

RELAZIONE SULLE ATTIVITA' SVOLTE DURANTE IL SECONDO ANNO DI COPERTURA DI UN POSTO DI RICERCATORE A TEMPO DETERMINATO, AI SENSI DELL'ART. 24, COMMA 3, LETTERA A) DELLA LEGGE N. 240 DEL 30.12.2010, SETTORE CONCORSUALE 05/E1, SETTORE SCIENTIFICO DISCIPLINARE BIO/10.

Il sottoscritto Patrick Orlando, nato a Biel (Svizzera) il 06.10.1985, matricola n. 007087, ricercatore a tempo determinato di tipologia a) a partire dal 01.09.2022, in servizio presso il Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, settore concorsuale 05/E1, SSD BIO/10, in rispetto a quanto richiesto dall'articolo 3 del "contratto di lavoro subordinato a tempo determinato di diritto privato con qualifica di ricercatore universitario, ai sensi dell'art. 24 della legge n° 240/2010" stipulato con l'Università Politecnica delle Marche, dichiara di aver svolto durante il secondo anno di contratto le seguenti attività.

Attività didattiche

1. Titolare del **corso di insegnamento caratterizzante** di "*Scienze e Tecniche Dietetiche Applicate*" della durata complessiva pari a **56 ore** (7 CFU) rivolto agli studenti del secondo anno di laurea magistrale del corso di studi in "Scienze della Nutrizione e dell'Alimentazione".
2. Attività di didattica frontale per il **corso di insegnamento a scelta** di "*Oxidative Stress in Biological Systems*" erogato in lingua inglese della durata complessiva di **24 ore** (3CFU). I restanti 3 CFU sono erogate dalla prof.ssa Elisabetta Damiani.
3. Supervisor di un PhD student con un progetto di dottorato in Scienze biomolecolari dal titolo "*Relationship Between Intramuscular CoQ₁₀ Levels and Biological Age in Humans*"
4. Membro del **Comitato Ordinatore del Corso di perfezionamento** in "*Research and Innovation in Skin Biology and Anti-Aging Cosmetology*" presso UNIVPM, per il quale rientro nel corpo docente, nello specifico in relazione all'insegnamento dei corsi "*Skin Antioxidant Defence*" e "*Biochemical markers of oxidatively damaged and senescent cells*" per un totale di **5 ore**.
5. Nell'ambito dell'"**Erasmus +**" per mobilità docenti, per cui sono risultato idoneo nella Call 2023, ho erogato **8 ore** di lezione presso la "University of Primorska" (Slovenia) nella settimana dall'8 all'11 luglio 2025.
6. Attività didattiche integrative e di servizio agli studenti.

- Partecipazione a **4 Commissioni** (1 triennale e 3 magistrali) istituite per i seguenti esami di Laurea:
 - Sessione autunnale a.a. 2023/2024 - Laurea Magistrale in Biologia Molecolare e Applicata, 25 ottobre 2024
 - Sessione autunnale a.a. 2023/2024 - Laurea Magistrale in Scienze dell’Alimentazione e della Nutrizione, 25 ottobre 2024
 - Sessione autunnale a.a. 2023/2024 – Laurea Triennale in Scienze Biologiche, 13 febbraio, 2025
 - Sessione straordinaria a.a 2023/2024 – Laurea Magistrale in Biologia Molecolare e Applicata, 19 febbraio 2025;
- Ricevimento e assistenza (discussione degli argomenti svolti a lezione, orientamento, preparazione all’esame) agli studenti di entrambi i corsi in cui sono docente.
- Tutor e Relatore **3** lavori di **tesi di laurea**:
 - Laurea Magistrale in Biologia Molecolare e Applicata – Tecnologie Biologiche dal titolo *“Ruolo della disfunzione mitocondriale nella senescenza cellulare”*
 - Laurea Magistrale in Biologia Molecolare e Applicata – Tecnologie Biologiche dal titolo *“Sviluppo di un protocollo di supplementazione con Coenzima Q nel modello Schmidtea mediterranea e valutazione degli effetti tossici indotti dal trattamento con statine”*.
 - Laurea Magistrale in Biologia Molecolare e Applicata – Tecnologie Biologiche dal titolo *“Coenzima Q e rigenerazione tissutale: una risposta allo stress ossidativo indotto da statine nel modello animale Schmidtea mediterranea”*.

