

RICERCA SPERIMENTALE

Marina Ceccarini, Claudio Frank, Armando Magrelli, Simona Coppola, Marcello Belfiore, Marco Salvatore, Giovanna Floridia, Claudio Carta, Domenica Taruscio.

Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore di Sanità

L'attività di ricerca svolta all'interno del Centro Nazionale Malattie Rare è mirata alla comprensione dei meccanismi molecolari che sottendono ad alcune patologie rare attraverso l'utilizzo di tecnologie avanzate, all'identificazione di specifici marcatori biologici e all'individuazione di nuovi target terapeutici (Taruscio, 2014).

La caratterizzazione di marcatori nuovi e/o più efficaci, attraverso lo sviluppo di nuovi approcci sperimentali che si avvalgono di tecniche innovative e ad alto profilo tecnologico, è di prioritaria importanza nelle malattie rare per arrivare a una diagnosi rapida che consenta di avviare il miglior trattamento terapeutico oggi disponibile. Tuttora, infatti, circa il 30% delle malattie rare manca di una diagnosi certa. In questo contesto, gli studi condotti da ricercatori del Centro Nazionale Malattie Rare hanno individuato una classe emergente di molecole biologiche implicate nel controllo dell'espressione genica, i microRNA, come ottimi biomarcatori (Salvatore, 2011; Taruscio, 2012).

In particolare, con la collaborazione di clinici e gruppi universitari, sono oggetto di studio diverse patologie rare:

– *Epatoblastoma*

Lo studio, condotto dal 2006, è il risultato della collaborazione con l'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù (Roma) e l'ospedale Le Molinette (Torino), che hanno fornito i campioni biologici (biopsie tissutali e sieri). Allo studio ha partecipato anche il Prof. Arthur Zimmermann (membro del gruppo internazionale per lo studio delle patologie tumorali epatiche nei bambini, SIOPEL). Partendo dai risultati delle analisi dei tessuti, sono studiati i livelli di espressione dei microRNA in siero di pazienti per identificare, in maniera non invasiva, biomarcatori utili nella diagnosi precoce della patologia in esame. Le analisi condotte dimostrano un ruolo significativo del microRNA 483 nei soggetti affetti (Magrelli, 2009). Il progetto (Responsabile Scientifico: Dr. Marco Salvatore) è stato finanziato nell'ambito del Programma di Collaborazione Italia-USA (scaduto il 30/06/2014).

– *Labiopalatoschisi*

Lo studio condotto su un campione significativo di pazienti affetti da labiopalatoschisi ha mostrato la presenza di varianti polimorfiche nella sequenza codificante il miR-140, differenzialmente rappresentate nei pazienti rispetto ai controlli. Uno studio di Genome Wide Association (GWA) è stato condotto allo scopo di monitorare la frequenza delle varianti polimorfiche nella popolazione di controllo. Lo studio è condotto in collaborazione con il Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia e quello di Medicina Sperimentale dell'Università "Sapienza" di Roma, e il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Diagnostica dell'Università di Ferrara.

– *Osteocondroma multiplo*

Lo studio è condotto in collaborazione con il Dr. Luca Sangiorgi, Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna, nell'ambito di un progetto finanziato dal Ministero della Salute, Bando

Malattie Rare (RF-IOR-2008-1257671), all'interno del quale il Dr. Magrelli è responsabile scientifico di una Unità Operativa. In un campione di pazienti affetti da osteocondromi multipli è stata messa in evidenza un'alterata espressione di alcuni microRNA rispetto a un normale tessuto cartilagineo.

L'impiego di una piattaforma di microarray per microRNA ha consentito di identificare due profili di espressione principali: il primo caratteristico della cartilagine articolare, e il secondo caratteristico della cartilagine in accrescimento (Zuntini, 2010). Alcuni dei microRNA in grado di discriminare le due classi sono stati selezionati e validati per la loro capacità discriminatoria in una casistica più ampia di pazienti mediante analisi per PCR quantitativa. I risultati di questo studio indicano che l'espressione di alcuni microRNA (miR-21, miR-140, miR-145, miR-199a, miR-451, miR-483) è alterata in un campione di pazienti affetti da osteocondromi multipli rispetto al normale tessuto cartilagineo. I microRNA isolati si sono dimostrati essere utili a discriminare i pazienti affetti da osteocondromi multipli dai controlli.

