

CURRICULUM DELL'ATTIVITA' DIDATTICA E SCIENTIFICA DI VERONICA CECCARELLI

DATI ANAGRAFICI

*Nata
Residente
Nazionalità*

FORMAZIONE

- **Maturità Scientifica** conseguita il 25 Agosto 1992, presso il Liceo Scientifico "G.Alessi" di Perugia con la votazione di 60/60.
- **Laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche** conseguita il 16 Luglio 1999, presso l'Università degli Studi di Perugia con votazione finale di 110/110 e lode discutendo una tesi dal titolo: "Presentazione in vivo di un peptide tumorale: rapporto funzionale tra citochine e cellule dendritiche". Il lavoro di tesi è stato svolto presso il Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Sezione di Farmacologia sotto la guida della Prof.ssa Maria Cristina Fioretti.
- **Vincitrice del Premio di Laurea "Alessio Trippolini"** per la Biologia Molecolare conseguito il 13 Dicembre 1999 per la tesi di laurea " Presentazione in vivo di un peptide tumorale: rapporto funzionale tra citochine e cellule dendritiche".
- **Abilitazione alla professione di Farmacista** conseguita nella prima sessione del 2000 presso l'Università degli Studi di Perugia.
- **Dottore di Ricerca in Scienze Biochimiche** conseguito il 31 Gennaio 2005 (XVI ciclo) presso il Dipartimento di Medicina Interna, Sezione di Biochimica dell'Università degli Studi di Perugia, discutendo una tesi dal titolo: "Ruolo degli acidi grassi poliinsaturi della dieta come modulatori dell' espressione genica".
- **INVITED SPEAKER** al 45rd International Conference on the Biosciences of Lipids, (May 25-29 2004, Ioannina - Greece) presentando una comunicazione orale dal titolo "*A potential role of α -linolenic acid in hepatoma cell proliferation and differentiation*".

INCARICHI LAVORATIVI

- Dall' **1 Febbraio 2000** al **31 Dicembre 2000** è stata titolare di un contratto per prestazione di lavoro autonomo, coordinato e continuativo senza vincolo di subordinazione, per collaborazione all'attività didattica teorico-pratica e tutoriale, presso il Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia sede di Terni per un impegno complessivo pari a 250 ore da svolgere nell'A.A. 1999/2000.
- Dal **3 Novembre 2000** al **29 Ottobre 2004**, essendo risultata vincitrice del concorso per l'ammissione al Dottorato di Ricerca in Scienze Biochimiche, ha svolto la sua attività di dottoranda per l'intera durata del corso presso l'Istituto di Biochimica della Facoltà di Medicina e Chirurgia, sede Perugia.
- Dal **15 Novembre 2005** al **14 Novembre 2009** è stata titolare di un assegno per la collaborazione ad attività di ricerca con rinnovo annuale presso la sezione di Biochimica del Dipartimento di Medicina Interna (Area Scientifico-Disciplinare 05- Scienze Biologiche) dell'Università degli Studi di Perugia per il progetto dal titolo: "Ruolo dei PUFA nei processi di differenziamento e proliferazione cellulare".
- Dal **2 Maggio 2011** al **30 Aprile 2012** è stata titolare di un assegno di ricerca finalizzato al potenziamento dell'attività di ricerca e di trasferimento tecnologico nelle imprese, nelle università, nelle agenzie di ricerca pubbliche e private, nei centri di ricerca pubblici e privati e nei poli d'innovazione" della Regione Umbria (POR UMBRIA FSE 2007-2013) per la realizzazione del progetto di ricerca: "Acidi grassi poliinsaturi omega-3 e carcinogenesi".
- Dal **3 Giugno 2013** al **30 Novembre 2014** è stata titolare di un aiuto individuale per la realizzazione di progetti di ricerca finalizzato al potenziamento dell'attività di ricerca e di trasferimento tecnologico nelle imprese, nelle università, nelle agenzie e nei centri di ricerca pubblici e privati" della Regione Umbria (POR UMBRIA FSE 2007-2013) per la realizzazione del progetto di ricerca: "Nutrigenomica: acidi grassi poliinsaturi e tumorigenesi".
- Dal **1 settembre 2015** al **31 Agosto 2018** è stata ricercatore a tempo determinato (RTD) per il settore BIO/10-Biochimica presso la sezione di Fisiologia e Biochimica del Dipartimento di Medicina Sperimentale dell'Università degli Studi di Perugia

