

## Corso di Dottorato in Neuroscienze, XXXV ciclo, a.a. 2019/2020

### Borse finite dal Dipartimento

#### n.1 borsa vincolata al progetto per dottorando/a di area biologica per attività di ricerca preclinica, Curriculum Neuroscienze sperimentalni

*Trial multicentrico preclinico sull'efficacia della terapia con condizionamento ischemico remoto nel ridurre il danno ischemico cerebrale*

Il trial multicentrico pre-clinico randomizzato controllato (pRCT) indagherà l'efficacia della terapia con RIC (Remote Ischemic Conditioning) nel ridurre il danno ischemico cerebrale. Il progetto prevederà l'uso di topi, considerando anche la variabile genere, sottoposti a ictus ischemico severo mediante l'occlusione dell'arteria cerebrale media prossimale (MCA). Gli animali saranno randomizzati per ricevere la terapia RIC o sham RIC. RIC consisterebbe in una singola occlusione transiente dell'arteria femorale eseguita 10 minuti dopo la riparazione della MCA. La durata del RIC sarà di 20 minuti per i ratti e 10 minuti per i topi. La valutazione degli animali prevedrà la misura dei deficit neurologici generali e focali (endpoint primario) e la valutazione del volume ischemico alle 48 ore dall'insulto ischemico (endpoint secondario). La mortalità alle 48 ore rappresenterebbe un ulteriore endpoint secondario. Un calcolo della dimensione del campione di 104 animali per specie garantirebbe il 90% di potenza (52 animali in ciascun gruppo di trattamento e controllo) per rilevare una differenza significativa del 30% nel risultato primario di efficacia. Le analisi verranno eseguite in cieco e sulla base dell'analisi Intention-To-Treat (ITT). I risultati del trial randomizzato pre-clinico saranno analizzati e paragonati a quelli del trial randomizzato clinico di fase II, eseguito in parallelo, in un'ottica traslazionale con l'obiettivo di superare la barriera *from bench to bedside*.

Nel corso del progetto, il Dottorando si occuperà di:

- 1) apprendere le procedure chirurgiche per l'induzione dell'ischemia cerebrale e RIC;
- 2) applicare le procedure chirurgiche sui topi;
- 3) armonizzare le procedure di valutazione comportamentale tra i centri coinvolti, fornendo attività di tutorial per gli operatori coinvolti;
- 4) raccogliere i dati relativi alle chirurgie e compilare il database dedicato.

Il/la candidato/a dovrà pertanto avere una precedente esperienza di lavoro in modelli in vivo su topi.

**n.1 borsa vincolata al progetto per dottorando/a di area clinica, Curriculum Neuroscienze cliniche**

*Studio clinico multicentrico sul condizionamento ischemico remoto nei pazienti con ictus ischemico acuto*

In parallelo al trial preclinico multi-centrico, verrà eseguito uno studio clinico pilota di fase II, multicentrico (tre Stroke Unit sul territorio Nazionale), prospettico, randomizzato, in aperto, confrontando la terapia con RIC in aggiunta alla terapia standard, rispetto alla sola terapia standard, nei pazienti con ictus ischemico acuto < 6 ore dall'insorgenza dei sintomi. La terapia con RIC verrà applicata immediatamente dopo la randomizzazione nel dipartimento di emergenza e sarà costituita da 4 cicli di ischemia intermittente degli arti superiori, alternando 5 minuti di gonfiaggio (20 mmHg sopra la pressione sistolica) e 5 minuti di deflazione eseguiti manualmente utilizzando un bracciale standard della pressione arteriosa applicato sul braccio non paretico. I co-obiettivi primari saranno l'efficacia, valutata come "large clinical benefit" (riduzione di  $\geq 8$  punti oppure raggiungere 0 nella scale NIH stroke scale a 72 ore), la fattibilità (% dei pazienti assegnati alla terapia con RIC che riescono a portarla a termine) e la sicurezza (mediante la scala di valutazione del dolore di Wong-Baker). Gli obiettivi secondari includeranno due biomarcatori del RIC: i livelli plasmatici di HIF-1 alfa mRNA a 24 ore e i livelli plasmatici di HSP27 a 72 ore. Gli obiettivi secondari includeranno anche la frequenza di emorragia intracranica sintomatica entro 24 ore dalla randomizzazione e la disabilità a 3 mesi valutata con la scala di Rankin modificata. L'endpoint primario dello studio clinico pilota è stato scelto per essere sufficientemente robusto da rilevare un ampio beneficio clinico associato al RIC applicato nella fase acuta, analogamente al disegno dello studio del trial clinico EXTEND-IA. Un calcolo della dimensione del campione di 62 pazienti (con 31 pazienti in ciascuna delle braccia di trattamento e controllo) garantirà l'80% di potenza per rilevare una differenza significativa del 35% nel risultato primario di efficacia. La popolazione esaminata sarà ITT. Verranno applicati criteri di inclusione molto più rigorosi rispetto ad un precedente studio clinico su questo tema, in particolare la finestra temporale per l'applicazione della terapia con RIC sarà entro 6 ore dall'esordio dei sintomi.

