



Società Italiana dell'Ipertensione Arteriosa
Legg Italiana contro l'Ipertensione Arteriosa

Application Form per Fondi di Supporto alla Ricerca anno 2011

Proponente: Guido Iaccarino

Indirizzo per corrispondenza: Via Salvator Allende, 84081 Baronissi (Salerno)

Telefono: 089.96911 Cellulare 3391701578

Fax: 089.969642

E-mail giaccarino@unisa.it

Nome e indirizzo mail dei principali coautori:


Bruno Trimarco, trimarco@unina.it

Pietro Campiglia, pcampiglia@unisa.it

Titolo del progetto: Effetti della inibizione di CaMK2 in vivo sulle risposte contrattili e strutturali in modelli sperimentali di ipertrofia ventricolare sinistra e di infarto del miocardio

Allegati: Progetto di Ricerca
Modulo Privacy

Data 27/2/2011

Firma: 

Formula di acquisizione del consenso dell'interessato

(Art. 23 del D.Lgs. 196/2003)

Il/la sottoscritto/a, acquisite le informazioni fornite dal Titolare del trattamento, ai sensi dell'art. 13 del D.Lgs. 196/2003, per quanto riguarda:

- il trattamento dei dati personali per i fini indicati nella suddetta informativa

Dà il consenso Nega il consenso

- la comunicazione dei dati personali per le finalità ed ai soggetti indicati nell'informativa

Dà il consenso Nega il consenso

Luogo Napoli (.....) Data 25/2/2011

Nome Guido Cognome VACCARINO

Firma leggibile Al Vaccarino



**Società Italiana dell'Ipertensione Arteriosa
Lega Italiana contro l'Ipertensione Arteriosa**

Application Form per Fondi di Supporto alla Ricerca anno 2011

Proponente: __Guido Iaccarino_____

Indirizzo per corrispondenza: __Via Salvator Allende, 84081 Baronissi (Salerno

Telefono: 089.96911 Cellulare_3391701578_____

Fax: 089.969642_____

E-mail _____giaccarino@unisa.it_____

Nome e indirizzo mail dei principali coautori:

Bruno Trimarco, trimarco@unina.it _____

Pietro Campiglia, pcampigl@unisa.it

Titolo del progetto: __Effetti della inibizione di CaMK2 in vivo sulle risposte contrattili e strutturali in modelli sperimentali di ipertrofia ventricolare sinistra e di infarto del miocardio

Allegati: Progetto di Ricerca
Modulo Privacy

Data_____

Firma:

Titolo della Ricerca: Effetti della inibizione di CaMK2 in vivo sulle risposte contrattili e strutturali in modelli sperimentali di ipertrofia ventricolare sinistra e di infarto del miocardio

Proponente: dr Guido Iaccarino, Scuola di Medicina e Chirurgia, Università di Salerno, Via Allende 84081 Baronissi (Salerno); Telefono: 089.96911 Fax: 089.969642

Collaboratori:

Prof. Bruno Trimarco, Dipartimento di Medicina Clinica, Scienze Cardiovascolari ed Immunologiche, Università Federico II di Napoli, 80131, Napoli

Prof. Pietro Campiglia, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche
Università degli studi di Salerno Via Ponte Don Melillo, 84084 - Fisciano (SA)
tel. 089 969242 fax 089 96 9602

ABSTRACT

Le CaMKs sono delle serina/treonina chinasi regolate dal legame Ca^{2+} -Calmodulina (CaM). La chinasi della catena leggera della miosina (MLCK) e la chinasi fosforilasi sono esempi di CaMK che fosforilano un solo tipo di substrato. CaMKI, CaMKII e CaMKIV sono invece membri multifunzionali della famiglia delle CaMKs.

L'espressione e l'attività di CaMKII sono risultate alterate in vari modelli animali di ipertrofia cardiaca e scompenso. Alcuni studi che hanno esaminato il miocardio ipertrofico di ratti ipertesi hanno mostrato un'aumentata espressione ed attività dell'isoforma di CaMKII. Inoltre, questi cambiamenti venivano revertiti dal trattamento con inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE-I), che portava anche alla completa regressione dell'ipertrofia (presumibilmente mediata dall'Angiotensina II). Anche i cuori di modelli transgenici di ratti con ipertensione mediata dall'Angiotensina II mostravano dei cambiamenti dell'espressione di CaMKII. Inoltre, in cuori di coniglio infartuati è stata dimostrata un'aumentata attività di CaMKII e un'aumentata espressione di CaMKII.

Diversi modelli di topi geneticamente modificati hanno confermato il ruolo di CaMK nello sviluppo dell'ipertrofia. Topi transgenici overesprimenti la calmodulina, descritti oltre un decennio fa, sviluppavano una severa ipertrofia cardiaca. Questo fenotipo è stato di recente supportato da un concomitante aumento dell'attività autonoma di CaMKII in vivo. Infine, topi che overesprimono l'isoforma di CaMKII nel cuore sviluppano ipertrofia. L'apparente coinvolgimento di CaMKII in molti aspetti dell'ipertrofia cardiaca e dello scompenso suggerisce che CaMKII possa avere delle potenzialità come target terapeutico in queste patologie. Vari inibitori farmacologici e peptidi in grado di penetrare all'interno della cellula sono stati utili nel delineare i pathways legati a CaMKII coinvolti nella funzione cardiaca, e i risultati di tali studi supportano il bisogno di ulteriori ricerche per lo sviluppo di nuove strategie che abbiano come bersaglio CaMKII.

L'Obiettivo Principale della proposta di ricerca di questa Unità del progetto è valutare gli effetti di inibitori di CaMKII sullo sviluppo di risposte adattative cardiache in risposta a infarto o sovraccarico pressorio. Questa Unità indagherà gli effetti di noti inibitori di CaMK2 sullo sviluppo del danno cardiaco. Inoltre, valuteremo gli effetti di inibitori sintetizzati dal professor Pietro Campiglia dell'Università di Salerno e testati dal gruppo del Professor Trimarco a Napoli in sistemi in vitro. Gli obiettivi specifici sono i seguenti:

1. Messa a punto e caratterizzazione di due modelli di rimodellamento cardiaco.
2. Somministrazione di inibitori di CaMK2.
3. Valutazione degli effetti farmacologici nei due differenti modelli.