INCARICHI DIDATTICI

- **Attività di collaborazione all'attività didattica teorico-pratica e tutoriale**
presso il Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia sede Terni (Chimica e Biochimica) per un impegno complessivo pari a 250 ore da svolgere nell'A.A 1999/2000.
- **Attività di supporto alla didattica** nell'ambito dell'insegnamento del corso Integrato di "Chimica e Propedeutica Biochimica " presso il corso di Laurea in Medicina e Chirurgia sede di Terni per l'anno accademico 2004/05.
- **Per l'A.A. 2007/08**, come titolare di un assegno di ricerca finanziato dall'Università degli Studi di Perugia, ha svolto un corso di didattica integrativa non retribuita, per n.10 ore, dal titolo "*Metabolismo cellulare e interrelazioni metaboliche*" nell'ambito del modulo di " Biochimica e propedeutica biochimica" (insegnamento di Biologia e Biochimica) per il Corso di Laurea in Podologia della Facoltà di Medicina e Chirurgia presso l'Università degli Studi di Perugia.
- **Per l'A.A. 2008/09**, come titolare di un assegno di ricerca finanziato dall'Università degli Studi di Perugia, ha svolto un corso di didattica integrativa non retribuita, per n. 10 ore, dal titolo "Organizzazione strutturale delle molecole di interesse biologico" nell'ambito dell'insegnamento di " Chimica e Biochimica Propedeutica" (Modulo di Chimica Propedeutica) per il Corso di Laurea in Dietistica della Facoltà di Medicina e Chirurgia presso l'Università degli Studi di Perugia
- **Dall'Anno Accademico 2003/04 ad oggi** è membro, come "cultore della materia", della commissione esaminatrice dell'insegnamento di "Chimica e Propedeutica Biochimica" (fino all'A.A. 2011/12) e dell'insegnamento di "Biochimica I" (dall'A.A. 2012/2013 ad oggi) per il Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Perugia sede di Terni
- **Dall'anno accademico 2015-16** è titolare del modulo di Biochimica nell'ambito dell'insegnamento di Biochimica e biochimica clinica per il Corso di Laurea di Tecniche di laboratorio biomedico [Laurea triennale - D.M.270]
- **Dall'anno accademico 2016-17** è titolare del modulo di Chimica (Mod.1 e Mod. 2) nell'ambito dell'insegnamento di Chimica e Biochimica I per il Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Perugia sede di Terni

ATTIVITA' SCIENTIFICA

L'attività scientifica della Dott.ssa Veronica Ceccarelli è documentata da 7 lavori su riviste internazionali e da 15 partecipazioni a Congressi nazionali e internazionali.

L'attività scientifica è tutta incentrata sullo studio del ruolo degli acidi grassi polinsaturi (PUFA) ed espressione genica con particolare rilievo al ruolo epigenetico emergente.

Effetti trascrizionali degli acidi grassi della dieta sull'espressione di enzimi lipogenici nella sedentarietà

Lo studio è stato condotto su ratti in condizioni di hindlimb-suspension allo scopo di studiare gli effetti indotti dall'immobilizzazione dei muscoli scheletrici sull'espressione di enzimi lipogenici epatici. Dopo 14 giorni di immobilizzazione i ratti venivano iniettati intraperitonealmente con acetato marcato quale precursore lipidico. L'incorporazione epatica del substrato marcato veniva valutata nei lipidi e colesterolo epatico dopo 15 minuti dall'inoculo risultando incrementata di almeno 3 volte. Conseguentemente si osservava un aumento della trascrizione di geni che codificano per l'acetil-CoA sintetasi, l'acetil-CoA Carbossilasi, l'acido grasso sintetasi e la 3-idrossi-3-metilglutaril-CoA reduttasi. Ciò nonostante non si osservava un aumento nei livelli di trascrizione della Sterol.regulatory element binding protein (SREBP-1) e SREBP-2, fattori di trascrizione preposti al controllo dell'espressione degli enzimi essenziali nella sintesi di acidi grassi e colesterolo. Tuttavia i livelli proteici della forma matura nucleare di SREBP-1 e SREBP-2 aumentava significativamente nel fegato di ratti immobilizzati quando venivano raffrontati a ratti controllo presupponendo un significativo aumentato nel rilascio della forma matura dalla forma citosolica nativa. Inoltre le condizioni di immobilizzazione intervengono anche sull'espressione di proteine coinvolte nella degradazione lipidica. In particolare, si osservava un aumento significativo nei livelli di espressione dei PPAR α e dei suoi geni bersaglio (carnitina palmitoil transferasi e Acil-CoA ossidasi) **(1)**

