

## RETE NAZIONALE SU MODELLI SPERIMENTALI E “FACILITIES” ANIMALI

Gennaro Citro (a), Stefano Fais (b)

(a) *Stabilimento Allevatore Fornitore Utilizzatore, Istituto Regina Elena, Roma*

(b) *Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

### Base di partenza e razionale

Il panorama italiano è spesso caratterizzato dalla frammentazione delle attività di gruppi dedicati alla ricerca preclinica che utilizzano modelli sia *in vitro* che *in vivo*, per testare la efficacia di nuove strategie terapeutiche anti-tumorali. La dispersione di tali energie ha spesso prodotto cadute di competitività, soprattutto al livello internazionale. Ciò è particolarmente vero per i modelli animali. La sperimentazione pre-clinica in ambito oncologico si avvale di diversi modelli *in vivo* basati per lo più sull'uso di topi. I tre principali gruppi sono basati sull'uso di:

- modelli singenici in cui si segue la crescita di tumori spontanei nei topi di vari ceppi;
- modelli di topi singenici transgenici o *knock-out* per determinati geni e proteine coinvolti nella tumori genesi;
- modelli xenochimerici nei quali cellule di tumore umano vengono inoculate in tipo immunodeficienti (SCID o Nude) dove crescono sottoforma di tumore solido.

Non può però essere trascurato il fatto che tra i modelli sperimentali utilizzati nella ricerca traslazionale sono comprese anche linee cellulari derivate da pazienti con tumore, spesso comparate a cellule derivanti da tessuti normali. È però ormai consolidata la consapevolezza che i modelli *in vitro* hanno più un valore accademico che reale. Le linee cellulari più diffusamente usate hanno spesso caratteristiche istologiche non precise e comunque diverse rispetto alle cellule di origine e lontane dalle caratteristiche del tumore *in vivo*. Un approccio originale e importante in questo ambito potrebbe essere quello di collezionare cellule tumorali ottenute da tumori umani fatti crescere in topi immunodeficienti, caratterizzarle e conservarle per poi utilizzarle come modello pre-clinico.

Un centro di sperimentazione pre-clinica in oncologia dovrebbe contenere almeno questi modelli per essere competitivo. A ciò si possono aggiungere i primati non umani, ormai considerati di unico riferimento per la sperimentazione pre-clinica di farmaci biotecnologici. Sul territorio nazionale i centri di questo tipo sono a tutt'oggi veramente pochi. Risulta di vitale importanza quindi definire e consolidare una rete scientifica e tecnologica nazionale proiettata a livello internazionale e orientata alla ricerca traslazionale in oncologia. Si rende necessaria a tale scopo una ricognizione delle facilities per la sperimentazione preclinica in oncologia presenti sul territorio nazionale, in modo di consentire una ri-organizzazione funzionale e strategica di tali strutture.

### Obiettivo principale e obiettivi secondari del progetto

Per riassumere gli obiettivi principali di questa rete saranno:

- creare una nuova generazione di tecnici e ricercatori in grado di assicurare affidabilità e continuità alle attività svolte dai centri presenti nella rete, attraverso corsi annuali di

formazione teorico-pratica. Insieme ai corsi di formazione sarà favorita l'aggregazione di giovani ricercatori fra i centri coinvolti nella rete e fra ricercatori interessati alla sperimentazione pre-clinica su tutto il territorio nazionale;

- migliorare e rinnovare i modelli pre-clinici sia *in vitro* che *in vivo*, allo scopo di ottenere modelli che siano quanto più possibile vicini ai tumori presenti nei pazienti;
- stabilire il livello di adeguatezza dei modelli nell'ambito dell'utilizzo pre-clinico, e i costi-benefici dell'utilizzo dei vari modelli;
- attivare connessioni strategiche operative con il mondo dell'industria biomedica in modo da affrontare e possibilmente risolvere le problematiche più attuali e di maggior rilievo;
- prevedere l'uso, lo sviluppo e la diffusione di nuove strumentazioni biomediche sempre più all'avanguardia e la condivisione delle stesse;
- prevedere la costituzione di *spin-off company* la cui *mission* sia di mettere a disposizione servizi di sperimentazione pre-clinica in ambito oncologico per istituzioni pubbliche e private.

## Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

**Tabella 1. Articolazione della Rete nazionale sui modelli sperimentali e “facilities” animali**

<b>Proponente</b> ( <i>Cordinatori della rete</i> )	<b>Ente di appartenenza</b> <b>dell'Unità Operativa</b>	<b>Responsabile scientifico</b> <b>dell'Unità Operativa</b>
IRE ( <i>Gennaro Citro</i> ) ISS ( <i>Stefano Fais</i> )	Humanitas	Alberto Mantovani
	IEO	Giuseppina Bonizzi
	IOR	Lorena Landuzzi
	ISS	Lucia Gabriele
	CRO	Alfonso Colombatti
	ISTGE	Michele Cilli
	IRE	Gennaro Citro
	Pascale	Claudio Arra
	HSR	Paolo Dellabona

## Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Nel corso della seconda annualità, tutte le Unità Operative (UO) hanno continuato a produrre sia modelli animali che metodologie nuove per sperimentazioni finalizzate alla lotta contro il cancro. I risultati di tali attività, oltre che essere riportati nei lavori pubblicati, saranno inseriti nell'area dedicata nel sito allestito nel corso del primo anno di attività. ([www.iss.it/onet](http://www.iss.it/onet)). Nell'ambito della pagina di ACC, il sito ha il duplice scopo di mettere a disposizione di chiunque informazioni sulle attività della rete e di rendere snella qualsiasi procedura di comunicazione tra le UO che hanno aderito alla costituzione della rete. Inoltre, la rete sui modelli pre-clinici in oncologia era ed è aperta all'inserimento progressivo possibilmente di tutti i gruppi presenti sul territorio nazionale, coinvolti nella ricerca pre-clinica in ambito oncologico. Il sito è stato strutturato con l'aiuto del personale informatico dell'ISS; nella pagina web sono

rappresentate diverse sezioni tra cui un archivio, in continuo aggiornamento, dove è possibile venire a conoscenza di A) tutti i modelli sperimentali disponibili, sia cellulari che animali, presenti nelle strutture della rete e quindi sul territorio nazionale; B) tutte le facilities disponibili nell'ambito della sperimentazione pre-clinica in ambito oncologico, l'ubicazione delle stesse, con i nomi dei ricercatori responsabili a cui far riferimento. Al termine di questi due anni di attività è stato creato uno strumento totalmente nuovo, che mette a disposizione di sperimentatori pubblici e privati un archivio dei modelli pre-clinici in oncologia presenti in Italia. Ci sentiamo di dire che in questo archivio sono presenti la gran parte dei modelli esistenti per lo studio dei tumori sia *in vitro* che *in vivo*. Fra le novità di maggior interesse emerse nell'ultimo anno, vi sono i modelli per lo studio delle cellule staminali tumorali. Ad esempio, nell'ambito della ricerca focalizzata a debellare le cellule staminali tumorali, la somministrazione *in vivo* ai topi MMTV-ErbB2 (modello usato per studiare il ruolo delle staminali nella crescita e mantenimento del tumore alla mammella) di Nutlin3, ha chiaramente dimostrato che la riduzione della massa tumorale del 90% è dovuta alla capacità di tale composto di distruggere in modo selettivo le cellule staminali. Altro modello messo a punto di recente è quello dei topi transgenici TRAMP, geneticamente privi di linfociti NKT, che sviluppano spontaneamente il carcinoma della prostata e la crescita tumorale correlava con una significativa riduzione della sopravvivenza. Altro modello interessante ultimamente utilizzato nella rete è quello che permette di valutare il ruolo delle citochine nella crescita neoplastica. Sono stati ultimamente inseriti topi knockout per un recettore chemochinico che normalmente funziona da decoy, D6. Il D6 è un recettore espresso dall'endotelio linfatico e da leucociti, che ha la funzione di scavenger per chemochine CC e di regolare negativamente le risposte infiammatorie. Questi topi sono stati usati in modelli di colon carcinogenesi associati a malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD). La rete ha inoltre dimostrato capacità aggregante con reti locali e istituzioni di ricerca, non dotate di animal facility, come avvenuto per l'UO dell'Istituto Pascale di Napoli, in grado di stipulare convenzioni con il Dipartimento di Medicina Sperimentale della Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli studi "Maegna Graecia" in Catanzaro; con il Dipartimento DIFARMA della Facoltà di Farmacia dell'Università degli studi di Salerno, in Fisciano; con il Centro di Endocrinologia Oncologica Sperimentale – CNR, in Napoli.

