

## Abstract

The anti-apoptotic protein BAG3 is expressed at high levels in skeletal and cardiac muscle *in vivo*. Our group recently focused its interest on BAG3 role in myocardiocyte proliferation, survival and response to stressful stimuli. We found that BAG3 is upregulated during the differentiation of cardiomyoblasts. Our results prompted us to verify whether *bag3* silencing could affect the differentiation state of cardiocytes and we found that *bag3* silencing resulted in highly reducing the levels of myogenin. Furthermore, we analyzed BAG3 expression and localization following cell exposure to oxidative stress. In particular, we found that epinephrine *in vitro* increases BAG3 expression in adult human cardiomyocytes. We evaluated whether BAG3 could be involved in the Tako-tsubo cardiomyopathy (or stress cardiomyopathy) pathogenesis that is characterized by left ventricular dysfunction, with symptoms that can mimic an acute coronary syndrome. The absence of significant cardiovascular risk factors in patients affected by stress cardiomyopathy suggested that it might be associated with a possible genetic etiology. Therefore, we sequenced *bag3* gene to check for polymorphisms in 29 patients and 1043 healthy donors. Three polymorphism were highly represented among patients (R71Q, C151R, P407L).

We also showed for the first time that BAG3 protein is released from stressed cardiomyocytes and is found in chronic heart failure (HF) patients' sera. Since anti-BAG3 antibodies are also present in patients' sera, we developed an ELISA test for their specific detection. In serum samples from chronic HF patients, we found significantly higher values of anti-BAG3 antibodies respect to samples from healthy donors. The presence of anti-BAG3 antibodies in chronic HF patients' sera and the availability of an ELISA test for their detection can contribute a novel tool for diagnostic and prognostic evaluations.

## Sommario

BAG3 è una proteina citoplasmatica di 74 kDa particolarmente concentrata nel reticolo endoplasmatico rugoso. In condizioni normali, l'unico tessuto che esprime significativi livelli di *bag3* è il muscolo striato (muscolo scheletrico e cuore), dove la proteina è localizzata a livello dei dischi Z e sostiene la sopravvivenza e l'attività contrattile del muscolo, sebbene non sia essenziale per lo sviluppo dello stesso. Il nostro gruppo ha recentemente focalizzato la propria attenzione sul ruolo di BAG3 nella proliferazione, la sopravvivenza e la risposta allo stress dei cardiomiociti. Abbiamo dimostrato che BAG3 si esprime nel corso del differenziamento *in vitro* dei cardiomioblasti. I nostri risultati ci hanno spinto, quindi, a verificare se il silenziamento di *bag3* potesse influenzare lo stato di differenziazione dei cardiociti ed abbiamo scoperto che esso causa riduzione dei livelli di miogenina. Inoltre, abbiamo analizzato l'espressione e la localizzazione cellulare di BAG3 dopo esposizione a stress ossidativo. In particolare, abbiamo trovato che l'adrenalina *in vitro* aumenta l'espressione di BAG3 in cardiomiociti umani. Abbiamo valutato se BAG3 potesse essere coinvolta nella cardiomiopatia Tako-tsubo (o cardiomiopatia da stress), la cui patogenesi è caratterizzata da una disfunzione del ventricolo sinistro e si manifesta con sintomi che possono simulare una sindrome coronarica acuta. L'assenza di significativi fattori di rischio cardiovascolare nelle pazienti colpite da questa forma di cardiomiopatia ci ha fatto ipotizzare che potesse essere associata ad un'eventuale causa genetica. Pertanto, abbiamo sequenziato il gene *bag3* per verificare la presenza di polimorfismi in 29 pazienti e 1.043 donatori sani. Tre sono i polimorfismi più rappresentati tra i pazienti (R71Q, C151R, P407L). Abbiamo anche dimostrato per la prima volta che la proteina BAG3 viene rilasciata da cardiomiociti sottoposti a stress e può essere rilevabile nel siero di pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica. Dal momento che, nel siero dei pazienti è stata rilevata anche la presenza di anticorpi anti-BAG3, abbiamo sviluppato un test ELISA per la loro determinazione specifica. Nei campioni di siero dei pazienti abbiamo trovato valori significativamente più elevati di anticorpi anti-BAG3 rispetto a campioni di siero provenienti da donatori sani. La presenza di anticorpi anti-BAG3 nel siero dei pazienti affetti da scompenso cardiaco cronico e la disponibilità di un test ELISA per la loro individuazione possono rappresentare un nuovo strumento per le valutazioni diagnostiche e prognostiche di tale patologia.