– *Malattia di Hailey-Hailey*

La malattia di Hailey-Hailey è una rara patologia dermatologica a trasmissione ereditaria, con modalità autosomica dominante, causata da un difetto di coesione delle cellule sovrabasali dell'epidermide (Magrelli, 2009). Il difetto genico alla base della patologia è stato identificato nel gene ATP2C1, coinvolto nei meccanismi di regolazione del trasporto del calcio all'interno della cellula. Gli studi condotti nel Centro Nazionale Malattie Rare hanno messo in evidenza che, in colture primarie, cheratinociti ottenuti da pazienti mostrano una ridotta capacità proliferativa e di differenziamento rispetto a cheratinociti ottenuti da soggetti sani. Questo dato è stato messo in relazione ad un aumentata produzione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) quando queste cellule sono sottoposte a stress ossidativo (Cialfi, 2009). Queste nuove evidenze hanno condotto all'ipotesi che uno squilibrio del sistema ossidante-antiossidante del cheratinocita può avere un ruolo fondamentale nella patogenesi della patologia di Haley-Haley (Manca, 2011).

– *Sindrome di Sézary*

Su un campione di pazienti affetti da sindrome di Sézary, un raro linfoma cutaneo a cellule T, è stato effettuato uno studio di single nucleotide polymorphism (SNPs) e comparative genomic hybridization array (CGH-array). I risultati ottenuti sono in accordo con quanto descritto in letteratura in merito a perdite di regioni cromosomiche ricorrenti (17p13.2-p11.2 e 10p12.1-q26.3 nel 71% e nel 68% dei casi, rispettivamente) e di acquisizioni di regioni cromosomiche in corrispondenza dei cromosomi 17p11.2-q25.3 (64%) e 8/8q (50%). Sono state identificate nuove lesioni genomiche (perdita di 9q13-q21.33 e acquisizione di 10p15.3-10p12.2) che ricorrono in più del 30% dei casi (Caprini, 2009). Sono stati inoltre identificati un totale di 113 trascritti deregolati in corrispondenza delle regioni cromosomiche aberranti e fra questi alcuni geni (BAG4, BTRC, NKIRAS2, PSMD3, and TRAF2) coinvolti nel pathway di NF-kb che potrebbero spiegare la sua attivazione costitutiva nella sindrome di Sézary.

– *Distrofia muscolare di Duchenne*

Molte malattie rare presentano, associate a sintomatologie più specifiche, deficit cognitivi e neurologici. L'attività di ricerca all'interno del CNMR si è pertanto focalizzata sul coinvolgimento del sistema nervoso in malattie rare quali, nello specifico, la distrofia muscolare di Duchenne. Mutazioni della distrofina causano la distrofia muscolare ma colpiscono anche il sistema nervoso centrale, ivi compreso il processamento

dell'informazione visiva nella retina. In particolare, sono in corso studi sul ruolo del complesso di proteine associate alla distrofina e dei loro partner di interazione nel sistema nervoso, volti a comprendere i meccanismi molecolari alla base dei deficit cognitivi che si manifestano in questa patologia (Artegiani, 2010; Fratini, 2012). Fra i partner di interazione di una delle proteine del complesso, la distrobrevina, particolare interesse riveste una proteina, la disbindina, identificata recentemente come il prodotto di uno dei putativi geni di suscettibilità alla schizofrenia.

– *Sindrome di Hermansky-Pudlak*

Mutazioni nel gene della disbindina sono alla base di una malattia rara, la sindrome di Hermansky-Pudlak, che si manifesta con un'alterata biogenesi di organelli simili ai lisosomi. I risultati ottenuti nel CNMR dimostrano che la disbindina è espressa nella retina a livello degli endfeet astrocitari della glia di Müller. La localizzazione della disbindina in domini specializzati di membrana funzionalmente importanti per la presenza di canali per l'acqua (AQP4) e per il potassio (Kir4.1) suggerisce un suo possibile coinvolgimento in quegli stati patologici in cui la perdita di polarità di membrana determina un'omeostasi alterata (Matteucci, 2013).