Il modello verrà realizzato in ratti. Il ratto spontaneamente iperteso è un modello genetico di ipertensione che sviluppa lo stesso danno d'organo che si osserva nell'ipertensione umana. L'altro modello di risposta adattativa del cuore è l'infarto. In questo modello, il danno è dato da una perdita di funzione del cuore che causa il riarrangiamento del tessuto rimasto indenne, portando così ad un progressiva ipertrofia dei miocardiociti e ad una infiltrazione da parte di cellule non residenti. A differenza del modello ipertrofico, l'infarto miocardico sarà effettuato in ratti normotesi Wistar Kyoto. Sono disponibili molti inibitori di CaMK, ma la selettività per CaMK2 è stata in particolare dimostrata, sia in vitro che in vivo, dal peptide inibitore CaNTIDE, che è stato poi associato con la sequenza di internalizzazione Antannapoedia per generare un

peptide chimerico conosciuto come AntCaNTIDE. Useremo AntCaNTIDE come inibitore prototipo per CaMK 2 nel cuore. La proteina è solubile in acqua. Un altro inibitore noto per CaMK2 è un composto chimico chiamato KN-93. Questo composto non è selettivo per CaMK2, in quanto inibisce il dominio catalitico che è conservato tra le varie CaMKs. Per il modello SHR effettueremo una iniezione nel muscolo cardiaco di AntCaNTIDE e di un peptide di controllo (un peptide inattivo coniugato con Ant), di KN93 e di soluzione fisiologica utilizzando piccoli volumi e aghi sottili. La somministrazione cronica di KN93 sarà effettuata per mezzo di pompe osmotiche impiantate nel sottocute, in grado di erogare il farmaco per 4 settimane. Analogamente, nel modello di infarto del miocardio l'iniezione diretta dei farmaci sarà effettuata contestualmente alla chirurgia cardiaca o, in alternativa, mediante infusione cronica, come sopra indicato. Effettueremo valutazioni emodinamiche in vivo ed ecocardiografia, ed analisi istologiche, biochimiche e di biologia molecolare sui tessuti cardiaci.

Descrizione del progetto di Ricerca

Il **principale obiettivo** della proposta di ricerca di questa unità del progetto è valutare gli effetti di inibitori di CaMK2 sullo sviluppo di risposte adattative cardiache in risposta a infarto o sovraccarico pressorio. Questa unità indagherà gli effetti di noti inibitori di CaMK2 sullo sviluppo del danno cardiaco. Gli **obiettivi specifici** sono i seguenti:

1. Messa a punto e caratterizzazione di due modelli di rimodellamento cardiaco.
2. Somministrazione di inibitori di CAMK2.
3. Valutazione degli effetti farmacologici nei due differenti modelli.

Obiettivo Specifico 1: Messa a punto e caratterizzazione di due modelli di rimodellamento cardiaco. Questa è un'attività preliminare, che avverrà nei primi 5 mesi di ricerca.

SA1a Studieremo il ratto come modello animale, poiché esistono razze geneticamente determinate, come il ratto spontaneamente iperteso (SHR), che rappresenta un modello genetico di ipertensione che sviluppa lo stesso danno d'organo osservato nell'uomo. In particolare, in questo modello animale si osserva ipertrofia ventricolare sinistra, che può essere parzialmente revertita utilizzando farmaci quali ACE inibitori o sartani. Come controllo utilizzeremo la razza Wistar Kyoto, che ha il background genetico più vicino agli SHR, presentando però normali valori di pressione arteriosa e quindi nessun fenotipo cardiovascolare. Utilizzeremo animali di circa 300 grammi. Eseguiamo i seguenti esperimenti *in vivo*:

SA1a1 Ultrasonografia cardiaca. Con questa tecnica, misureremo lo sviluppo di ipertrofia cardiaca nel tempo. L'ecocardiografia cardiaca verrà effettuata utilizzando un'apparecchiatura dedicata (VeVo 770, Visualsonics Inc. Toronto, ON, Canada) fornita di una sonda ad alta risoluzione a 17.5 MHz (RMV-716). I ratti saranno anestetizzati con isofluorano vaporizzato (induzione al 4% e mantenimento al 2%). I diametri tele diastolici e tele sistolici del ventricolo sinistro (LVEDD e

LVESD, rispettivamente) saranno misurati a livello dei muscoli papillari dalla proiezione parasternale asse corto. Lo spessore del setto (IVSS) e della parete posteriore (PW) saranno misurati in fase telediastolica. La frazione di accorciamento (LVFS) sarà calcolata come segue: $LVFS = (LVEDD - LVESD) / LVEDD \times 100$. La frazione di eiezione (LVEF) sarà calcolata usando un software dedicato fornito dal VeVo770. La massa ventricolare sinistra (LVM) sarà calcolata utilizzando la formula: $LVM = 1.05 \times [(IVS + LVEDD + PW)^3 - (LVEDD)^3]$; La LVM sarà corretta per il peso corporeo.

SA1a2 Emodinamica *in vivo*. La pressione e la frequenza sono due importanti regolatori della funzione cardiaca e rappresentano il carico di lavoro del cuore. Perciò è fondamentale misurare questi parametri. Inoltre, utilizzando le misurazioni invasive, è possibile valutare in modo più preciso le prestazioni del cuore, sia in condizioni di riposo che dopo stimolo. La contrattilità cardiaca, così come la pressione e la frequenza, può essere influenzata da analgesici e anestetici. Gli animali saranno anestetizzati con isoflurano vaporizzato al 4%, che non influisce su frequenza e pressione. Dopo l'induzione dell'anestesia, i ratti saranno intubati per via orotracheale, la concentrazione di isoflurano inspirato sarà ridotta al 2%, e i polmoni saranno sottoposti a ventilazione meccanica (NEMI Scientific Inc., Medway, MA, USA). La pressione arteriosa sistolica e diastolica sarà misurata utilizzando un catetere con un trasduttore di pressione (Mikro-Tip, Millar Instruments, Inc., Houston, TX, USA) posto chirurgicamente in aorta ascendente. Il catetere sarà poi avanzato nel LV per registrare la derivata prima massima e minima della pressione sul tempo (dP / dt max e dP / dt min), e gli indici di contrattilità cardiaca globale e funzione diastolica.

SA1a3 Analisi istologica del miocardio. Sia stimolazioni meccaniche che neuro-ormonali sostengono le risposte cellulari nel miocardio ipertrofico. Queste risposte comprendono l'ipertrofia dei miocardiociti, l'iperplasia dei fibroblasti e l'infiltrazione di cellule infiammatorie, così come la deposizione di collagene e la riorganizzazione capillare. Per questo motivo è importante l'analisi istologica. A questo scopo, il cuore verrà fissato per immersione in paraformaldeide tamponata al 10%. I tessuti saranno inclusi in paraffina, tagliati a 5 micron, e processati. La componente cellulare e la matrice extracellulare saranno valutate mediante colorazione tricromica di Masson. Per valutare gli infiltrati cellulari, eseguiremo un'immunoistochimica per antigeni espressi sulla superficie dei monociti, come MCP-1 e utilizzeremo il metodo di immunocitochimica PAP (perossidasi anti-perossidasi) a tre strati. La perossidasi sarà rivelata in presenza dello 0,03% di perossido di idrogeno e di un donatore di elettroni, la diaminobenzidina 2,5%, che diventa visibile come un precipitato di colore marrone. Le sezioni saranno poi visualizzate con un microscopio Leitz Diaplan fornito di una fotocamera digitale Leica DC200.