7. Orientamento.

- In relazione al programma PNRR – Missione 4 – Inv. 1.6 “Orientamento Attivo”, il sottoscritto ha tenuto lezione presso l’IIS Savoia - Benincasa per il corso “Scienze: nutrizione dell’uomo e degli animali”.

Attività di ricerca

1. Progetti di ricerca

Progetto 1 **Coenzima Q10 come additivo nella alimentazione degli ovini: valutazione della sua biodisponibilità, del benessere animale e qualità della carne**

Il Coenzima Q10 (CoQ10), anche noto come ubiquinone, è il principale antiossidante a basso peso molecolare presente nelle membrane biologiche di tutti gli organismi viventi. A livello mitocondriale il CoQ10 è un trasportatore di elettroni nella catena di trasporto elettronica ed è essenziale per la produzione di energia cellulare. Si tratta di una simil- vitamina prodotta dall'organismo animale in quantità sufficienti per le esigenze fisiologiche ma, può essere apportato attraverso la dieta in quanto è presente principalmente nel tessuto muscolare animale e in minor concentrazione in alcuni vegetali. Nell'uomo una dieta onnivora contribuisce mediamente ad un apporto di 5 mg al giorno di CoQ10. La sua attività è strettamente associata alla riduzione dello stress ossidativo, sia riducendo la produzione di specie reattive dell'ossigeno mitocondriali, sia per la sua attività di pulizia di radicali, diretta e indiretta, lavorando in sinergia con altri antiossidanti quali la vitamina E e la vitamina C. Sebbene i livelli di produzione endogena siano normalmente adeguati in condizioni fisiologiche, non sono rare condizioni di deficit secondario, associate ad un aumentato consumo in condizioni di stress. Per questo motivo il suo impiego come integratore nell'alimentazione umana è noto da almeno quaranta anni sia in condizioni patologiche (malattie cardiovascolari, infertilità, patologie degenerative) che in condizioni fisiologiche particolari (nutrizione per sportivi, invecchiamento). In questo contesto il CoQ10 ha un altissimo profilo di sicurezza ed il suo impiego è stato testato in studi clinici fino a 1200 mg al giorno e in ambito nutrizionale il Ministero della Salute ha previsto per l'uomo una dose massima come integratore di 200 mg al giorno (www.salute.gov.it). In ambito zootecnico nella Comunità Europea il CoQ10 non è presente nell'Elenco degli Additivi per mangimi destinati all'alimentazione animale, allegato al Regolamento Comunitario 1831/2003 e successive integrazioni. Tuttavia, il suo impiego zootecnico è stato valutato in alcuni paesi extra-UE attraverso numerosi studi relativi in varie specie di interesse zootecnico.

In questo contesto il nostro gruppo di ricerca ha richiesto ed ottenuto dal Ministero della Salute il permesso di realizzare un progetto volto a valutare la sicurezza e l'efficacia della somministrazione di Coenzima Q10 sugli animali. L'integrazione di Coenzima Q10 potrebbe migliorare il benessere animale e le performance di accrescimento, ridurre lo stress associato alla stabulazione, al trasporto e in fase di abbattimento, e migliorare il valore nutrizionale e la durata commerciale della carne.

Tale studio è stato avviato durante il secondo anno di RTDA in collaborazione con la Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Camerino e con il Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali dell'Università Politecnica delle Marche. Sono stati coinvolti un totale di 12 agnelli, di sesso maschile, già svezzati suddivisi in due gruppi: il trattato supplementato per 30 giorni con 80 mg/capo/giorno di CoQ10 emulsionato in 10 mL di olio di girasole, ed il gruppo di controllo riceverà lo stesso volume di olio senza la molecola. Nel corso del terzo anno di RTDA sui campioni muscolari (*massetere*, *Longissimus lumborum* e *Semitendinosus*) e sui prelievi plasmatici sono stati valutati sia i livelli di CoQ10 che parametri ossidativi e qualitativi. I risultati hanno messo in evidenza l'importante ruolo della supplementazione soprattutto nel mitigare l'ossidazione dei tessuti muscolari analizzati e nel migliorare il profilo lipidico degli animali coinvolti.