Successivamente, sempre utilizzando lo stesso modello sperimentale abbiamo voluto studiare l'effetto degli acidi grassi della dieta sull'omeostasi lipidica epatica andando a valutare l'espressione e l'attività dei PPAR α , SREBP-1 e HNF-4 α dopo trattamento con diete arricchite di acidi grassi saturi, monoinsaturi e polinsaturi (PUFA) della serie n-6 e n-3. Negli animali controllo e i quelli immobilizzati si osservava un aumento di espressione dei PPAR α e dei suoi geni bersaglio (carnitinapalmitoil transferasi e acil-CoA ossidasi) in tutte le diete arricchite di acidi grassi con un aumento massimo per gli acidi grassi della serie n-3. Le stesse diete riducevano i livelli di mRNA per SREBP-1 e dei suoi geni bersaglio (acido grasso sintetasi e acil-CoA carbossilasi). Tuttavia gli effetti erano maggiori per i ratti sedentari rispetto a quelli controllo. Solo la dieta arricchita con acidi grassi n-3 evidenziava una diminuzione dei trigliceridi epatici e plasmatici nel ratto sedentario. Questo effetto potrebbe essere imputabile alla maggior espressione di enzimi preposti alla beta-ossidazione mitocondriale e

perossisomiale. Per contro la dieta arricchita di acidi grassi saturi induce un incremento di trigliceridi epatici e plasmatici sia negli animali controllo che sedentari. Questo effetto è ascrivibile ad un aumento del legame di HNF-4 α sul promotore di ApoCIII e al conseguente aumento dell'espressione di ApoCIII sia negli animali controllo che in quelli sedentari. Si può pensare che gli acidi grassi saturi della dieta agendo a livello trascrizionale attraverso HNF-4 α possano condizionare i livelli di ApoCIII a livello plasmatico **(4)**

Acidi grassi poliinsaturi e Carcinogenesi

Studi epidemiologici, evidenze sperimentali in vivo e in vitro hanno mostrato che gli acidi grassi, particolarmente gli acidi grassi poliinsaturi (PUFA), inibiscono la carcinogenesi. È stato dimostrato infatti, che i PUFA, in particolare quelli della serie n-3, inibiscono la crescita delle cellule tumorali sia in vivo che in vitro, diminuiscono il processo di formazione di metastasi, riducono la cachessia in animali che presentano malattie neoplastiche e potenziano gli effetti citotossici di farmaci chemioterapici. In aggiunta, i PUFA (n-3) riducono la proliferazione cellulare, inducono differenziazione e apoptosi sia nei tumori solidi che in cellule leucemiche. Sebbene non completamente chiari, alcuni meccanismi molecolari attraverso i quali i PUFA possono modificare il processo carcinogenico, sono stati proposti. Quest'ultimo aspetto rappresenta un campo di ricerca di particolare interesse che si è sviluppato negli ultimi anni, durante i quali si è dimostrato che i PUFA e/o i loro derivati modulano l'espressione genica agendo a vari livelli.