SA1a4 Biochimica e biologia molecolare del cuore. Il cuore ipertrofico presenta caratteristiche biochimiche e molecolari differenti rispetto al cuore non ipertrofico. In particolare, si osserva una diversa espressione genica, valutata mediante analisi dell'RNA. Utilizzando la Real-Time PCR, valuteremo l'espressione di geni come aMHC, BNP, SERCA, che

sono modulati nella risposta ipertrofica. Inoltre, saranno valutate l'attività di CaMKs e la fosforilazione di vari enzimi, così come la localizzazione di CaMK2 all'interno della cellula. Queste caratteristiche saranno valutate mediante western blot ed analisi di frazioni cellulari su estratti cardiaci. Infine, per valutare gli effetti sulla trascrizione nucleare, si eseguirà un'analisi dell'attivazione di fattori di trascrizione mediante saggi di mobilità elettroforetica (EMSA) su proteine nucleari isolate da campioni di cuore. Questa analisi sarà integrata con saggi di competizione, per cui estratti nucleari saranno incubati con un eccesso di 50 volte di oligos non marcati per 20 minuti prima di aggiungere l'oligo marcato. Useremo sonde per GATA4 e CREB, due fattori di trascrizione che sono rilevanti per l'attività trascrizionale del cuore ipertrofico. Come controllo, effettueremo un EMSA per il trasportatore di cationi organici 1 (Oct-1).

SA1b. L'altro modello per la valutazione delle risposte adattative del cuore è l'infarto miocardico. In questo modello, l'insulto di fondo è una perdita della funzione cardiaca che provoca il riassetto del muscolo rimasto illeso, con conseguente ipertrofia dei miociti cardiaci, nonché di infiltrazioni da parte di cellule non residenti. A differenza del modello di ipertrofia, l'infarto del miocardio verrà effettuato nel ratto WKY. La disfunzione cardiaca, che non è presente, almeno nelle prime fasi del modello di ipertrofia, implica che questo modello di compensazione è meno dipendente dallo stress di parete, ma piuttosto dal meccanismo neuroregolatorio. Pertanto, questo modello integra il precedente, fornendo informazioni che non potevano essere raccolte nel SHR. Inoltre, la storia naturale del cuore infartuato conduce verso lo sviluppo di insufficienza cardiaca, caratterizzata dalla risposta inadeguata del cuore alle necessità metaboliche dell'organismo. Il modello implica un intervento chirurgico che viene descritto di seguito:

SA1b1L'Infarto miocardico sarà indotto mediante lesione criogenica.

Abbiamo scelto questo metodo perchè è facilmente riproducibile e ha un tasso di mortalità molto basso e produce cicatrici della parete anteriore che sono delle stesse dimensioni, quindi non c'è variabilità tra i diversi operatori e tra differenti animali. Per eseguire questo modello, l'anestesia e la ventilazione sarà effettuata come descritto in SA1a2. Una toracotomia sinistra verrà effettuata nel quarto spazio intercostale, il pericardio verrà scollato ed aperto, e la parete anterolaterale del LV verrà così esposta. Una sonda di alluminio pre raffreddata (diametro 2 mm) verrà usata per indurre una lesione criogenica. Tre esposizioni di 1-min causano una lesione estesa sulla parte anterolaterale della parete ventricolare sinistra. Il torace e la cute sarà chiusa e il ratto potrà recuperare. In un periodo di 2 settimane, effettueremo:

SA1b2Ultrasonografia cardiaca. Utilizzando questa tecnica, si valuteranno i cambiamenti delle dimensioni cardiache e del muscolo non danneggiato per un periodo di osservazione fino a 4 settimane dall'infarto miocardico. Questo metodo permetterà anche di conoscere le informazioni riguardanti la funzione cardiaca. I metodi sono descritti in **SA1a1**

SA1b3 Emodinamica in vivo. In questo modello, la pressione sanguigna e la frequenza cardiaca riflettono la gravità della compromissione della funzione cardiaca. Inoltre, la contrattilità residua può essere meglio valutata dall'analisi del dP / dt utilizzando appositi cateteri con microtrasduttori posti in punta. I metodi sono descritti in **SA1a2**

SA1b4 **Analisi istologica del miocardio.** Dopo infarto miocardico, il cuore è sottoposto ad un fenomeno che è noto come rimodellamento ventricolare, un processo che anticipa la dilatazione cardiaca. In questa prima fase, la parete del ventricolo diventa più sottile, e il diametro interno diventa più grande. Questo fenomeno è sostenuto da morte cellulare, apoptosi e deposizione di collagene. Con l'istologia e l'immunoistochimica sarà possibile descrivere in modo accurato l'attivazione di questi processi e caratterizzare il fenotipo cardiaco. I metodi sono descritti in **SA1a3**

SA1a4 **Biochimica e biologia molecolare del cuore.** Dopo infarto miocardico il cuore presenta attivazione di vie intracellulari. Noi caratterizzeremo le alterazioni che sono più rilevanti per la nostra ricerca e che sono in parte descritte in **SA1a3**. Inoltre, caratterizzeremo la densità del recettore adrenergico mediante binding selettivo per i recettori beta adrenergici sulle membrane cardiache.

Obiettivo Specifico 2: Somministrazione di inibitori di CaMK2

Esistono due problemi principali che saranno affrontati in questa sezione: Quali inibitori somministrare (**SA2a**) e l'identificazione della via di somministrazione (cardiaca o sistemica, **SA2b**).

SA2a Sono disponibili vari inibitori per CaMK, ma la selettività per CaMK2 è stata dimostrata dal peptide inibitore CaMTIDE. Si tratta di un peptide disegnato sulla sequenza di una proteina capace di legare e inibire CaMK2. Questo inibitore, CaNTIDE è stato studiato sia in vitro che in vivo, ed è stato associato con la sequenza di internalizzazione di Antannapoedia per generare un peptide chimerico conosciuto come AntCaNTIDE, che è interiorizzato all'interno della cellula e ha un effetto inibitorio su CaMK2. Ant-CaNTIDE è solubile in acqua e può quindi essere facilmente somministrato ai ratti. Un altro inibitore noto per CaMK2 è un composto chimico noto come KN-93, che però non è selettivo per CaMK2. Tuttavia, data la mancanza di CaMKs nel cuore, è ragionevolmente accettabile che gli effetti cardiaci esercitati da questo farmaco dipendano dalla sua capacità di inibire CaMK2. Un problema per KN-93 è che è solubile in DMSO, a meno che non sia precipitato sotto forma di sale. In quest'ultimo caso, può essere rimesso in sospensione in solventi acquosi e somministrato. Una prima serie di esperimenti verrà effettuata quindi su entrambi i modelli di ipertrofia cardiaca e infarto miocardico, usando AntCaNTIDE e KN93. Questi prodotti sono disponibili attraverso una collaborazione con il professor Pietro Campiglia dell'Università di Salerno il quale che fornisce AntCANTIDE e con il professor Trimarco, dell'Università di Napoli, dove verrà testato in vitro il potere inibitorio di Ant CaNTIDE e degli altri prodotti di sintesi di seguito indicati. Infatti, in una fase successiva dello studio, il professor Campiglia ci fornirà nuovi composti che derivano da brevi sequenze di ANT-CaNTIDE per identificare la sequenza minima che ha effetti inibitori sulla ipertrofia ventricolare sinistra ed il rimodellamento postischemico.