È importante sottolineare che durante 2009, la rete ha coordinato o promosso corsi come quello svoltosi presso l'IST di Genova il Corso di Aggiornamento Teorico - Pratico: Modelli Preclinici Oncologici: Aspetti Scientifici, Tecnici ed Etici (Progetto ECM Regionale – Regione Liguria - RFLPV7 – ECOMP 207) sotto il patrocinio di ACC. Il corso era focalizzato su nuove tecnologie per la diagnostica e l'imaging di animali da laboratorio, ma aveva lo scopo primario di fornire una panoramica sui modelli animali utilizzabili nella sperimentazione preclinica in oncologia e di condividere il know-how scientifico, tecnico, tecnologico e gestionale delle strutture di ricerca italiane più impegnate in questo campo, proprio nello spirito della Rete Oncologica Nazionale di "Alleanza contro il Cancro". Infine, è recente l'introduzione nella rete di un nuovo approccio per la valutazione *in vivo* di nuove strategie anti-tumorali. Per una iniziativa dell'UO dell'IRE di Roma sono stati ultimamente utilizzati modelli di tumore spontaneo in animali da compagnia quali cani e gatti per nuovi approcci diagnostici e terapeutici. L'uso degli animali da compagnia affetti da tumori maligni è per alcuni versi antitetico all'uso di veri e propri modelli sperimentali ottenuti ad hoc in laboratorio e se vogliamo per molti aspetti messi in discussione per il basso livello di predittività mostrato negli ultimi 20 anni. Infatti, cani e gatti possono essere considerati singoli pazienti, in quanto la patologia è simile a quella dell'uomo e viene curata con protocolli terapeutici identici. Inoltre, gli animali da compagnia costituiscono "spie biologiche" dell'ambiente nel quale convivono con la specie umana, avendo spesso stili di vita controllati (alimentazione, no fumo attivo, no

alcool ecc.). I risultati ottenuti sono di sicuro interesse come riportato nella relazione della UO. In conclusione la rete sui modelli pre-clinici in oncologia è stata costituita ed è operativa sul territorio nazionale grazie al programma 2 di ACC. Lo sforzo da tutti prodotto in questi due anni ha sicuramente fornito un nuovo strumento di ampio utilizzo nella ricerca pre-clinica su nuovi approcci diagnostici e terapeutici nei confronti dei tumori.

## Publicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il presente progetto ha prodotto in questo secondo anno di attività le seguenti pubblicazioni:

1. Accardo A, Tesaro D, Aloj L, Tarallo L, Arra C, Mangiapia G, Vaccaro M, Pedone C, Paduano L, Morelli G. Peptide-containing aggregates as selective nanocarriers for therapeutics. *Chem Med Chem* 2008;3(4):594-602.
2. Airoidi I, Cocco C, Giuliani N, Ferrarini M, Colla S, Ognio E, Taverniti G, Di Carlo E, Cutrona G, Perfetti V, Rizzoli V, Ribatti D, Pistoia V. Constitutive expression of IL/12Rbeta2 on human multiple myeloma cells delineates a novel therapeutic target. *Blood* 2008;112:750-9.
3. Airoidi I, Di Carlo E, Cocco C, Caci E, Cilli M, Sorrentino C, Sozzi G, Ferrini S, Rosini S, Bertolini G, Truini M, Grossi F, Galiotta L, Ribatti D, Pistoia V. IL/12 can target human lung adenocarcinoma cells and normal bronchial epithelial cells surrounding tumor lesions. *PLoS One* 2009;4:e6119;1-e6119;11.
4. Assin R, Baldi A, Citro G, Spugnini EP. Prostate as sole unusual recurrence site of lymphoma in a dog. *In Vivo* 2008;22(6):755-7.
5. Baldi A, Mottolese M, Vincenzi B, Campioni M, Mellone P, Di Marino M, di Crescenzo VG, Visca P, Menegozzo S, Spugnini EP, Citro G, Ceribelli A, Mirri A, Chien J, Shridhar V, Ehrmann M, Santini M, Facciolo F. The serine protease HtrA1 is a novel prognostic factor for human mesothelioma. *Pharmacogenomics* 2008;9(8):1069-77.
6. Berardi AC, Marsilio S, Rofani C, Salvucci O, Altavista P, Perla FM, Diomed-Camassei F, Uccini S, Kokai G, Landuzzi L, McDowell HP, Dominici C. Up-regulation of EphB and ephrin-B expression in rhabdomyosarcoma. *Anticancer Res* 2008;28:763-9.
7. Bertino P, Piccardi F, Porta C, Favoni R, Cilli M, Mutti L, Gaudino G. Imatinib mesylate enhances therapeutic effects of gemcitabine in human malignant mesothelioma xenografts. *Clin Cancer Res* 2008;14:541-548.
8. Biocca S, Filesì I, Mango R, Maggiore L, Baldini F, Vecchione L, Viola A, Citro G, Federici G, Romeo F, Novelli G. The splice variant LOXIN inhibits LOX-1 receptor function through hetero-oligomerization. *J Mol Cell Cardiol* 2008;44(3):561-70.
9. Bonizzi G, Cicalese A, Pasi CE, Faretta M, Ronzoni S, Giulini B, Brisken C, Minucci S, Di Fiore PP, Pelicci PG. The tumor suppressor p53 regulates polarity of self-renewing divisions in mammary stem cells. *Cell* 2009;138(6):1083-95.
10. Brignole C, Marimpietri D, Pastorino F, Di Paolo D, Pagnan G, Loi M, Piccardi F, Cilli M, Tradori Cappai A, Arrigoni G, Pistoia V, Ponzoni M. Anti IL/10R antibody improves the therapeutic efficacy of targeted liposomal oligonucleotides. *J Control Release* 2009;138:122-7.
11. Campioni M, Ambrogì V, Pompeo E, Citro G, Castelli M, Spugnini EP, Gatti A, Cardelli P, Lorenzon L, Baldi A, Mineo TC. Identification of genes down-regulated during lung cancer progression: a cDNA array study. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;15:27:38.
12. Carriero MV, Longanesi-Cattani I, Bifulco K, Maglio O, Lista L, Barbieri A, Votta G, Masucci MT, Arra C, Franco R, De Rosa M, Stoppelli MP, Pavone V. Structure-based design of an