Ciò significa che la maggior parte dei pazienti sarà anche candidata a terapie di ricanalizzazione. I risultati del trial randomizzato clinico di fase II saranno analizzati e paragonati a quello del trial randomizzato pre-clinico, in un'ottica pienamente traslazionale.

Il Dottorando assegnato al progetto clinico si occuperà della documentazione per l'approvazione dei comitati etici, del coordinamento e del training delle 3 Stroke Unit coinvolte, dell'arruolamento dei pazienti, della rilevazione dell'outcome e dell'analisi dei biomarcatori.

**n.1 scholarship related to research project: "Assessment of metaboomic changes in chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity", Neuroscience International Track Curriculum**

**Background of the project**

More than 2 million Europeans receive a diagnosis of cancer yearly, and more than a half of them are candidates to be treated with antineoplastic drugs which are neurotoxic on the PNS (Chemotherapy-Induced Peripheral Neurotoxicity, CIPN).

Paclitaxel and oxaliplatin are the cornerstones of the treatment of breast and colorectal cancers, i.e. the most frequent cancer in women and the second most frequent in men, respectively.

Several modifications involved in aging PNS have been hypothesized to underlie age-related susceptibility to damage or impaired regeneration/repair after damage, such as reduced plasticity, impaired functionality of local blood circulation and of the oxidative stress scavenger, modification in growth factors support. However, the results of these studies are inconclusive and other targets, possibly available to be used as biomarkers of PNS functioning in the future, deserve to be investigated.

The metabolome is the final downstream product of the genome and is closest to the functional phenotype of the cell or organism. Study thereof can give more direct answers than the proteome or transcriptome. Moreover, analysis of the metabolome looks more attractive than the analysis of the proteome or transcriptome since it consists of <10 000 estimated small molecules in contrast to the millions or tens of thousands of proteins, transcripts and genes. Therefore, specific metabolite profiles and metabolomic signatures are considered promising as putative useful tools for improving understanding of the mechanistic processes of the corresponding disease and for identifying specific metabolic markers.

Moreover, age has been suggested as a probable risk factor for more severe CIPN and increased mordibity has been observed in aged persons with CIPN compared to healthy, age-matched persons.

**Hypotheses**

1. Biomarkers related to experimentally-induced damage of the PNS could be identified using metabolomics
2. An aged PNS is more susceptible/less resilient to neurotoxic damage

**Experimental design**

This project will include neurotoxicity experiments based on a CIPN study comparing the effect of paclitaxel- or oxaliplatin-based chemotherapy in young (2 months of age) and adult (12 months of age) mice with the aims of:

- a) comparing at the phenotypic level the effects of treatment according to the different ages

b) assessing through a metabolomics approach which changes might be induced by treatment at the different ages

Details of the main methods to be used in the project are described in the reference literature reported below. According to new scientific evidence, additional methods will be used.

#### Sites

Each Partner laboratory will contribute with its top-level and long-standing specific expertise in their fields.

The project will be developed at the Experimental Neurology Unit, Università di Milano – Bicocca (Prof. Guido Cavaletti, Head Experimental Neurology Unit, [www.enu.dcmnt.unimib.it](http://www.enu.dcmnt.unimib.it)) and at the University of Surrey (Prof. Debra J. Skene, Section Head Chronobiology, <https://www.surrey.ac.uk/people/debra-j-skene>).

#### Reference literature

- Neurophysiological and neuropathological characterization of new murine models of chemotherapy-induced chronic peripheral neuropathies. Carozzi VA, Canta A, Oggioni N, Sala B, Chiorazzi A, Meregalli C, Bossi M, Marmiroli P, Cavaletti G. *Exp Neurol.* 2010 Dec;226(2):301-9. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.09.004
- Multimodal assessment of painful peripheral neuropathy induced by chronic oxaliplatin-based chemotherapy in mice. Renn CL, Carozzi VA, Rhee P, Gallop D, Dorsey SG, Cavaletti G. *Mol Pain.* 2011 Apr 26;7:29. doi: 10.1186/1744-8069-7-29
- Age-related changes in the function and structure of the peripheral sensory pathway in mice. Canta A, Chiorazzi A, Carozzi VA, Meregalli C, Oggioni N, Bossi M, Rodriguez-Menendez V, Avezza F, Crippa L, Lombardi R, de Vito G, Piazza V, Cavaletti G, Marmiroli P. *Neurobiol Aging.* 2016 Sep;45:136-148. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.05.014
- Isherwood, C.M., Van der Veen, D.R., Johnston, J.D. and Skene, D.J. 24 hour rhythmicity of circulating metabolites: effect of body mass and type 2 diabetes. *FASEB J.* (2017) 31, 5557-5567. doi: 10.1096/fj.201700323R. Skene, D.J., Skornyakov, E., Chowdhury, N.R., Gajula, R.P., Middleton, B., Satterfield, B.C., Porter, K., Van Dongen, H.P.A. and Gaddameedhi, S. Separation of circadian- and behavior-driven metabolite rhythms in humans provides a window on peripheral oscillators and metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2018) 115, 7825-7830. doi: 10.1073/pnas.1801183115

