



SEASON ONE
18 Marzo 2021

Il RAD21 knock-in mouse: un modello di neuropatia enterica

Giulia Lattanzio¹, Francesca Bianco², Maurizio Mazzoni¹, Laura Calzà³, Luciana Giardino³, Luca Lorenzini³,
Catia Sternini C⁴, Roberto De Giorgio⁵, Paolo Clavenzani¹, Elena Bonora²

¹ DIMEVET – Servizio di Anatomia e Fisiologia

² Department of Medical and Surgical Sciences (DIMEC)

³ IRET Foundation, Ozzano Emilia, Italy

⁴ UCLA/DDRC, Division of Digestive Diseases, Departments Medicine and Neurobiology, David Geffen School of Medicine, UCLA, Los Angeles, USA

⁵ Department of Translational Medicine, University of Ferrara, Ferrara, Italy

Background - RAD21 è una proteina appartenente alla famiglia del double-strand-break DNA repair coinvolta nel processo di coesione dei cromatidi fratelli che gioca un ruolo fondamentale nella fase di riparazione del DNA. RAD21 è determinante anche in diverse funzioni cellulari, inclusa la regolazione trascrizionale [1]. Studi del nostro gruppo hanno identificato una nuova mutazione missenso in RAD21 (Ala626Thr) in una famiglia di consanguinei di origine turca, correlata ad una grave forma di alterazione della motilità intestinale, ossia la pseudo-ostruzione intestinale cronica (CIPO) [2]. Nel sistema nervoso enterico di topo l'immunoreattività per RAD21 (RAD21-IR) è stata osservata in un sottogruppo di neuroni mienterici [3].

Scopo del lavoro - Al fine di valutare in che modo la mutazione in RAD21 possa essere correlata alla disfunzione intestinale motoria gastrointestinale (GI), questo studio è volto ad una caratterizzazione quantitativa e qualitativa dei neuroni mienterici nel tratto intestinale (colon) del modello conditional knock-in Rad21 (Rad21KI) (ossia topi nel cui genoma è stata inserita la mutazione Ala626Thr) rispetto ai controlli (topi wild type, WT).

Materiali e metodi - Dopo sacrificio, topi Rad21KI e WT sono stati processati per preparazioni whole mount del plesso mienterico per eseguite analisi immunostochimiche utilizzando un marker pan-neuronale HuC/D, la colina-acetiltransferasi (ChAT) (marker colinergico per i motoneuroni eccitatori) e l'ossido nitrico sintasi neuronale (nNOS) (marker specifico nitrergico per i motoneuroni inibitori).

Risultati e conclusioni - Rispetto al WT, l'analisi neuronale quantitativa ha dimostrato una riduzione di circa il 30% dei neuroni mienterici HuC/D-IR nel colon di topi Rad21KI. In parallelo, si è osservata una riduzione di sottogruppi distinti di neuroni mienterici: infatti, nei topi Rad21KI i neuroni del colon per campo (high power field, HPF) HuC/D/ChAT-IR e HuC/D/nNOS-IR sono 45.1 ± 4.3 e 14.1 ± 1.4 , rispettivamente; nel colon di topo WT HuC/D/ChAT-IR e HuC/D/nNOS-IR sono 43.7 ± 3.5 e 30.8 ± 5.4 , rispettivamente. Tali dati sono in linea con il fenotipo CIPO neuropatico osservato nei pazienti. I nostri risultati, pur preliminari, mostrano una riduzione dei neuroni mienterici eccitatori ed inibitori nei topi Rad21KI, suggerendo così un ruolo significativo esercitato dalla mutazione genica nel mantenimento e sopravvivenza neuronale enterica. Da ciò ne deriva una influenza sulle alterazioni della coordinazione motoria GI che, come noto, sono direttamente connesse all'integrità del sistema nervoso enterico. Ulteriori studi attualmente in corso nel nostro gruppo di ricerca saranno volti a stabilire

i meccanismi neuropatici che si possono attuare nel modello Rad21KI e quindi a comprendere quanto accade nelle patologie GI dell'uomo.

Bibliografia

- [1] Xu H, Yan M, Patra J, et al. Enhanced RAD21 cohesin expression confers poor prognosis and resistance to chemotherapy in high grade luminal, basal and HER2 breast cancers. *Breast Cancer Res.* 21:13 ; 2011
- [2] Guacci V Sister chromatid cohesion: the cohesin cleavage model does not ring true. *Genes Cells.* 12:693–708; 2007
- [3] Bonora E, Bianco F, Cordeddu L, et al. Mutations in RAD21 disrupt regulation of APOB in patients with chronic intestinal pseudo-obstruction. *Gastroenterology.* 148:771–782; 2015.
- [4] Bianco F, Gibbons SJ, Bonora E, et al. Distribution of RAD21 immunoreactivity in mouse and human gut neurons. *Neurogastroenterol Motil.* Volume 29, Issue S2, page 30.
- [5] Bianco F, Eisenman ST, Colmenares Aguilar MG, Bonora E, Clavenzani P, Linden DR, De Giorgio R, Farrugia G, Gibbons SJ. Expression of RAD21 immunoreactivity in myenteric neurons of the human and mouse small intestine. *Neurogastroenterol Motil.* 30(9):e13429; 2018.

▪ La **casata** di appartenenza

[] One Health

[] Blue Growth

[X] Fundamental Sciences

[] Clinical Sciences

[] Animal Production

▪ La **tipologia** del proprio progetto

[X] Individual Research

[] Team Work

[] Travelling Scientists