SA2b La via di somministrazione è una questione rilevante. Dal momento che è un inibitore peptidico, AntCaNTIDE dovrebbe avere una emivita breve se somministrato per via sistemica. La migliore via di somministrazione sembra essere l'iniezione intracardiaca. Questa può essere effettuata al momento della

chirurgia per il modello di infarto miocardico. Per il modello SHR, dovremo eseguire un intervento chirurgico per l'iniezione diretta di AntCaNTIDE o un peptide di controllo (Sequenza di Antennapoedia coniugata con un peptide inattivo), utilizzando piccoli volumi e aghi sottili. In effetti abbiamo effettuato esperimenti preliminari che suggeriscono che questo metodo sia utilizzabile. Allo stesso modo, possiamo iniettare anche KN93 direttamente nel cuore. Questo sistema ha il vantaggio di non indurre effetti sistemici, argomento questo che necessita di essere discusso valutando i cambiamenti della pressione e della frequenza. La somministrazione sistemica sarà eseguita per KN93 per mezzo di pompe miniosmotiche impiantate nel sottocute. Ancora una volta, saranno valutati gli effetti sistemici del farmaco sull'emodinamica cardiaca.

SA2b1 Iniezione diretta del miocardio: Gli animali saranno anestetizzati, intubati e ventilati come in SA1a2. La gabbia toracica sarà aperta in condizioni di sterilità attraverso una mini-toracotomia parasternale, per esporre il cuore. Poi, si effettueranno quattro iniezioni (50 microlitri ciascuna) di una soluzione contenente l'inibitore, nella parete cardiaca (anteriore, laterale, posteriore, apicale). Infine, la parete toracica verrà richiusa in strati utilizzando seta 3-0 e gli animali saranno osservati e monitorati fino al recupero. Nel modello di infarto del miocardio, la somministrazione intracardiaca verrà effettuata nella sessione chirurgica stessa, 20 minuti prima di indurre la lesione, in modo che il farmaco possa diffondere in tutto il muscolo cardiaco.

SA2b2 Pompe miniosmotiche impiantate sottocute: I ratti saranno anestetizzati, intubati e ventilati come in SA1a2, e si effettuerà una piccola incisione della cute interscapolare, in modo da creare una tasca in cui inserire la pompa osmotica. Dopo l'inserimento, l'incisione cutanea sarà chiusa con una sutura catgut 4,0.

Obiettivo specifico 3: Valutazione degli effetti farmacologici nei due differenti modelli.

In questa sezione viene affrontato la questione dell'efficacia dell'inibizione di CaMK2 per migliorare le risposte cardiovascolari nel cuore ipertrofico o infartuato. Ci aspettiamo di completare questa fase in 18 mesi, partendo subito dopo la messa a punto del modello. Questa sezione verrà sviluppata contemporaneamente a quella relativa alla via di somministrazione. Gli obiettivi differiscono ovviamente a seconda del modello considerato. In particolare:

SA3a Nel ratto SHR, con i metodi descritti in SA1a1-5, valuteremo in un periodo di tempo di 1 settimana se l'inibitore di CaMK2 iniettato direttamente nel cuore è in grado di indurre una regressione dell'ipertrofia cardiaca. Inoltre, si valuteranno gli effetti a 1 settimana e 1 di KN93 dalle pompe miniosmotiche. Ci aspettiamo che sia AntCaNTIDE che KN-93 indurranno una riduzione dei parametri di ipertrofia cardiaca. Sarà interessante poi descrivere i possibili effetti diversi su diversi componenti cellulari ed extracellulari di questa risposta e confrontare i risultati ottenuti con la somministrazione sistemica ed intracardiaca di KN93.

SA3b Nel modello di infarto del miocardio, con i metodi descritti in SA1a1 a 5, valuteremo in un periodo di tempo di 1-4 settimane se gli inibitori di CaMK2 iniettati direttamente nel cuore siano in grado di modificare il rimodellamento cardiaco. Inoltre, si valuteranno gli effetti di KN93 dopo 1 settimana e 1 mese di somministrazione. Ci aspettiamo che sia AntCaNTIDE che KN-93, miglioreranno il rimodellamento indotto dal post-infarto. Anche in tale modello, descriveremo i possibili effetti diversi su diversi componenti cellulari ed

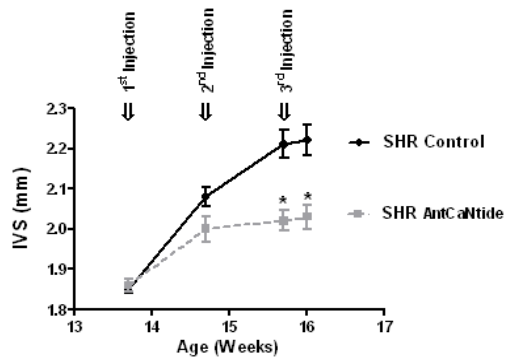
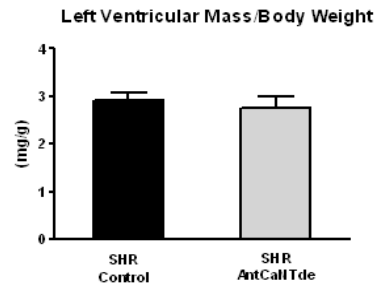
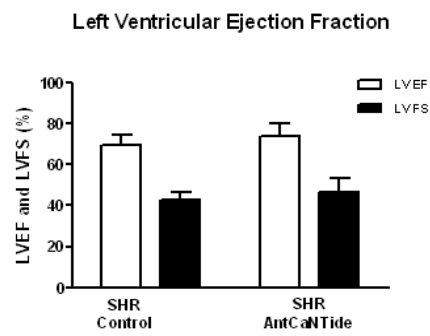
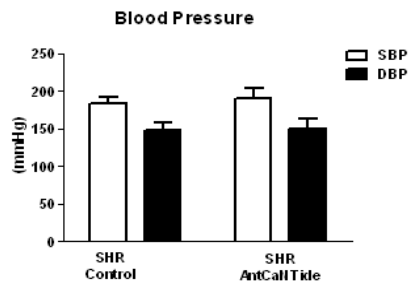
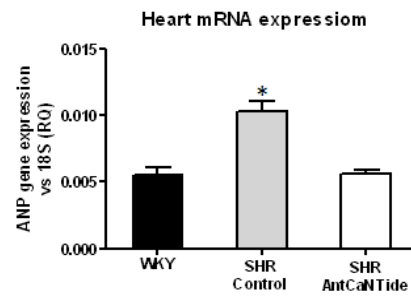
extracellulare e confrontare i risultati ottenuti con la somministrazione sistemica od intracardiaca di KN93.