- urokinase-type plasminogen activator receptor-derived peptide inhibiting cell migration and lung metastasis. *Mol Cancer Ther* 2009;8(9):2708-17.
13. Crispi S, Calogero RA, Santini M, Mellone P, Vincenzi B, Citro G, Vicidomini G, Fasano S, Meccariello R, Cobellis G, Menegozzo S, Pierantoni R, Facciolo F, Baldi A, Menegozzo M. Global gene expression profiling of human pleural mesotheliomas: identification of matrix metalloproteinase 14 (MMP-14) as potential tumour target. *PLoS One* 2009;4(9):e7016.
  14. De Luca A, De Falco M, Manente L, Dattilo D, Lucariello A, Esposito V, Gnarini M, Citro G, Baldi A, Tufano MA, Iaquinto G. Helicobacter pylori heat shock protein B (HspB) localizes *in vivo* in the gastric mucosa and MALT lymphoma. *J Cell Physiol* 2008;216(1):78-82.
  15. de Nigris F, Rossiello R, Schiano C, Arra C, Williams-Ignarro S, Barbieri A, Lanza A, Balestrieri A, Giuliano MT, L. Ignarro J, Napoli C. Deletion of YY1 in osteosarcoma cells on cell invasion and CXCR4/angiogenesis and metastasis. *Cancer Research* 2008;68(6):1797-808.
  16. Di Agostino S, Cortese G, Monti O, Dell'orso S, Sacchi A, Eisenstein M, Citro G, Strano S, Blandino G. The disruption of the protein complex mutantp53/p73 increases selectively the response of tumor cells to anticancer drugs. *Cell Cycle* 2008;16:7(21):3440-7.
  17. Ehlers S, Mueck T, Adams S, Landuzzi L, Lollini PL, Munz B. RIP2 regulates growth and differentiation of normal myoblasts and of rhabdomyosarcoma cells. *Eur J Cell Biol* 2008;87:163-72.
  18. Fedele M, Palmieri D, Chiappetta G, Pasquinelli R, De Martino I, Arra C, Palma G, Valentino T, Pierantoni GM, Viglietto G, Rothstein JL, Santoro M, Fusco A. Impairment of the p27kip1 function enhances thyroid carcinogenesis in TRK-T1 transgenic mice. *Endocr Relat Cancer* 2009;16(2):483-90.
  19. Fedeli M, Napolitano A, Wong MP, Marcais A, de Lalla C, Colucci F, Merckenschlager M, Dellabona P, Casorati G. Dicer-dependent microRNA pathway controls invariant NKT cell development. *J Immunol* 2009;183(4):2506-12.
  20. Felici A, Di Segni S, Milella M, Colantonio S, Sperduti I, Nuvoli B, Contestabile M, Sacconi A, Zaratti M, Citro G, Cognetti F. Pharmacokinetics of gemcitabine at fixed-dose rate infusion in patients with normal and impaired hepatic function. *Clin Pharmacokinet* 2009;48(2):131-41.
  21. Fenoglio C, Grosso A, Petrillo G, Boncompagni E, Aiello C, Cordazzo C, Spinelli D, Ognio E, Marigiò M, Cassano A, Viale M. A histochemical approach to the evaluation of the *in vivo* cytotoxicity of the nitrobutadienes (1E,3E)/1,4/bis(1/naphthyl)/2,3/dinitro/1,3/butadiene and methyl (2Z,4E)/2/methylsulfanyl/5/(1/naphthyl)/4/nitro/2,4/pentadiene in mice liver and kidney. *Anticancer Res* 2008;28:813-23.
  22. Franceschini V, Bettini S, Pifferi S, Rosellini A, Menini A, Saccardi R, Ognio E., Jeffery R., Poulosom R., Revoltella R. Human cord blood CD133+ stem cells transplanted to Nod Scid mice provide conditions for regeneration of olfactory neuroepithelium after permanent damage induced by dichlobenil. *Stem Cells* 2009;27:825-35.
  23. Ierano C, Giuliano P, D'Alterio C, Cioffi M, Mettievier V, Portella L, Napolitano M, Barbieri A, Arra C, Liguori G, Franco R, Palmieri G, Rozzo C, Pacelli R, Castello G, Scala S. A point mutation (G574A) in the chemokine receptor CXCR4 detected in human cancer cells enhances migration. *Cell Cycle* 2009;8(8):1228-37.
  24. Iama A, Viale M, Cilli M, Bruzzo C, Novelli F, Tasso B, Sparatore F. *In vitro* cytotoxic activity of tri/n-butyltin(IV)lupinylsulfide hydrogen fumarate (IST/FS 35) and preliminary antitumor activity *in vivo*. *Invest New Drugs* 2009;27:124-30.
  25. Lorenzon D, Mazzucato M, Abbruzzese L, Cilli M, De Angeli S, Degan M, Mambrini G, Piccardi F, Rupolo M, Michieli M, De Marco L, Gattei V, Astori G. Preclinical *ex vivo* expansion of peripheral blood CD34+ selected cells from cancer patients mobilized with combination chemotherapy and granulocyte colony stimulating factor. *Vox Sang* 2008;94:342-50.