Abbiamo evidenziato, in cellule di epatocarcinoma di Morris 3924 A coltivate in vivo, che i PUFA della serie n-3 oltre a indurre apoptosi, modulano l'espressione di una nuova famiglia di fattori di trascrizione responsabili del controllo della proliferazione e differenziazione cellulare: i CCAAT/enhancer binding proteins (C/EBPs). In particolare, abbiamo dimostrato che l'acido α -linolenico (18:3 n-3) della dieta deprime i livelli di mRNA che codificano per C/EBP β e aumenta i livelli proteici di C/EBP α . A questo evento consegue una diminuzione nei livelli di espressione della COX-2 essendo C/EBP β attivatore e C/EBP α inibitore della sua trascrizione. **(2)**

C/EBP α è un fattore di trascrizione che oltre a modulare l'espressione della COX-2 presiede insieme ad HNF-4 α , HNF-3 β e HNF-1 α presiede alla determinazione e al mantenimento del fenotipo epatico. Abbiamo dimostrato che nell'epatocarcinoma di Morris 3924A l'acido α -linolenico (18:3 n-3) della dieta modula tutti e quattro questi fattori dalla cui concertazione dipende il fenotipo epatico. Questo evento conduce alla re-espressione di albumina (marker di differenziazione epatocitaria) parallelamente ad una diminuzione nei livelli di espressione di α -fetoproteina, PCNA, c-myc e c-jun (markers tumorali). **(3)**

Acidi grassi polinsaturi e modificazioni epigenetiche

I C/EBPs presiedono non solo alla differenziazione dell'epatocita ma anche a quella delle cellule mieloidi ove sono espressi quattro membri della famiglia dei C/EBP (α , β , δ and ϵ) che svolgono un ruolo di primaria importanza sia nella normale differenziazione delle cellule mieloidi che nella leuchemogenesi.

In questo lavoro abbiamo valutato gli effetti di acidi grassi a diverso numero di atomi di carbonio e a diversa insaturazione su cellule promonocitiche U937 sulla proliferazione e differenziazione cellulare. Abbiamo dimostrato che l'acido eicosapentaenoico (EPA) riduce la progressione del ciclo cellulare e induce l'espressione di M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) receptor, gene specifico della linea monocitica-macrofagica. Abbiamo inoltre evidenziato che l'aumentata espressione di M-CSF-receptor è determinata da un aumento dell'espressione di C/EBP β , C/EBP δ , PU.1 e c-jun che rappresentano i suoi attivatori trascrizionali e che C/EBP β e C/EBP δ si legano come eterodimeri al promotore di M-CSF-receptor.

Il risultato più significativo di questo lavoro è l'aumentata espressione di C/EBP δ operata dall'acido eicosapentaenoico. Infatti, C/EBP δ è stato riportato essere un soppressore tumorale silenziato per ipermetilazione del suo nelle stesse cellule U937 da noi usate, e che viene re-espresso attraverso la demetilazione dello stesso promotore. Dopo trattamento con EPA delle cellule U937 abbiamo analizzato la stessa regione del promotore (-370/-20) e abbiamo trovato una demetilazione sito specifica di una CpG che è determinante per l'attività di binding del fattore Sp1 per indurre l'espressione del gene di C/EBP δ . Per la prima volta abbiamo dimostrato che un acido grasso polinsaturo può operare una modificazione epigenetica agendo sulla metilazione del DNA. **(5)**

Inoltre il trattamento con EPA di cellule U937 attiva la via RAS/ERK/C/EBP β che è essenziale nella differenziazione della linea monocitica-macrofagica. L'attivazione di questa via è imputabile ad un aumento di espressione di H-Ras che risulta essere silenziato per ipermetilazione di un isola CpG all'interno dell'introne 1. La re-espressione di H-Ras dopo trattamento con EPA risulta in una quasi totale demetilazione di questa isola come dimostrato dal sequenziamento dopo trattamento con bisolfito e dall'arricchimento di tale isola di RNAPolimerasiII in forma attiva. L'incrementato legame di questa regione con p53, regolatore positivo, dell'espressione di H-Ras conferma l'azione demetilante di EPA.

L'aberrante metilazione del DNA nelle cellule tumorali rappresenta una modificazione epigenetica responsabile del silenziamento di molti geni soppressori tumorali. La caratteristica essenziale di molti tumori, infatti, è rappresentata da una ipometilazione generalizzata del DNA accompagnata da ipermetilazione delle citosine nel dinucleotide CpG altamente rappresentato all'interno dei promotori e regioni regolatrici dei geni. Queste regioni sono definite "isole CpG"

e i loro livelli di metilazione sono intimamente relazionati ai livelli di espressione dei geni soppressori tumorali. La scoperta e l'utilizzo in terapia di agenti demetilanti di sintesi rappresenta un punto essenziale per contrastare la progressione tumorale.