Descrizione delle apparecchiature in dotazione

1. Sistema per fissaggio, inclusione, microtomia e preparazione di vetrini per preparati istologici
2. Sistema di ecografia e dopplergrafia su piccolo animale
3. Sistema per acquisizione di parametri emodinamici invasivi nel piccolo animale mediante catetere con microtrasduttore in punta
4. Microscopia a fluorescenza
5. Stabulario Dipartimentale e Laboratorio Culture Cellulari

Risultati Attesi e preliminari:

L'uso di inibitori specifici per CaMKII nell'inibizione delle risposte maladattative cardiache rappresenta la prova di concetto necessaria allo sviluppo successivo di molecole di natura sintetica sulla base dei dati ottenuti con i peptidi di minori dimensioni. Abbiamo ottenuto dei risultati preliminari utilizzando l'iniezione diretta di AntCaNTIDE nella parete libera del ventricolo sinistro di ratti SHR, e valutato una serie di risposte fisiologiche che sono indicate nella figura allegata. In particolare, come indicato in figura, pannello A, mediante ecocardiografia, negli SHR dalla 13^o settimana in poi si assiste all'aumento degli spessori parietali, che aumentano di circa il 30% in 3 settimane. L'iniezione nella parete libera del ventricolo del peptide AntCaNTIDE rallenta questo evento, portando ad una significativa attenuazione della risposta ipertrofica in termini di spessori parietali. Questa riduzione si ripercuote sulla risposta in termini di massa cardiaca, che risulta significativamente ridotta (Pannello C). È interessante notare che la funzione cardiaca non sembra essere interessata da questi eventi, tant'è che sia la frazione di eiezione valutata ecocardiograficamente (Pannello D), che i valori di pressione sistemica (Pannello E) non sono modificati dall'intervento. In accordo con il dato di spessore e di massa, anche la biochimica cardiaca viene modificata dalla iniezione di AntCaNTIDE nel ventricolo. Infatti, i livelli di espressione di ANP, un noto marcatore biochimico di risposta ipertrofica cardiaca, che sono aumentati nei ratti SHR rispetto al ceppo normoteso di riferimento Wistar Kyoto, vengono ridotti significativamente nei ratti SHR trattati.

A**B****C****D****E****F**

Elenco delle Pubblicazioni “Peer Reviewed”

1. Lembo, G., R. Napoli, B. Capaldo, V. Rendina, G. Iaccarino, M. Volpe, B. Trimarco, and L. Sacca, Abnormal sympathetic overactivity evoked by insulin in the skeletal muscle of patients with essential hypertension. *J Clin Invest*, 1992. 90(1): p. 24-9.
2. Lembo, G., V. Rendina, G. Iaccarino, N. De Luca, B. Ricciardelli, M. Volpe, and B. Trimarco, Digitalis restores the forearm sympathetic response to cardiopulmonary receptor unloading in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. *J Hypertens*, 1993. 11(12): p. 1395-402.
3. Lembo, G., V. Rendina, G. Iaccarino, F. Lamenza, G. Condorelli, G. Rosiello, and B. Trimarco, Insulin does not modulate reflex forearm sympathetic vasoconstriction in patients with essential hypertension. *J Hypertens Suppl*, 1993. 11(5): p. S272-3.
4. Lembo, G., V. Rendina, G. Iaccarino, F. Lamenza, M. Volpe, and B. Trimarco, Insulin reduces reflex forearm sympathetic vasoconstriction in healthy humans. *Hypertension*, 1993. 21(6 Pt 2): p. 1015-9.
5. Lembo, G., B. Capaldo, V. Rendina, G. Iaccarino, R. Napoli, R. Guida, B. Trimarco, and L. Sacca, Acute noradrenergic activation induces insulin resistance in human skeletal muscle. *Am J Physiol*, 1994. 266(2 Pt 1): p. E242-7.
6. Lembo, G., G. Iaccarino, V. Rendina, M. Volpe, and B. Trimarco, Insulin blunts sympathetic vasoconstriction through the alpha 2-adrenergic pathway in humans. *Hypertension*, 1994. 24(4): p. 429-38.
7. Rendina, V., G. Iaccarino, G. Iovino, C. Morisco, C. Vecchione, and B. Trimarco, [Non-hemodynamic mechanisms of cardiovascular risk in the hypertensive patient: insulin resistance]. *Cardiologia*, 1994. 39(12 Suppl 1): p. 295-8.
8. Rendina, V., G. Iaccarino, R. Russo, J. Enea, R. Marchegiano, G. Lembo, and B. Trimarco, Trandolapril in patients with essential hypertension: effects on vascular and cardiac structural changes. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1994. 23 Suppl 1: p. S20-4.
9. Lembo, G., G. Iaccarino, C. Vecchione, V. Rendina, and B. Trimarco, Insulin modulation of vascular reactivity is already impaired in prehypertensive spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 1995. 26(2): p. 290-3.
10. Golino, P., M. Ragni, P. Cirillo, V.E. Avvedimento, A. Feliciello, N. Esposito, A. Scognamiglio, B. Trimarco, G. Iaccarino, M. Condorelli, M. Chiariello, and G. Ambrosio, Effects of tissue factor induced by oxygen free radicals on coronary flow during reperfusion. *Nat Med*, 1996. 2(1): p. 35-40.
11. Lembo, G., G. Iaccarino, C. Vecchione, V. Rendina, L. Parrella, and B. Trimarco, Insulin modulation of beta-adrenergic vasodilator pathway in human forearm. *Circulation*, 1996. 93(7): p. 1403-10.
12. Lembo, G., C. Vecchione, G. Iaccarino, and B. Trimarco, The crosstalk between insulin and the sympathetic nervous system: possible implications in the pathogenesis of essential hypertension. *Blood Press Suppl*, 1996. 1: p. 38-42.
13. Morisco, C., A. Cuocolo, M. Romano, A. Nappi, G. Iaccarino, M. Volpe, M. Salvatore, and B. Trimarco, Influence of digitalis on left ventricular functional response to exercise in congestive heart failure. *Am J Cardiol*, 1996. 77(7): p. 480-5.
14. Volpe, M., G. Iaccarino, C. Vecchione, D. Rizzoni, R. Russo, S. Rubattu, G. Condorelli, U. Ganten, D. Ganten, B. Trimarco, and K. Lindpaintner, Association and cosegregation of stroke with impaired endothelium-dependent vasorelaxation in stroke prone, spontaneously hypertensive rats. *J Clin Invest*, 1996. 98(2): p. 256-61.
15. Iannuzzi, A., G. Bianciardi, F. Faccenda, A. Gnasso, N. Scarpato, L. Di Marino, G. Iaccarino, C. Simoes, G. Sacchi, and E. Weber, Correction of erythrocyte shape

abnormalities in familial hypercholesterolemia after LDL-apheresis: does it influence cerebral hemodynamics? *Heart Vessels*, 1997. 12(5): p. 234-40.

16. Lembo, G., G. Iaccarino, C. Vecchione, E. Barbato, R. Izzo, D. Fontana, and B. Trimarco, Insulin modulation of an endothelial nitric oxide component present in the alpha2- and beta-adrenergic responses in human forearm. *J Clin Invest*, 1997. 100(8): p. 2007-14.

17. Lembo, G., G. Iaccarino, C. Vecchione, E. Barbato, C. Morisco, F. Monti, L. Parrella, and B. Trimarco, Insulin enhances endothelial alpha2-adrenergic vasorelaxation by a pertussis toxin mechanism. *Hypertension*, 1997. 30(5): p. 1128-34.