Progetto 2 *Effetto tossico delle statine e ruolo di una supplementazione con CoQ₁₀ su modello Schmidtea mediterranea*

Il presente progetto ha avuto l'obiettivo di valutare la tossicità della simvastatina su un modello animale ancora poco esplorato e non ampiamente caratterizzato, le planarie. La peculiarità di tale modello è correlato alla sua capacità di rigenerare porzioni danneggiate del proprio corpo attraverso la formazione del blastema, una massa di cellule non specializzate che si sviluppa nel sito della ferita, facilitando la ricrescita di nuove strutture corporee. Questo processo è strettamente legato all'azione di neoblasti che proliferano nel sito della lesione e si differenziano per ripristinare i tessuti danneggiati. La capacità di rigenerare intere sezioni del corpo è un carattere distintivo che rende *Schmidtea mediterranea* un modello ideale per lo studio dei meccanismi molecolari e cellulari della rigenerazione. In questo contesto è stata indagato il ruolo del trattamento statinico nella perossidazione lipidica e nei processi di rigenerazione tissutale delle planarie, indagando in particolare le interazione con il pathway metabolico della via del mevalonato. Inoltre è stato valutato il ruolo di una supplementazione con CoQ₁₀ su tali meccanismi.

Progetto 3 *Nutrire la rigenerazione cellulare della pelle: l'importanza del "one carbon metabolism" e il potenziale del 5-MTHF*

Le capacità rigenerative della pelle sono sempre più compromesse dall'età, il che è particolarmente rilevante in quanto si accumulano danni dovuti a fattori intrinseci ed estrinseci. La radiazione solare svolge un ruolo importante tra i fattori estrinseci nel promuovere la senescenza della pelle. I folati sono cofattori dietetici critici essenziali nella biosintesi dei componenti cellulari e nella proliferazione cellulare. È interessante notare che la pelle è un sito importante di accumulo di folati e i suoi livelli tissutali possono essere influenzati dalla radiazione solare. Tuttavia negli ultimi anni sono state trovate sempre più prove dei vantaggi del folato ridotto rispetto all'acido folico. L'acido folico e anche il folato alimentare, infatti, non sono biologicamente attivi e devono essere convertiti nel 5-metiltetraidrofolato metabolicamente attivo (5-MTHF) attraverso un processo in più fasi in cui l'enzima metilene tetraidrofolato reduttasi (MTHFR) ha un ruolo chiave. Alcuni individui, a causa dei loro modelli genetici e della loro espressione unici, hanno forme polimorfiche di questo enzima e non producono MTHFR adeguato o efficace.

L'obiettivo dello studio, avviato al termine del secondo anno di RTDA in collaborazione con "Gnosis By Lesaffre" e proseguito durante l'anno corrente, è la valutazione della modulazione del contenuto di folati nella pelle irradiata con UVA e nei controlli non irradiati. Lo studio è stato condotto utilizzando un modello *in vitro* di fibroblasti dermici umani (HDF) in cui sono stati testati i potenziali effetti benefici del folato sulla salute della pelle, in particolare sulla sua capacità rigenerativa utilizzando modelli cellulari di guarigione delle ferite. I risultati emersi hanno messo in evidenza un importante ruolo del 5-MTHF nel contrastare sia l'ossidazione indotta dall'esposizione dei fibroblasti ad irraggiamento con UV oltre che nel migliorare la capacità rigenerativa delle stesse. Tali risultati sono oggetto di pubblicazione scientifica e rappresentano la base di un proseguimento di collaborazione con l'azienda coinvolta.