Nell'ambito di questo progetto, nei nostri laboratori è stato dimostrato che una molecola naturale come l'acido eicosapentaenoico (EPA), un acido grasso della dieta, è in grado di esplicare un'azione demetilante in cellule di epatocarcinoma RH-7777 nei confronti di un gene soppressore tumorale p21, normalmente non espresso a causa di ipermetilazione del suo promotore. EPA promuove la demetilazione di questo gene attraverso le proteine TET che trasformano il gruppo metile della citosina del DNA in idrossi-metile e come conseguenza di ciò, viene attivata la trascrizione del gene p21. La molecola dell'acido grasso è in grado di legare la proteina TET che, una volta attivata, si lega al DNA dove catalizza la trasformazione del gruppo metile **(8)**.

I risultati finora ottenuti, quindi, rappresentano la prima evidenza sperimentale che una molecola endogena può promuovere un processo di demetilazione del DNA responsabile dell'induzione di espressione di soppressori tumorali determinanti per il processo di differenziazione cellulare. Come conseguenza di questi dati, il nuovo ruolo di EPA come agente demetilante pone le basi per studiare la sua azione anche in altre patologie ove è coinvolta una aberrante metilazione del DNA.

Elenco Pubblicazioni

1. Vecchini A, **Ceccarelli V**, Orvietani P, Caligiana P, Susta F, Binaglia L, Nocentini G, Riccardi C and Di Nardo P (2003) Enhanced expression of hepatic lipogenic enzymes in an animal model of sedentariness *J Lipid Res* 44: 696-704.
2. Vecchini A, **Ceccarelli V**, Susta F, Caligiana P, Orvietani P, Binaglia L, Nocentini G, Riccardi C, Calviello G, Palozza P, Maggiano N and Di Nardo P (2004) Dietary alpha-linolenic acid reduces COX-2 expression and induces apoptosis of hepatoma cells *J Lipid Res* 45: 308-316.
3. Vecchini A, **Ceccarelli V**, Nocentini G, Riccardi C, Di Nardo P and Binaglia L (2005) Dietary PUFA modulate the expression of proliferation and differentiation markers in Morrison 3924A hepatoma cells *Biochim Biophys Acta* 1737: 138-144.
4. **Ceccarelli V**, Nocentini G, Riccardi C, Ayroldi E, Di Nardo P, Roberti R, Binaglia L and Vecchini A (2011) Effect of dietary saturated fatty acids on HNF-4 alpha DNA binding activity and ApoCIII mRNA in sedentary rat liver *Mol Cell Biochem* 347: 29-39.

5. **Ceccarelli V**, Racanicchi S, Martelli MP, Nocentini G, Fettucciari K, riccardi C, Marconi P, Di Nardo P, Grignani F, Binaglia L and Vecchini A (2011) Eicosapentaenoic acid demethylates a single CpG that mediates expression of tumor suppressor CCAAT/enhancer-binding protein delta in U937 leukemia cells *J Biol Chem* 286: 27092-27102.
6. Di Giacomo D, Pierini V, Barba G, **Ceccarelli V**, Vecchini A and Mecucci C (2014) Blast crisis Ph+ chronic myeloid leukemia with NUP98/HOXA13 up-regulation MSI2 *Mol Cytogenet* 7:42.
7. **Ceccarelli V**, Nocentini G, Billi M, Racanicchi S, Riccardi C, Roberti R, Grignani F, Binaglia L, and Vecchini A (2014) Eicosapentaenoic acid activates RAS/ERK/C/EBPbeta pathway through H-Ras intron 1 CpG Island demethylation in U937 leukemia cells *PLoS One* 9: e85025
8. **Ceccarelli V**, Valentini V, Ronchetti S, Cannarile L, Billi M, Riccardi C, Ottini L, Talesa VN, Grignani F and Vecchini A (2018) Eicosapentaenoic acid induces DNA demethylation in carcinoma cells through a TET1-dependent mechanism *Faseb J*.