– *Malattia di Niemann-Pick di tipo C*

Nell'ambito delle malattie rare con un coinvolgimento neurologico, nel CNMR negli ultimi anni sono stati condotti studi sulla malattia di Niemann-Pick di tipo C, utilizzando diversi approcci sperimentali, volti ad identificare i meccanismi che sottendono alla comunicazione interneurale coinvolti nella disregolazione dei rafts lipidici, in collaborazione con il Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze dell'ISS (Dr.ssa Merlo) e il Dipartimento di Medicina dei Sistemi dell'Università di Tor Vergata (Dr.ssa D'Arcangelo), Progetto di Ricerca Italia - USA: Bando Malattie Rare 2008 Ministero della Salute - Direzione Generale della Ricerca Scientifica e Tecnologica: Mechanisms of neuronal death in Niemann-Pick C disease: from molecules to clinic). L'applicazione di tecniche fluorimetriche per la misura del contenuto intracellulare di calcio e di potassio in colture cellulari di ippocampo di roditore ha consentito di valutare su singoli neuroni l'implicazione di specifici sistemi recettoriali coinvolti nelle alterazioni lipidiche delle membrane citoplasmatiche (Rufini, 2009). Gli studi elettrofisiologici su fettine di strutture del sistema limbico hanno fornito informazioni sulle alterazioni della trasmissione sinaptica e della plasticità sinaptica attraverso la registrazione di potenziali di campo in extracellulare. Sono state inoltre valutate modificazioni di rilascio a livello presinaptico di glutammato, il principale neurotrasmettitore eccitatorio presente in queste strutture, utilizzando tecniche di stimolazione quali la paired pulse facilitation e la paired pulse inhibition. I risultati ottenuti attraverso questi studi, oltre a contribuire a chiarire il ruolo della alterata regolazione dei rafts lipidici nell'insorgenza dei sintomi neurologici della malattia di Niemann-Pick di tipo C e a fornire informazioni sullo specifico coinvolgimento dei sistemi recettoriali, suggeriscono come i microdomini lipidici possano costituire un bersaglio nel trattamento della malattia, aprendo così il campo a nuove strategie farmacologiche terapeutiche sia nelle patologie neurodegenerative che in quelle dislipidemiche (D'Arcangelo, 2011).

Attualmente è in corso un progetto in collaborazione con il Centro di Coordinamento Regionale per le Malattie Rare, Udine (Dr. Bembi) (Progetto Ricerca Finalizzata 2009: Role of protein misfolding in the pathogenesis of Niemann-Pick C disease: a possible therapeutic target. Group leader Unit ISS: Dr. Frank) che utilizza un modello sperimentale basato su cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) provenienti da pazienti sani e da malati Niemann-Pick di tipo C. Queste cellule vengono differenziate

sulla linea neuronale, e gli studi in corso presso il CNMR sono volti a verificare funzionalmente l'attività di tali cellule. Se questa ricerca darà risultati positivi, sarà possibile utilizzare in un immediato futuro queste cellule per applicare la medicina personalizzata (personalized medicine), cioè realizzare delle terapie specifiche per il singolo paziente, dopo aver verificato in vitro il farmaco a cui esso è più sensibile.

La patogenesi della Malattia di Niemann-Pick presenta delle analogie con la malattia di Alzheimer. In collaborazione con il Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze dell'ISS (Dott.ssa Malchiodi) e il Dipartimento di Tecnologie e Salute (Dr. Diociaiuti) sono stati condotti degli studi sulle Taupatie, valutando in particolare la neurotossicità degli aggregati amiloidi attraverso l'esposizione di cellule nervose di roditori ad oligomeri (Malchiodi-Albedi 2010, 2011; Diociaiuti, 2014).

– *Osteoblastoma*

In collaborazione con la U.O.C. di Ortopedia e Traumatologia, Dipartimento di Chirurgia (Prof. Tarantino) e il Dipartimento di Medicina dei Sistemi dell'Università di Tor Vergata (Prof.ssa Tancredi, Dr.ssa D'Arcangelo) è in corso una ricerca sull'osteoblastoma, per lo studio dei meccanismi di comunicazione intercellulare di cellule di linea tumorali, valutando il ruolo del calcio e dei recettori purinergici.