26. Manente L, Perna A, Buommino E, Altucci L, Lucariello A, Citro G, Baldi A, Iaquinto G, Tufano MA, De Luca A. The *Helicobacter pylori*'s protein VacA has direct effects on the regulation of cell cycle and apoptosis in gastric epithelial cells. *J Cell Physiol* 2008;214(3):582-7.
27. Marra M, Giudice A, Arra C, Vitale G, Castiglioni S, Nasti G, Lombardi A, Ottaiano A, Facchini G, Iaffaioli RV, Abbruzzese A, Caraglia M. Target-based agents in neo-adjuvant treatment of liver metastases from colo-rectal cancer: Secret weapons in anti-cancer war? *Cancer Biol Ther* 2009;8:18.
28. Matis S-Mariani MR, Cutrona G, Cilli M, Piccardi F, Daga A, Damonte G, Millo E, Moroni M, Roncella S, Fedeli F, Boffa LC, Ferrarini M. PNAEmu can significantly reduce Burkitt's lymphoma tumor burden in a SCID mice model: cells dissemination similar to the human disease. *Cancer Gene Ther* 2009;16:786-793.
29. Miretti S, Roato I, Tauli R, Ponzetto C, Cilli M, Olivero M, Di Renzo M, Godio L, Albin A, Buracco P, Ferracini R. A mouse model of pulmonary metastasis from spontaneous osteosarcoma monitored *in vivo* by luciferase imaging. *PLoS One* 2008;3:e1828;1-e1828;8.
30. Molfino A, Muscaritoli M, Cascino A, Fanfarillo F, Fava A, Bertini G, Citro G, Rossi Fanelli F, Laviano A. Free tryptophan/large neutral amino acids ratios in blood plasma do not predict cerebral spinal fluid tryptophan concentrations in interleukin-1-induced anorexia. *Pharmacol Biochem Behav* 2008;89(1):31-5.
31. Nobbio L, Fiorese F, Vigo T, Cilli M, Gherardi G, Grandis M, Melcangi R, Mancardi G, Abbruzzese M, Schenone A. Impaired expression of ciliary neurotrophic factor in Charcot Marie Tooth type 1A neuropathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009;68:441-55.
32. Pagnan G, Di Paolo D, Carosio R, Pastorino F, Marimpietri D, Brignole C, Pezzolo A, Loi M, Galietta L, Piccardi F, Cilli M, Nico B, Ribatti D, Pistoia V, Ponzoni M. The combined therapeutic effects of bortezomib and fenretinide on neuroblastoma cells involve endoplasmic reticulum stress response. *Clin Cancer Res* 2009;15:1199-209.