18. Akhter, S.A., L.M. Luttrell, H.A. Rockman, G. Iaccarino, R.J. Lefkowitz, and W.J. Koch, Targeting the receptor-Gq interface to inhibit in vivo pressure overload myocardial hypertrophy. *Science*, 1998. 280(5363): p. 574-7.

19. Huynh, T.T., G. Iaccarino, M.G. Davies, E. Svendsen, W.J. Koch, and P.O. Hagen, Adenoviral-mediated inhibition of G beta gamma signaling limits the hyperplastic response in experimental vein grafts. *Surgery*, 1998. 124(2): p. 177-86.

20. Iaccarino, G., H.A. Rockman, K.F. Shotwell, E.D. Tomhave, and W.J. Koch, Myocardial overexpression of GRK3 in transgenic mice: evidence for in vivo selectivity of GRKs. *Am J Physiol*, 1998. 275(4 Pt 2): p. H1298-306.

21. Iaccarino, G., E.D. Tomhave, R.J. Lefkowitz, and W.J. Koch, Reciprocal in vivo regulation of myocardial G protein-coupled receptor kinase expression by beta-adrenergic receptor stimulation and blockade. *Circulation*, 1998. 98(17): p. 1783-9.

22. Rockman, H.A., K.R. Chien, D.J. Choi, G. Iaccarino, J.J. Hunter, J. Ross, Jr., R.J. Lefkowitz, and W.J. Koch, Expression of a beta-adrenergic receptor kinase 1 inhibitor prevents the development of myocardial failure in gene-targeted mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. 95(12): p. 7000-5.

23. Huynh, T.T., G. Iaccarino, M.G. Davies, H.J. Safi, W.J. Koch, and P.O. Hagen, External support modulates G protein expression and receptor coupling in experimental vein grafts. *Surgery*, 1999. 126(2): p. 127-34.

24. Iaccarino, G., P.C. Dolber, R.J. Lefkowitz, and W.J. Koch, Bbeta-adrenergic receptor kinase-1 levels in catecholamine-induced myocardial hypertrophy: regulation by beta- but not alpha1-adrenergic stimulation. *Hypertension*, 1999. 33(1 Pt 2): p. 396-401.

25. Iaccarino, G. and W.J. Koch, Therapeutic potential of G-protein coupled receptor kinases in the heart. *Expert Opin Investig Drugs*, 1999. 8(5): p. 545-54.

26. Iaccarino, G. and W.J. Koch, G beta gamma-mediated signaling: new therapeutic target for proliferative vascular disease. *IUBMB Life*, 1999. 48(3): p. 257-61.

27. Iaccarino, G., R.J. Lefkowitz, and W.J. Koch, Myocardial G protein-coupled receptor kinases: implications for heart failure therapy. *Proc Assoc Am Physicians*, 1999. 111(5): p. 399-405.

28. Iaccarino, G., L.A. Smithwick, R.J. Lefkowitz, and W.J. Koch, Targeting Gbeta gamma signaling in arterial vascular smooth muscle proliferation: a novel strategy to limit restenosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(7): p. 3945-50.

29. Zeiders, J.L., F.J. Seidler, G. Iaccarino, W.J. Koch, and T.A. Slotkin, Ontogeny of cardiac beta-adrenoceptor desensitization mechanisms: agonist treatment enhances receptor/G-protein transduction rather than eliciting uncoupling. *J Mol Cell Cardiol*, 1999. 31(2): p. 413-23.

30. Freeman, K., C. Colon-Rivera, M.C. Olsson, R.L. Moore, H.D. Weinberger, I.L. Grupp, K.L. Vikstrom, G. Iaccarino, W.J. Koch, and L.A. Leinwand, Progression from

hypertrophic to dilated cardiomyopathy in mice that express a mutant myosin transgene. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001. 280(1): p. H151-9.

31. Freeman, K., I. Lerman, E.G. Kranias, T. Bohlmeier, M.R. Bristow, R.J. Lefkowitz, G. Iaccarino, W.J. Koch, and L.A. Leinwand, Alterations in cardiac adrenergic signaling and calcium cycling differentially affect the progression of cardiomyopathy. *J Clin Invest*, 2001. 107(8): p. 967-74.
32. Iaccarino, G., E. Barbato, E. Cipolletta, A. Fiorillo, and B. Trimarco, Role of the sympathetic nervous system in cardiac remodeling in hypertension. *Clin Exp Hypertens*, 2001. 23(1-2): p. 35-43.
33. Iaccarino, G., E. Barbato, E. Cipolletta, A. Esposito, A. Fiorillo, W.J. Koch, and B. Trimarco, Cardiac betaARK1 upregulation induced by chronic salt deprivation in rats. *Hypertension*, 2001. 38(2): p. 255-60.
34. Iaccarino, G., J.R. Keys, A. Rapacciuolo, K.F. Shotwell, R.J. Lefkowitz, H.A. Rockman, and W.J. Koch, Regulation of myocardial betaARK1 expression in catecholamine-induced cardiac hypertrophy in transgenic mice overexpressing alpha1B-adrenergic receptors. *J Am Coll Cardiol*, 2001. 38(2): p. 534-40.
35. Condorelli, G., A. Drusco, G. Stassi, A. Bellacosa, R. Roncarati, G. Iaccarino, M.A. Russo, Y. Gu, N. Dalton, C. Chung, M.V. Latronico, C. Napoli, J. Sadoshima, C.M. Croce, and J. Ross, Jr., Akt induces enhanced myocardial contractility and cell size in vivo in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002. 99(19): p. 12333-8.
36. Iaccarino, G., E. Cipolletta, A. Fiorillo, M. Anneschiarico, M. Ciccarelli, V. Cimini, W.J. Koch, and B. Trimarco, Beta(2)-adrenergic receptor gene delivery to the endothelium corrects impaired adrenergic vasorelaxation in hypertension. *Circulation*, 2002. 106(3): p. 349-55.
37. Cittadini, A., J. Isgaard, M.G. Monti, C. Casaburi, A. Di Gianni, R. Serpico, G. Iaccarino, and L. Sacca, Growth hormone prolongs survival in experimental postinfarction heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 2003. 41(12): p. 2154-63.
38. Iaccarino, G. and W.J. Koch, Transgenic mice targeting the heart unveil G protein-coupled receptor kinases as therapeutic targets. *Assay Drug Dev Technol*, 2003. 1(2): p. 347-55.
39. Leosco, D., G. Iaccarino, E. Cipolletta, D. De Santis, E. Pisani, V. Trimarco, N. Ferrara, P. Abete, D. Sorriento, F. Rengo, and B. Trimarco, Exercise restores beta-adrenergic vasorelaxation in aged rat carotid arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003. 285(1): p. H369-74.
40. Iaccarino, G., M. Ciccarelli, D. Sorriento, E. Cipolletta, V. Cerullo, G.L. Iovino, A. Paudice, A. Elia, G. Santulli, A. Campanile, O. Arcucci, L. Pastore, F. Salvatore, G. Condorelli, and B. Trimarco, AKT participates in endothelial dysfunction in hypertension. *Circulation*, 2004. 109(21): p. 2587-93.
41. Iaccarino, G. and W.J. Koch, In vivo adenoviral-mediated gene transfer of the beta ARKct to study the role of G beta gamma in arterial restenosis. *Methods Mol Biol*, 2004. 237: p. 181-92.
42. Iaccarino, G., F. Lanni, E. Cipolletta, V. Trimarco, R. Izzo, G.L. Iovino, N. De Luca, and B. Trimarco, The Glu27 allele of the beta2 adrenergic receptor increases the risk of cardiac hypertrophy in hypertension. *J Hypertens*, 2004. 22(11): p. 2117-22.
43. Barbato, E., F. Piscione, J. Bartunek, G. Galasso, P. Cirillo, G. De Luca, G. Iaccarino, B. De Bruyne, M. Chiariello, and W. Wijns, Role of beta2 adrenergic receptors in human atherosclerotic coronary arteries. *Circulation*, 2005. 111(3): p. 288-94.