– *Tumori delle ghiandole salivari*

Nell'ambito delle neoplasie rare sono stati condotti studi di genetica molecolare sui tumori delle ghiandole salivari (TGS) in collaborazione con l'Università di Bologna (Prof.ssa Maria Pia Foschini). I TGS sono piuttosto rari e rappresentano meno dell'1% di tutti i tumori umani. Secondo le stime più recenti, in Italia è diagnosticato ogni anno un nuovo caso di tumore delle ghiandole salivari negli uomini ogni 100.000 abitanti e meno di uno (0,7) ogni 100.000 abitanti nelle donne. (<http://www.airc.it/tumori/tumore-ghiandole-salivari.asp>). Studi di genetica molecolare, su due campioni paraffinati di carcinoma adenoido-cistico high-grade e un campione paraffinato di tumore ibrido, sono stati eseguiti al fine di identificare alterazioni genetiche nei geni TP53, CDKN2A/ARF, RAS, BRAF, PTEN, MAPK2 and EGFR. Dai nostri dati è emerso che il pathway CDKN2A/ARF potrebbe essere coinvolto nella patogenesi dei TSG analizzati (Falbo, 2011). Inoltre l'analisi di otto casi di TGS con differenti istotipi ha evidenziato la presenza di DNA da *Streptococcus suis* nel DNA di tessuto proveniente da quattro pazienti, suggerendo un possibile ruolo di tale patogeno nell'eziopatogenesi dei TGS (Falbo, 2011).

– *Forme rare di emocromatosi ereditaria*

Tra le malattie rare di cui si sono occupati i ricercatori del CNMR vi sono le forme più rare di emocromatosi ereditaria. L'emocromatosi ereditaria è una malattia genetica eterogenea caratterizzata da un progressivo accumulo di ferro. In particolare tra le forme rare è stata presa maggiormente in considerazione la forma giovanile che, sebbene condivide numerose caratteristiche con le forme meno gravi presenti nell'adulto, mostra un sovraccarico di ferro che si manifesta molto precocemente e conseguentemente determina problematiche cardiache che se non trattate sono tra le principali cause di morte.

All'interno dell'Istituto Superiore di Sanità il tema delle malattie rare è presente nei progetti di diversi gruppi di ricerca, anche al di fuori del Centro Nazionale Malattie Rare. Nel corso degli anni si sono stabilite molte fruttuose collaborazioni fra ricercatori del CNMR e colleghi dell'ISS.

Per fare alcuni esempi, in collaborazione con colleghi del Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze (Dr. Ambrosini) sono condotti studi di espressione genica attraverso microarray nella leucoencefalopatia megalencefalica con cisti subcorticali (MLC) in cellule di glioblastoma over-esprimenti la proteina MLC1 wild type e mutata. Il progetto prevede l'utilizzo di modelli sperimentali basati su cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) da pazienti (personalized medicine). Inoltre, in collaborazione con l'Ospedale Bambino Gesù di Roma (Dr. Bertini, Dr.ssa Petrini), sulla stessa patologia, è stato svolto uno studio per identificare a fini diagnostici biomarker nei monociti e macrofagi (Petrini, 2013). Recentemente è iniziata una collaborazione con colleghi del Dipartimento AMPP (Dr. Mazzei), sulla DNA glicosilasi MUTYH, un enzima coinvolto nel riparo del danno ossidativo al DNA. Mutazioni bialleliche sul gene MUTYH determinano una predisposizione familiare al cancro colon-retto (MUTYH-associated polyposis, MAP). In collaborazione con colleghi del Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare (Dr. Tartaglia), sono in corso studi di genetica funzionale sul ruolo di proteine mutate nella sindrome Noonan simile con capelli caduci in fase anagen, in un fenotipo sindromico legato al cromosoma X e nella sindrome di Myhre (Magini, 2014). Le mutazioni genetiche causative della malattia rara producono delle profonde alterazioni cellulari che si ripercuotono sulla funzionalità dei tessuti e dell'organismo in toto. Allo scopo di rivelare i meccanismi alla base dei sintomi clinici e potenzialmente implementare il follow-up clinico del paziente, vengono analizzate attraverso saggi biochimici e biomolecolari su colture cellulari del paziente affetto le alterazioni funzionali del gene malattia.

