaction with both the protein core and the heparan sulfate chains. *Free Radic Biol Med*. 2010; 49: 282-293.
18. Kovanen PT, Pentikainen MO. Decorin links low-density lipoproteins (LDL) to collagen: a novel mechanism for retention of LDL in the atherosclerotic plaque. *Trends Cardiovasc Med*. 1999; 9: 86-91.
19. Mayasari DS, Emoto N, Yagi K, et al. Rhodamine-labeled LDL as a tool to monitor the lipoprotein traffic in experimental model of early atherosclerosis in mice. *Kobe J Med Sci*. 2013; 59: 54-63.
20. Merrilees MJ, Beaumont B, Scott LJ. Comparison of deposits of versican, biglycan and decorin in saphenous vein and internal thoracic, radial and coronary arteries: correlation to patency. *Coron Artery Dis*. 2001; 12: 7-16.
21. Nakashima Y, Fujii H, Sumiyoshi S, et al. Early human atherosclerosis: accumulation of lipid

- and proteoglycans in intimal thickenings followed by macrophage infiltration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 1159-1165.
22. Neufeld EB, Zadrozny LM, Phillips X, et al. Decorin and biglycan retain LDL in disease-prone valvular and aortic subendothelial intimal matrix. *Atherosclerosis.* 2014; 233: 113-121.
 23. Oberkersch R, Maccari F, Bravo AI, et al. Atheroprotective remodelling of vascular dermatan sulphate proteoglycans in response to hypercholesterolaemia in a rat model. *Int J Exp Pathol.* 2014; 95: 181-190.
 24. Subbotin VM. Neovascularization of coronary tunica intima (DIT) is the cause of coronary atherosclerosis. Lipoproteins invade coronary intima via neovascularization from adventitial vasa vasorum, but not from the arterial lumen: a hypothesis. *Theor Biol Med Model.* 2012; 9: 11.
 25. Tirziu D, Jinga VV, Serban G, et al. The effects of low density lipoproteins modified by incubation with chondroitin 6-sulfate on human aortic smooth muscle cells. *Atherosclerosis.* 1999; 147: 155-166.
 26. Tabas I, Williams KJ, Boren J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation.* 2007; 116: 1832-1844.
 27. Skalen K, Gustafsson M, Rydberg EK, et al. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature.* 2002; 417: 750-754.
 28. Singh RB, Mengi SA, Xu YJ, et al. Pathogenesis of atherosclerosis: A multifactorial process. *Exp Clin Cardiol.* 2002; 7: 40-53.
 29. Heo KS, Fujiwara K, J. Abe. Shear stress and atherosclerosis. *Mol Cells.* 2014; 37: 435-440.
 30. Theocharis AD, Tsolakis I, Tzanakakis N, et al., Chondroitin sulfate as a key molecule in the development of atherosclerosis and cancer progression. *Adv Pharmacol.* 2006; 53: 281-295.
 31. Gutierrez P, O'Brien KD, Ferguson M, et al. Differences in the distribution of versican, decorin, and biglycan in atherosclerotic human coronary arteries. *Cardiovasc Pathol.* 1997; 6: 271-278.
 32. O'Brien KD, Olin KL, Alpers CE, et al. Comparison of apolipoprotein and proteoglycan deposits in human coronary atherosclerotic plaques: colocalization of biglycan with apolipoproteins. *Circulation.* 1998; 98: 519-527.
 33. Huang F, Thompson JC, Wilson PG, et al. Angiotensin II increases vascular proteoglycan content preceding and contributing to atherosclerosis development. *J Lipid Res.* 2008; 49: 521-530.
 34. Kunjathoor VV, Chiu DS, O'Brien KD, et al., Accumulation of biglycan and perlecan, but not versican, in lesions of murine models of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22: 462-468.
 35. Schaefer L, Iozzo RV. Biological functions of the small leucine-rich proteoglycans: from genetics to signal transduction. *J Biol Chem.* 2008; 283: 21305-21309.
 36. Britton KA, Gaziano JM, Djousse L. Normal systolic blood pressure and risk of heart failure in US male physicians. *Eur J Heart Fail.* 2009; 11: 1129-1134.
 37. Lewington S, Clarke R, Qizilbash, et al., Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet.* 2002; 360: 1903-1913.
 38. Figueroa JE, Vijayagopal P. Angiotensin II stimulates synthesis of vascular smooth muscle cell proteoglycans with enhanced low density lipoprotein binding properties. *Atherosclerosis.* 2002; 162: 261-268.
 39. Sardo MA, Mandraffino G, Campo S, et al. Biglycan expression in hypertensive subjects with normal or increased carotid intima-media wall thickness. *Clin Chim Acta.* 2009; 406: 89-93.
 40. Sardo, M.A., G. Mandraffino, S. Riggio, et al., Effects of the angiotensin II receptor blocker losartan on the monocyte expression of biglycan in hypertensive patients. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2010; 37: 933-938.
 41. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 43: 1731-1737.
 42. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002; 82: 47-95.
 43. Barua RS, Ambrose JA, Srivastava S, et al. Reactive oxygen species are involved in smoking-induced dysfunction of nitric oxide biosynthesis and upregulation of endothelial nitric oxide synthase: an in vitro demonstration in human coronary artery endothelial cells. *Circulation.* 2003; 107: 2342-2347.