44. D'Andrea, L.D., G. Iaccarino, R. Fattorusso, D. Sorriento, C. Carannante, D. Capasso, B. Trimarco, and C. Pedone, Targeting angiogenesis: structural characterization and biological properties of a de novo engineered VEGF mimicking peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005. 102(40): p. 14215-20.
45. De Luca, N., R. Izzo, G. Iaccarino, P.L. Malini, C. Morisco, F. Rozza, G.L. Iovino, M.A. Rao, C. Bodenizza, F. Lanni, L. Guerrero, O. Arcucci, and B. Trimarco, The use of a telematic connection for the follow-up of hypertensive patients improves the cardiovascular prognosis. *J Hypertens*, 2005. 23(7): p. 1417-23.
46. Ferrara, N., P. Abete, G. Corbi, G. Paolisso, G. Longobardi, C. Calabrese, F. Cacciatore, D. Scarpa, G. Iaccarino, B. Trimarco, D. Leosco, and F. Rengo, Insulin-induced changes in beta-adrenergic response: an experimental study in the isolated rat papillary muscle. *Am J Hypertens*, 2005. 18(3): p. 348-53.
47. Iaccarino, G., E. Barbato, E. Cipolletta, V. De Amicis, K.B. Margulies, D. Leosco, B. Trimarco, and W.J. Koch, Elevated myocardial and lymphocyte GRK2 expression and activity in human heart failure. *Eur Heart J*, 2005. 26(17): p. 1752-8.
48. Iaccarino, G., M. Ciccarelli, D. Sorriento, G. Galasso, A. Campanile, G. Santulli, E. Cipolletta, V. Cerullo, V. Cimini, G.G. Altobelli, F. Piscione, O. Priante, L. Pastore, M. Chiariello, F. Salvatore, W.J. Koch, and B. Trimarco, Ischemic neoangiogenesis enhanced by beta2-adrenergic receptor overexpression: a novel role for the endothelial adrenergic system. *Circ Res*, 2005. 97(11): p. 1182-9.
49. Iaccarino, G., V. Trimarco, F. Lanni, E. Cipolletta, R. Izzo, O. Arcucci, N. De Luca, and G. Di Renzo, beta-Blockade and increased dyslipidemia in patients bearing Glu27 variant of beta2 adrenergic receptor gene. *Pharmacogenomics J*, 2005. 5(5): p. 292-7.
50. Cittadini, A., M.G. Monti, G. Iaccarino, F. Di Rella, P.N. Tsihchlis, A. Di Gianni, H. Stromer, D. Sorriento, C. Peschle, B. Trimarco, L. Sacca, and G. Condorelli, Adenoviral gene transfer of Akt enhances myocardial contractility and intracellular calcium handling. *Gene Ther*, 2006. 13(1): p. 8-19.
51. Iaccarino, G., R. Izzo, V. Trimarco, E. Cipolletta, F. Lanni, D. Sorriento, G.L. Iovino, F. Rozza, N. De Luca, O. Priante, G. Di Renzo, and B. Trimarco, Beta2-adrenergic receptor polymorphisms and treatment-induced regression of left ventricular hypertrophy in hypertension. *Clin Pharmacol Ther*, 2006. 80(6): p. 633-45.
52. Ciccarelli, M., E. Cipolletta, G. Santulli, A. Campanile, K. Pumiglia, P. Cervero, L. Pastore, D. Astone, B. Trimarco, and G. Iaccarino, Endothelial beta2 adrenergic signaling to AKT: role of Gi and SRC. *Cell Signal*, 2007. 19(9): p. 1949-55.
53. Lanni, F., G. Santulli, R. Izzo, S. Rubattu, B. Zanda, M. Volpe, G. Iaccarino, and B. Trimarco, The Pl(A1/A2) polymorphism of glycoprotein IIIa and cerebrovascular events in hypertension: increased risk of ischemic stroke in high-risk patients. *J Hypertens*, 2007. 25(3): p. 551-6.
54. Leosco, D., F. Fortunato, G. Rengo, G. Iaccarino, E. Sanzari, L. Golino, C. Zincarelli, V. Canonico, M. Marchese, W.J. Koch, and F. Rengo, Lymphocyte G-protein-coupled receptor kinase-2 is upregulated in patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 2007. 415(3): p. 279-82.
55. Leosco, D., G. Rengo, G. Iaccarino, A. Filippelli, A. Lympelopoulou, C. Zincarelli, F. Fortunato, L. Golino, M. Marchese, G. Esposito, A. Rapacciuolo, B. Rinaldi, N. Ferrara, W.J. Koch, and F. Rengo, Exercise training and beta-blocker treatment ameliorate age-dependent impairment of beta-adrenergic receptor signaling and enhance cardiac responsiveness to adrenergic stimulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007. 293(3): p. H1596-603.