33. Pantaleo MA, Nannini M, Maleddu A, Fanti S, Nanni C, Boschi S, Lodi F, Nicoletti G, Landuzzi L, Lollini PL, Biasco G. Experimental results and related clinical implications of PET detection of epidermal growth factor receptor (EGFr) in cancer. *Ann Oncol* 2009;20(2):213-26.
34. Pastorino F, Di Paolo D, Piccardi F, Nico B, Ribatti D, Daga A, Baio G, Neumaier C, Brignole C, Loi M, Marimpietri D, Pagnan G, Cilli M, Lepekhin E, Garde S, Longhi R, Corti A, Allen T, Wu J, Ponzoni M. Enhanced antitumor efficacy of clinical grade vasculature targeted liposomal doxorubicin. *Clin Cancer Res* 2008;14:7320-9.
35. Pellegatti P, Raffaghello L, Bianchi G, Piccardi F, Pistoia V, Di Virgilio F. Increased level of extracellular ATP at tumor sites: *in vivo* imaging with plasma membrane luciferase. *PLoS One* 2008;3:e2599;1-e2599;9.
36. Pietra G, Manzini C, Vitale M, Balsamo M, Ognio E, Boitano M, Queirolo P, Moretta L, Mingari MC. Natural killer cells kill human melanoma cells with characteristics of cancer stem cells. *Int Immunol* 2009;21:793-801.
37. Ponassi R, Biasotti B, Tomati V, Bruno S, Poggi A, Malacarne D, Cimoli G, Salis A, Pozzi S, Miglino M, Damonte G, Cozzini P, Spyraiki F, Campanini B, Bagnasco L, Castagnino N, Tortolina L, Mumot A, Frassoni F, Daga A, Cilli M, Piccardi F, Monfardini I, Perugini M, Zoppoli G, D'arrigo C, Pesenti R, Parodi S. A novel Bim/BH3 derived Bcl/X(L) inhibitor. Biochemical characterization, *in vitro*, *in vivo* and *ex vivo* anti leukemic activity. *Cell Cycle* 2008;7:3211-24.
38. Revoltella R, Papini S, Rosellini A, Michelini M, Franceschini V, Ciorba A, Bertolaso L, Magosso S, Hatzopoulos S, Lorito G, Giordano P, Simoni E, Ognio E, Cilli M, Saccardi R, Urbani S, Jeffery R, Poulosom R, Martini A. Cochlear repair by transplantation of human cord blood CD133+ cells to No Scid mice made deaf with kanamycin and noise. *Cell Transplant* 2008;17:665-78.
39. Romano S, D'Angelillo A, Pacelli R, Staibano S, De Luna E, Bisogni R, Eskelinen EL, Mascolo M, Cali G, Arra C, Romano MF. Role of FK506-binding protein 51 in the control of apoptosis of