 44. Edirisinghe I, Yang SR, Yao H, et al. VEGFR-2 inhibition augments cigarette smoke-induced oxidative stress and inflammatory responses leading to endothelial dysfunction. *FASEB J.* 2008; 22: 2297-2310.
 45. Vogel ER, VanOosten SK, Holman MA, et al. Cigarette smoke enhances proliferation and extracellular matrix deposition by human fetal airway smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2014; 307: 978-986.
 46. Huyard F, Zydorczyk C, Castro MM, et al. Remodeling of aorta extracellular matrix as a result of transient high oxygen exposure in newborn rats: implication for arterial rigidity and hypertension risk. *PLoS One.* 2014; 9: e92287.

47. Chuang CY, Degendorfer G, Hammer A, et al. Oxidation modifies the structure and function of the extracellular matrix generated by human coronary artery endothelial cells. *Biochem J*. 2014; 459: 313-322.
48. Nastase MV, Young MF, Schaefer L. Biglycan: a multivalent proteoglycan providing structure and signals. *J Histochem Cytochem*. 2012; 60: 963-975.
49. Mandraffino G, E. Imbalzano, F. Mamone, et al., Biglycan expression in current cigarette smokers: A possible link between active smoking and atherogenesis. *Atherosclerosis*, 2014. 237(2): 471-9.
50. Mandraffino G, Aragona CO, Scuruchi M, et al. Biglycan expression, earlier vascular damage and pro-atherogenic profile improvement after smoke cessation in young people. *Atherosclerosis*. 2017; 257: 109-115.
51. Thompson JC, Tang T, PG. Wilson, et al., Increased atherosclerosis in mice with increased vascular biglycan content. *Atherosclerosis*. 2014; 235: 71-75.
52. Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Engl J Med*. 1989; 320: 1060-1068.
53. Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res*. 1996; 37: 693-707.
54. Ichikawa T, Kitajima S, Liang J, et al. Overexpression of lipoprotein lipase in transgenic rabbits leads to increased small dense LDL in plasma and promotes atherosclerosis. *Lab Invest*. 2004; 84: 715-726.
55. Koike T, Liang J, Wang X, et al. Enhanced aortic atherosclerosis in transgenic Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits expressing lipoprotein lipase. *Cardiovasc Res*. 2005; 65: 524-534.
56. Siegel-Axel DI, Runge H, Seipel L, et al. Effects of cerivastatin on human arterial smooth muscle cell growth and extracellular matrix expression at varying glucose and low-density lipoprotein levels. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2003; 41: 422-433.
57. McDonald TO, Gerrity RG, Jen C, et al. Diabetes and arterial extracellular matrix changes in a porcine model of atherosclerosis. *J Histochem Cytochem*. 2007; 55: 1149-1157.
58. Mangat R, Su JW, Lambert JE, et al. Increased risk of cardiovascular disease in Type 1 diabetes: arterial exposure to remnant lipoproteins leads to enhanced deposition of cholesterol and binding to glycosylated extracellular matrix proteoglycans. *Diabet Med*. 2011; 28: 61-72.
59. Wilson P, Drennon K, Tannock LR. Regulation of vascular proteoglycan synthesis by metabolic factors associated with diabetes. *J Investig Med*. 2007; 55: 18-25.
60. Hiebert LM. Proteoglycans and Diabetes. *Curr Pharm Des*: 2017; 23: 1500-1509.
61. Little PJ, Ballinger ML, Burch ML, et al. Biosynthesis of natural and hyperelongated chondroitin sulfate glycosaminoglycans: new insights into an elusive process. *Open Biochem J*. 2008; 2: 135-142.
62. Derbal H., Bosse Y, Cote N, et al. Increased biglycan in aortic valve stenosis leads to the overexpression of phospholipid transfer protein via Toll-like receptor 2. *Am J Pathol*. 2010; 176: 2638-2645.
63. Scott IC, Imamura Y, Pappano WN, et al. Bone morphogenetic protein-1 processes biglycan. *J Biol Chem*. 2000, 275: 30504-30511.
64. Monfort J, Tardif G, Reboul P, et al. Degradation of small leucine-rich repeat proteoglycans by matrix metalloprotease-13: identification of a new biglycan cleavage site. *Arthritis Res Ther*. 2006; 8: R26.
65. Boivin WA, Shackelford M, Vanden Hoek A, et al. Granzyme B cleaves decorin, biglycan and soluble betaglycan, releasing active transforming growth factor-beta1. *PLoS One*. 2012; 7: e33163.
66. Schaefer L, Babelova A, Kiss E, et al. The matrix component biglycan is proinflammatory and signals through Toll-like receptors 4 and 2 in macrophages. *J Clin Invest*. 2005; 115: 2223-2233.
67. Moreth K, Brodbeck R, Babelova A, et al. The proteoglycan biglycan regulates expression of the B cell chemoattractant CXCL13 and aggravates murine lupus nephritis. *J Clin Invest*, 2010; 120: 4251-4272.
68. Babelova A, Moreth K, Tsalastra-Greul W, et al. Biglycan, a danger signal that activates the NLRP3 inflammasome via toll-like and P2X receptors. *J Biol Chem*. 2009; 284: 24035-24048.
69. Popovic ZV, Wang S, Papatriantafyllou M, et al. The proteoglycan biglycan enhances antigen-specific T cell activation potentially via MyD88 and TRIF pathways and triggers autoimmune perimyocarditis. *J Immunol*. 2011; 187: 6217-6226.