56. Leosco, D., G. Rengo, G. Iaccarino, E. Sanzari, L. Golino, G. De Lisa, C. Zincarelli, F. Fortunato, M. Ciccarelli, V. Cimini, G.G. Altobelli, F. Piscione, G. Galasso, B. Trimarco, W.J. Koch, and F. Rengo, Prior exercise improves age-dependent vascular endothelial growth factor downregulation and angiogenesis responses to hind-limb ischemia in old rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2007. 62(5): p. 471-80.
57. Ciccarelli, M., G. Santulli, A. Campanile, G. Galasso, P. Cervero, G.G. Altobelli, V. Cimini, L. Pastore, F. Piscione, B. Trimarco, and G. Iaccarino, Endothelial alpha1-adrenoceptors regulate neo-angiogenesis. *Br J Pharmacol*, 2008. 153(5): p. 936-46.
58. Izzo, R., E. Cipolletta, M. Ciccarelli, A. Campanile, G. Santulli, G. Palumbo, A. Vasta, S. Formisano, B. Trimarco, and G. Iaccarino, Enhanced GRK2 expression and desensitization of betaAR vasodilatation in hypertensive patients. *Clin Transl Sci*, 2008. 1(3): p. 215-20.
59. Leosco, D., G. Rengo, G. Iaccarino, L. Golino, M. Marchese, F. Fortunato, C. Zincarelli, E. Sanzari, M. Ciccarelli, G. Galasso, G.G. Altobelli, V. Conti, G. Matrone, V. Cimini, N. Ferrara, A. Filippelli, W.J. Koch, and F. Rengo, Exercise promotes angiogenesis and improves beta-adrenergic receptor signalling in the post-ischaemic failing rat heart. *Cardiovasc Res*, 2008. 78(2): p. 385-94.
60. Piscione, F., G. Iaccarino, G. Galasso, E. Cipolletta, M.A. Rao, G. Brevetti, R. Piccolo, B. Trimarco, and M. Chiariello, Effects of Ile164 polymorphism of beta2-adrenergic receptor gene on coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, 2008. 52(17): p. 1381-8.
61. Sorriento, D., M. Ciccarelli, G. Santulli, A. Campanile, G.G. Altobelli, V. Cimini, G. Galasso, D. Astone, F. Piscione, L. Pastore, B. Trimarco, and G. Iaccarino, The G-protein-coupled receptor kinase 5 inhibits NFkappaB transcriptional activity by inducing nuclear accumulation of IkappaB alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. 105(46): p. 17818-23.
62. Campanile, A. and G. Iaccarino, G-protein-coupled receptor kinases in cardiovascular conditions: focus on G-protein-coupled receptor kinase 2, a gain in translational medicine. *Biomark Med*, 2009. 3(5): p. 525-40.
63. Cipolletta, E., A. Campanile, G. Santulli, E. Sanzari, D. Leosco, P. Campiglia, B. Trimarco, and G. Iaccarino, The G protein coupled receptor kinase 2 plays an essential role in beta-adrenergic receptor-induced insulin resistance. *Cardiovasc Res*, 2009. 84(3): p. 407-15.
64. Cittadini, A., M.G. Monti, M.C. Castiello, E. D'Arco, G. Galasso, D. Sorriento, L. Saldamarco, A. De Paulis, R. Napoli, G. Iaccarino, and L. Sacca, Insulin-like growth factor-1 protects from vascular stenosis and accelerates re-endothelialization in a rat model of carotid artery injury. *J Thromb Haemost*, 2009. 7(11): p. 1920-8.
65. Izzo, R., G. de Simone, M. Chinali, G. Iaccarino, V. Trimarco, F. Rozza, R. Giudice, B. Trimarco, and N. De Luca, Insufficient control of blood pressure and incident diabetes. *Diabetes Care*, 2009. 32(5): p. 845-50.
66. Oriente, F., S. Iovino, A. Cassese, C. Romano, C. Miele, G. Troncone, M. Balletta, A. Perfetti, G. Santulli, G. Iaccarino, R. Valentino, F. Beguinot, and P. Formisano, Overproduction of phosphoprotein enriched in diabetes (PED) induces mesangial expansion and upregulates protein kinase C-beta activity and TGF-beta1 expression. *Diabetologia*, 2009. 52(12): p. 2642-52.
67. Santulli, G., M. Ciccarelli, G. Palumbo, A. Campanile, G. Galasso, B. Ziaco, G.G. Altobelli, V. Cimini, F. Piscione, L.D. D'Andrea, C. Pedone, B. Trimarco, and G. Iaccarino, In vivo properties of the proangiogenic peptide QK. *J Transl Med*, 2009. 7: p. 41.

68. Sorriento, D., A. Campanile, G. Santulli, E. Leggiero, L. Pastore, B. Trimarco, and G. Iaccarino, A new synthetic protein, TAT-RH, inhibits tumor growth through the regulation of NFkappaB activity. *Mol Cancer*, 2009. 8: p. 97.
69. Cipolletta, E., S. Monaco, A.S. Maione, L. Vitiello, P. Campiglia, L. Pastore, C. Franchini, E. Novellino, V. Limongelli, K.U. Bayer, A.R. Means, G. Rossi, B. Trimarco, G. Iaccarino, and M. Illario, Calmodulin-dependent kinase II mediates vascular smooth muscle cell proliferation and is potentiated by extracellular signal regulated kinase. *Endocrinology*, 2010. 151(6): p. 2747-59.
70. Galasso, G., R. De Rosa, F. Piscione, G. Iaccarino, C. Vosa, D. Sorriento, R. Piccolo, A. Rapacciuolo, K. Walsh, and M. Chiariello, Myocardial expression of FOXO3a-Atrogin-1 pathway in human heart failure. *Eur J Heart Fail*, 2010. 12(12): p. 1290-6.
71. Galasso, G., G. Santulli, F. Piscione, R. De Rosa, V. Trimarco, R. Piccolo, S. Cassese, G. Iaccarino, B. Trimarco, and M. Chiariello, The GPIIIA P1A2 polymorphism is associated with an increased risk of cardiovascular adverse events. *BMC Cardiovasc Disord*, 2010. 10: p. 41.
72. Sorriento, D., G. Santulli, A. Fusco, A. Anastasio, B. Trimarco, and G. Iaccarino, Intracardiac injection of AdGRK5-NT reduces left ventricular hypertrophy by inhibiting NF-kappaB-dependent hypertrophic gene expression. *Hypertension*, 2010. 56(4): p. 696-704.
73. Spinelli, L., V. Trimarco, S. Di Marino, M. Marino, G. Iaccarino, and B. Trimarco, L41Q polymorphism of the G protein coupled receptor kinase 5 is associated with left ventricular apical ballooning syndrome. *Eur J Heart Fail*, 2010. 12(1): p. 13-6.
74. Ciccarelli, M., D. Sorriento, E. Cipolletta, G. Santulli, A. Fusco, R.H. Zhou, A.D. Eckhart, K. Poppel, W.J. Koch, B. Trimarco, and G. Iaccarino, Impaired neoangiogenesis in beta(2) -adrenoceptor gene-deficient mice: restoration by intravascular human beta(2) -adrenoceptor gene transfer and role of NFkappaB and CREB transcription factors. *Br J Pharmacol*, 2011. 162(3): p. 712-21.
75. Santulli, G., M.F. Basilicata, M. De Simone, C. Del Giudice, A. Anastasio, D. Sorriento, M. Saviano, A. Del Gatto, B. Trimarco, C. Pedone, L. Zaccaro, and G. Iaccarino, Evaluation of the anti-angiogenic properties of the new selective alphaVbeta3 integrin antagonist RGDechiHCit. *J Transl Med*, 2011. 9(1): p. 7
76. Santulli G, Campanile A, Spinelli L, Panzillo EA, Ciccarelli M, Trimarco B, Iaccarino G.G Protein-Coupled Receptor Kinase 2 in Patients With Acute Myocardial Infarction. *Am J Cardiol*. 2011 Feb 4. [Epub ahead of print]

Time Table (GANTT) della proposta:

Mesi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
SA1a	■	■	■	■	■	■																		
SA1b	■	■	■	■	■	■																		
SA2a							■	■	■	■	■	■												
SA2b							■	■	■	■	■	■												
SA3a													■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
SA3b													■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

Costi della Proposta:

Plasticherie, anticorpi, reattivi, criopreservazione, radioattivi, acquisizione e housing di ratti transgenici. €35000

1 biotecnologo da dedicare alla ricerca: €15000