Progetto 4 *Relazione tra livelli intramuscolari di CoQ₁₀ ed età biologica nell'uomo*

L'obiettivo primario di questo progetto è di chiarire la relazione tra i livelli di CoQ₁₀, la funzione mitocondriale e il processo di invecchiamento, aprendo potenzialmente la

strada a interventi mirati per mitigare il declino muscolare correlato all'età (fenomeno definito "sarcopenia"). Infatti, nonostante le ipotesi secondo le quali i livelli di CoQ₁₀ influenzino l'invecchiamento del muscolo scheletrico, nessuno studio ha valutato specificamente la modulazione del contenuto di questa molecola nei tessuti muscolari durante tale processo. Inoltre i recenti progressi hanno distinto l'invecchiamento biologico dall'invecchiamento cronologico: l'invecchiamento cronologico si riferisce al trascorrere del tempo dalla nascita, mentre l'invecchiamento biologico descrive i cambiamenti fisiologici e il declino funzionale nel tempo. L'orologio di metilazione, che misura i cambiamenti del modello di metilazione del DNA correlati all'età, è uno degli strumenti più utilizzati per valutare l'invecchiamento biologico. Questo metodo consente di identificare gli individui che,biologicamente, invecchiano con una velocità diversa rispetto alla loro età cronologica, consentendo interventi mirati per promuovere un invecchiamento sano. Pertanto lo studio, in collaborazione con l'Istituto di Fisiologia dell'Università di Copenaghen, guidato dal Professor Steen Larsen, mira a valutare l'età biologica del tessuto muscolare utilizzando l'orologio di metilazione e quantificare i livelli di CoQ₁₀ muscolare. Questa doppia analisi fornirà informazioni fondamentali su come il contenuto di tale molecola vari con l'invecchiamento e sul suo potenziale ruolo nella salute muscolare. Ad oggi sono stati eseguiti analisi *in vitro* preliminari su un modello di cellule muscolari (C2C12) murine per valutare il ruolo di una supplementazione di CoQ₁₀ nel contrastare lo stress ossidativo indotto da H₂O₂ e nel migliorare la capacità di differenziamento cellulare.

Progetto 5 ***SUSTAIN: Sistema per l'Utilizzo SosTenibile delle vinAcce per un'economia circolare e prodotti INnovativi***

Nell'ambito dei Bandi di Ricerca e Sviluppo 2023/2024 finanziati dalla Fondazione CARITRO – Cassa di Risparmio di Trento e Rovereto – di cui sono risultato vincitore in qualità di responsabile unità operativa esterna UNIVPM, il progetto ha avuto inizio il 01/11/2024 e si focalizza dapprima sulla caratterizzazione delle molecole estratte dalle vinacce di Pinot nero, con particolare attenzione ai polifenoli, per poi identificare quelle più promettenti da testare in un modello cellulare di neurodegenerazione. Lo studio mira a valorizzare tali composti attraverso un'analisi dettagliata, al fine di identificare

molecole con potenziali proprietà inibitorie sulle proteine amiloidi, coinvolte in diverse patologie neurodegenerative.

2. *Premi e riconoscimenti*

- Nell'ambito dei Progetti di Ricerca di rilevante Interesse Nazionale (PRIN) sono risultato vincitore in relazione al progetto intitolato "***Effect of transient reprogramming of Yamanaka factors associated with senolytic therapy on neurodegeneration in senescent mice***" che si propone di studiare l'effetto di strategie di riprogrammazione sul sistema nervoso centrale con fattori di Yamanaka mediante indagini molecolari combinate con la valutazione funzionale delle abilità motorie e cognitive comportamentali dei cambiamenti legati all'età nel sistema nervoso attraverso indagini morfologiche funzionali e risonanza magnetica..