- irradiated melanoma cells. *Cell Death Differ* 2010;17(1):145-57. 2009 Aug 21 (online prima della stampa). prima della stampa).
40. Ruocco LA, Di Pizzo A, Carnevale UA, Murolo M, Sadile AG, Arra C, Topo E, D'Aniello A, Curcio A, Melisi D, Rimoli MG. Excitatory amino acids in the forebrain of the Naples high-excitability rats: neurochemical and behavioural effects of subchronic D-aspartate and its diethyl ester prodrug. *Behav Brain Res* 2009;198(1):37-44.
  41. Ruocco LA, Gironi Carnevale UA, Sadile AG, Sica A, Arra C, Di Maio A, Topo E, D'Aniello A. Elevated forebrain excitatory L-glutamate, L-aspartate and D-aspartate in the Naples high-excitability rats. *Behav Brain Res* 2009;198(1):24-8.
  42. Ruocco LA, Gironi Carnevale UA, Sica A, Arra C, Topo E, Di Giovanni M, D'Aniello A, Sadile AG. Differential prepuberal handling modifies behaviour and excitatory amino acids in the forebrain of the Naples high-excitability rats. *Behav Brain Res* 2009;198(1):29-36.
  43. Spugnini EP, Campioni M, D'Avino A, Caruso G, Citro G, Baldi A. Cell-cycle molecules in mesothelioma: an overview. *J Exp Clin Cancer Res* 2007;26(4):443-9.
  44. Spugnini EP, Citro G, Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy in veterinary patients: a model for the planning of future therapies in humans. *J Exp Clin Cancer Res* 2009;28:114.
  45. Spugnini EP, Citro G, D'Avino A, Baldi A. Potential role of electrochemotherapy for the treatment of soft tissue sarcoma: first insights from preclinical studies in animals. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40(2):159.
  46. Spugnini EP, Citro G, Dotsinsky I, Mudrov N, Mellone P, Baldi A. Ganglioneuroblastoma in a cat: a rare neoplasm treated with electrochemotherapy. *Vet J* 2008;178(2):291-3.
  47. Spugnini EP, Crispi S, Scarabello A, Caruso G, Citro G, Baldi A. Piroxicam and intracavitary platinum-based chemotherapy for the treatment of advanced mesothelioma in pets: preliminary observations. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;27:6.
  48. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, Bufalini M, Giannini G, Citro G, Feroce F, Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy for incompletely excised anal sac carcinoma in a dog. *In Vivo* 2008;22(1):47-9.
  49. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, Caruso G, Cardelli P, Baldi A. Electrochemotherapy-induced radiation recall in a cat. *In Vivo* 2008;22(6):751-3.
  50. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, D'Avino A, Baldi A. Biphasic pulses enhance bleomycin efficacy in a spontaneous canine genital tumor model of chemoresistance: Sticker sarcoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;3;27(1):58.
  51. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, De Luca A, Codini C, Citro G, D'Avino A, Baldi A. Successful rescue of an apocrine gland carcinoma metastatic to the cervical lymph nodes by mitoxantrone coupled with trains of permeabilizing electrical pulses (electrochemotherapy). *In Vivo* 2008;22(1):51-3.
  52. Spugnini EP, Filipponi M, Romani L, Dotsinsky I, Mudrov N, Baroni A, Ruocco E, Laieta MT, Montesarchio V, Cassandro R, Citro G, Baldi A. Local control and distant metastasis after electrochemotherapy of a canine anal melanoma. *In Vivo* 2007;21(5):897-9.
  53. Spugnini EP, Gargiulo M, Assin R, D'Avino A, Mellone P, Citro G, Cardelli P, Baldi A. Adjuvant carboplatin for the treatment of intestinal carcinoid in a dog. *In Vivo* 2008;22(6):759-61.
  54. Spugnini EP, Pagotto A, Zazzera F, D'Avino A, Caruso G, Citro G, Baldi A. Cutaneous T-cell lymphoma in an African hedgehog (*Atelerix albiventris*). *In Vivo* 2008;22(1):43-5.
  55. Spugnini EP, Vincenzi B, Betti G, Cordahi F, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, Baldi A. Surgery and electrochemotherapy of a high-grade soft tissue sarcoma in a dog. *Vet Rec* 2008;162(6):186-8.
  56. Spugnini EP, Vincenzi B, Caruso G, Baldi A, Citro G, Santini D, Tonini G. Zoledronic acid for the treatment of appendicular osteosarcoma in a dog. *J Small Anim Pract* 2009;50(1):44-6.

57. Spugnini EP, Vincenzi B, Citro G, Tonini G, Dotsinsky I, Mudrov N, Baldi A. Electrochemotherapy for the treatment of squamous cell carcinoma in cats: a preliminary report. *Vet J* 2009;179(1):117-20.
58. Tonti E, Galli G, Malzone C, Abrignani S, Casorati G, Dellabona P. NKT cell help to B lymphocytes can occur independently of cognate interaction. *Blood* 2009;113(2):370-6.
59. Turco MC, Lamberti A, Bisogni R, Romano MF, Petrella A, Ammirante M, Rosati A, Davenia M, Arra C, Spugnini E, Bonelli P, Venuta S. Modulation of cell apoptosis by AIR. *Leukemia* 2008;22(1):229.