Bibliografia

- Artegianni B, Labbaye C, Sferra A, Quaranta MT, Torreri P, Macchia G, Ceccarini M, Petrucci T C, and Madioce P. The interaction with HMG20A/B proteins suggests a potential role for β -dystrobrevin in neuronal differentiation. *J Biol Chem* 2010 Aug 6;285(32):24740-50.
- Caprini E, Cristofolletti C, Arcelli D, Fadda P, Citterich MH, Sampogna F, Magrelli A, Censi F, Torreri P, Frontani M, Scala E, Picchio MC, Temperani P, Monopoli A, Lombardo GA, Taruscio D, Narducci MG, Russo G. Identification of key regions and genes important in the pathogenesis of Sezary syndrome by combining genomic and expression microarrays. *Cancer Res* 2009 Nov 1;69(21):8438-46.
- Cialfi S, Oliviero C, Ceccarelli S, Marchese C, Barbieri L, Biolcati G, Uccelletti D, Palleschi C, Barboni L, De Bernardo C, Grammatico P, Magrelli A, Salvatore M, Taruscio D, Frati L, Gulino A, Screpanti I, Talora C. Complex multipathways alterations and oxidative stress are associated with Hailey-Hailey disease. *Br J Dermatol* 2010 Mar; 162(3):518-26. doi: 10.1111/j.1365-2133.2009.09500.x. Epub 2009 Nov 9.
- D'Arcangelo G, Grossi D, De Chiara G, de Stefano MC, Cortese G, Citro G, Rufini S, Tancredi V, Merlo D, Frank C, Glutamatergic neurotransmission in a mouse model of Niemann-Pick Type C Disease. *Brain Res* 2011 Jun 17;1396:11-9. Epub 2011 Apr 19.
- Di Certo MG, Corbi N, Strimpakos G, Onori A, Luvisetto S, Severini C, Guglielmotti A, Batassa EM, Pisani C, Floridi A, Benassi B, Fanciulli M, Magrelli A, Mattei E, Passananti C. The artificial gene Jazz, a transcriptional regulator of utrophin, corrects the dystrophic pathology in mdx mice. *Hum Mol Genet* 2010 Mar 1;19(5):752-60. Epub 2009 Dec 4.
- Diociaiuti M, Macchia G, Paradisi S, Frank C, Camerini S, Chistolini P, Gaudiano MC, Petrucci TC, Malchiodi-Albedi F. Native metastable prefibrillar oligomers are the most neurotoxic species among amyloid aggregates. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Sep;1842(9):1622-9. Epub 2014 Jun 14.
- Falbo V*, Floridia G*, Censi F, Marra M, Foschini MP, Taruscio D. Three cases of rare salivary gland tumours: a molecular study of TP53, CDKN2A/ARF, RAS, BRAF, PTEN, MAPK2 and EGFR genes. *Oncol Rep* 2011 Jul;26(1):3-11. doi: 10.3892/or.2011.1263. Epub 2011 Apr 14.