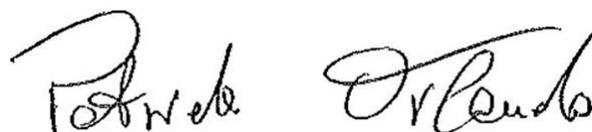
3. *Lavori scientifici pubblicati nell'anno Settembre 2024 – Agosto 2025*

- Mthembu SXH, Mazibuko-Mbeje SE, Ziqubu K, Silvestri S, **Orlando P**, Nkambule BB, Muller CJF, Tiano L, Dlodla PV. Pharmacological activation of Nrf2: Cardioprotective effects of statins and metformin against dyslipidemia-induced oxidative stress. *Atherosclerosis*. 2025 Aug 7;409:120474. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2025.120474. Epub ahead of print. PMID: 40834569.
- Brisudova P, Stojanovic D, Novak J, Nahacka Z, Oliveira GL, Vanatko O, Dvorakova S, Endaya B, Truksa J, Kubiskova M, Foltynova A, Jirak D, Jirat-Ziolkowska N, Kucera L, Chalupsky K, Klima K, Prochazka J, Sedlacek R, Mengarelli F, **Orlando P**, Tiano L, Oliveira PJ, Grasso C, Berridge MV, Zobalova R, Anderova M, Neuzil J. Functional mitochondrial respiration is essential for glioblastoma tumour growth. *Oncogene*. 2025 Aug;44(30):2588-2603. doi: 10.1038/s41388-025-03429-6. Epub 2025 May 5. Erratum in: *Oncogene*. 2025 Aug;44(30):2675. doi: 10.1038/s41388-025-03451-8. PMID: 40325182; PMCID: PMC12277175.
- Mthembu SXH, Mazibuko-Mbeje SE, Silvestri S, **Orlando P**, Nkambule BB, Muller CJF, Tiano L, Dlodla PV. Prolonged exposure to simvastatin affects coenzyme Q9/10 status leading to impaired mitochondrial respiratory capacity and reduced viability of cultured cardiac cells. *Toxicol In Vitro*. 2025 Jun;106:106052. doi: 10.1016/j.tiv.2025.106052. Epub 2025 Mar 13. PMID: 40089196.

- Mthembu SXH, Mazibuko-Mbeje SE, Ziqubu K, Silvestri S, **Orlando P**, Nkambule BB, Muller CJF, Tiano L, Dlodla PV. Pharmacological activation of Nrf2: Cardioprotective effects of statins and metformin against dyslipidemia-induced oxidative stress. 2025, *Atherosclerosis* 409, pages 120474
- Millichap L, Turton N, Alomosh R, Heaton RA, Bateman A, Al-Shanti N, Lightfoot AP, Damiani E, Marcheggiani F, **Orlando P**, Silvestri S, Tiano L, Hargreaves IP. The effect of simvastatin induced neurotoxicity on mitochondrial function in human neuronal cells. *Toxicol Mech Methods*. 2025 Jul;35(6):592-603. doi: 10.1080/15376516.2025.2471807. Epub 2025 Mar 3. PMID: 40028788.
- Cirilli I, **Orlando P (co-first author)**, Hrelia S, Marcheggiani F, Tiano L, Beghelli D, Angeloni C. Endogenous coenzyme Q content and exogenous bioavailability in *D. melanogaster*. *Heliyon*. 2024 Sep 12;10(18):e37854. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e37854. PMID: 39315151; PMCID: PMC11417581.

4. *Partecipazione ai seguenti comitati editoriali*

- a. Membro dell' "**Editorial Board**" di "Cardiovascular Endocrinology" (sezione della rivista "**Frontiers in Endocrinology**") in qualità di "**Review Editor**".
- b. **Guest editor** per la rivista " **International Journal of Molecular Sciences** " in relazione allo Special Issue "" **Coenzyme Q in Health and Disease** " all'interno della sezione " **Biochemistry**".
- c. **Guest editor** per la rivista " **International Journal of Molecular Sciences** " in relazione allo Special Issue "" **Molecular Insights into Mitochondrial Function and Oxidative Stress** " all'interno della sezione " **Biochemistry**" (Deadline 30/06/2025).



Two handwritten signatures in black ink. The signature on the left is 'Orlando P.' and the signature on the right is 'Orlando'.