- Falbo V, Marra M, Censi F, Neri F, Foschini MP, Florida G, Taruscio D. Streptococcus suis: a potential risk factor for salivary gland tumors. *Int J Biol Markers* 2011 Oct-Dec;26(4):278-80. doi: 10.5301/JBM.2011.8882.
- Fratini F, Macchia G, Torreri P, Matteucci A, Salzano AM, Crescenzi M, Macioce P, Petrucci TC, and Ceccarini M. Phosphorylation on threonine 11 of α -dystrobrevin alters its interaction with kinesin heavy chain. *FEBS J* 2012 Nov; 279 (22): 4131-44. doi:10.1111/febs.12006.
- Magini P, Pippucci T, Tsai IC, Coppola S, Stellacci E, Bartoletti-Stella A, Turchetti D, Graziano C, Cenacchi G, Neri I, Cordelli DM, Marchiani V, Bergamaschi R, Gasparre G, Neri G, Mazzanti L, Patrizi A, Franzoni E, Romeo G, Bordo D, Tartaglia M, Katsanis N, Seri M. A mutation in PAK3 with a dual molecular effect deregulates the RAS/MAPK pathway and drives an X-linked syndromic phenotype. *Hum Mol Genet* 2014 Jul 1;23(13):3607-17.
- Magrelli A*, Azzalin G*, Salvatore M*, Viganotti M, Tosto F, Colombo T, Devito R, Di Masi A, Antoccia A, Lorenzetti S, Maranghi F, Mantovani A, Tanzarella C, Macino G, Taruscio D. Altered microRNA expression patterns in hepatoblastoma patients. *Transl Oncol* 2009 Aug 18; 2(3):157-63. *equally contributed
- Magrelli A, Salvatore M, Taruscio D. La malattia di Hailey-Hailey. *Suppl. Notiziario ISS* 2009;22(10):8-10
- Malchiodi-Albedi F, Contruscieri V, Raggi C, Fecchi K, Rainaldi G, Paradisi S, Matteucci A, Santini MT, Sargiacomo M, Frank C, Gaudiano MC, Diociaiuti M. Lipid raft disruption protects mature neurons against amyloid oligomer toxicity. *Biochim Biophys Acta* 2010 Apr;1802(4):406-415. Epub 2010 Jan 12.
- Malchiodi-Albedi F, Paradisi S, Matteucci A, Frank C, and Diociaiuti M. Amyloid Oligomer Neurotoxicity, Calcium Dysregulation, and Lipid Rafts SAGE-Hindawi Access to Research International Journal of Alzheimer's Disease, Volume 2011, Feb 8, Article ID 906964, 17 pages
- Manca S, Magrelli A, Cialfi S, Lefort K, Ambra R, Alimandi M, Biolcati G, Uccelletti D, Palleschi C, Screpanti I, Candi E, Melino G, Salvatore M, Taruscio D, Talora C. Oxidative stress activation of miR-125b is part of the molecular switch for Hailey-Hailey disease manifestation. *Exp Dermatol* 2011 Nov;20(11):932-7. doi: 10.1111/j.1600-0625.2011.01359.x. Epub 2011 Sep 14.
- Matteucci A, Gaddini L, Macchia G, Varano M., Petrucci TC, Macioce P, Malchiodi-Albedi F, and Ceccarini M. Developmental expression of dysbindin in Müller cells of rat retina. *Exp Eye Res* 2013 Nov; 116: 1-8.
- Petrini S, Minnone G, Coccetti M, Frank C, Aiello C, Cutarelli A, Ambrosini E, Lanciotti A, Brignone MS, D'Oria V, Strippoli R, De Benedetti F, Bertini E, Bracci-Laudiero L. Monocytes and macrophages as biomarkers for the diagnosis of megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. *Molecular and Cellular Neuroscience* 56 (2013) 307–321.
- Rufini S, Grossi D, Luly P, Tancredi V, Frank C, D'Arcangelo G. Cholesterol depletion inhibits electrophysiological changes induced by anoxia in CA1 region of rat hippocampal slices. *Brain Res*. 2009 Nov 17;1298:178-85.
- Salvatore M, Magrelli A, Taruscio D. The Role of microRNAs in the Biology of Rare Diseases. *Int J Mol Sci* 2011;12(10):6733-42. Epub 2011 Oct 11.
- Taruscio D, Salvatore M, Magrelli A, and Tomanin R. Predictive medicine and biomarkers: the case of rare diseases. *Personalized Medicine* 2012; 9(2), 143-146.
- Taruscio D, Agresta L, Amato A, Bernardo G, Bernardo L, Braguti F, Carbone P, Carta C, Ceccarini M, Censi F, Coppola S, Crialesi P, De Santis M, Diemoz S, Donati C, Gainotti S, Ferrari G, Florida G, Frank C, Frazzica RG, Gentile AE, Granata O, Kodra Y, Latrofa M, Laricchiuta P, Magrelli A, Morciano C, Polizzi A, Razeto S, Salvatore M, Sanseverino A, Savini D, Torreri P, Tosto F, Villani F, Vincenti G, Vittozzi L. The Italian National Centre for Rare Diseases: where research and public health translate into action. *Blood Transfus* 2014 Apr;12 Suppl 3:s591-605. doi: 10.2450/2014.0040-14s.

Zuntini M, Salvatore M, Pedrini E, Parra A, Sgariglia F, Magrelli A, Taruscio D, and Sangiorgi L. MicroRNA profiling of multiple osteochondromas: identification of disease-specific and normal cartilage signatures. *Clin Genet* 2010 Dec;78(6):507-16. doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01490.x.