#### **Borsa finanziata da enti esterni**

##### **n.1 borsa finanziata dall'Istituto Neurologico Carlo Besta, Curriculum Neuroscienze cliniche vincolata al progetto**

*Misure di outcome nelle sperimentazioni cliniche per malattie neurodegenerative rare su base genetica*

Il progetto ha la finalità di approfondire gli strumenti di valutazione clinica, funzionale e di neuroimmagini, utili per misurare la progressione di malattia e la possibile risposta a terapie innovative in coorti omogenee di pazienti con forme neurodegenerative rare.

Oltre il 50 % delle malattie neurologiche sono rappresentate da forme neurodegenerative rare, per lo più su base genetica. Negli ultimi anni, i rapidi progressi nei settori delle tecnologie diagnostiche genetiche e di neuroimmagini, hanno permesso di ottimizzare l'approccio diagnostico e di migliorare le opportunità di cura e trattamento. La grande eterogeneità fenotipica e genotipica di queste forme, la variabilità dell'età di esordio e nella progressione di ciascuna entità nosologica, rende difficile il disegno di adeguate sperimentazioni cliniche. Infatti, la maggior parte delle misure di outcome attualmente utilizzate negli studi clinici non sono in grado di definire con sicurezza una eventuale efficacia nelle varie fasi di progressione di malattia, il che è un ulteriore fattore limitante soprattutto se si tiene conto della rarità delle patologie e la conseguente impossibilità di arruolare un sufficiente numero di soggetti. Inoltre, le attuali misure cliniche sono del tutto inadeguate per la valutazione degli stadi preclinici di malattia o delle fasi più avanzate.

Questo progetto, svolto nell'ambito del dottorato di Ricerca in Neuroscienze, si propone di analizzare misure di progressione di malattia attualmente validate, identificare le criticità per il loro utilizzo in sperimentazioni cliniche e di proporre e testare nuove misure di outcome, alternative o complementari a quelle già esistenti per una migliore caratterizzazione del fenotipo.

Verranno valutate coorti di pazienti affetti da patologie neurodegenerative geneticamente determinate, afferenti all'IRCCS Istituto Neurologico "Carlo Besta". In particolare lo studio si concentrerà su alcune forme geneticamente determinate, quali la malattia di Huntington (MH) e le malattie spinocerebellari (SCA e atassia di Friedreich). Verranno valutate e comparate le principali scale cliniche e neuropsicologiche (es. SARA, UHDRS, SDMT), test funzionali per l'equilibrio e la postura, e la quantificazione dell'attività fisica giornaliera. Verranno inclusi nello studio sia i soggetti in fase conclamata di malattia, sia soggetti portatori delle mutazioni genetiche ancora in fase presintomatica. Alle scale cliniche si aggiungeranno dati di RMN (3T). Eventuali altre valutazioni per sintomi extraneurologici verranno prese in considerazione in popolazioni specifiche. Per lo svolgimento del progetto si prevede una stretta collaborazione con specialisti in diversi ambiti delle neuroscienze inclusi informatici, biostatistici, e esperti nel campo della risonanza magnetica cerebrale. I dati raccolti verranno analizzati con lo scopo di migliorare la caratterizzazione fenotipica dei pazienti sia per protocolli di ricerca clinica di tipo osservazionale sia per possibili sperimentazioni farmacologiche.

**n.1 scholarship – “Outcome measures in clinical trials for rare inherited neurodegenerative diseases”, Clinical Neurosciences Curriculum**

The aim of the project is to investigate clinical, functional and neuroimaging evaluation tools, that could be useful for measuring disease progression and response to innovative therapies in homogeneous cohorts of patients with rare neurodegenerative forms.

Rare neurodegenerative diseases represent over 50% of neurological diseases. Recent developments in genetic and neuroimaging techniques have improved diagnostic accuracy. Further efforts are being made to identify successful pharmacological approaches, not only for ameliorating symptoms, but also to slow disease progression. The design of adequate clinical trials is difficult due to the great phenotypic and genotypic heterogeneity of each entity, the variability in the age of onset and in the rate of disease progression. Most of the outcome measures currently used in clinical studies are not optimized to define the efficacy of experimental interventions, leading to the necessity to enroll higher number of subjects, a further limiting factor considering the rarity of the diseases. Furthermore, current outcome measures are scarcely adequate for the assessment of preclinical or more advanced disease stages.

This project, carried out as part of the Ph.D. in Neuroscience, aims to analyze currently validated disease progression measures, to identify critical issues for their use in clinical trials and to propose and test new outcome measures, alternative or complementary to those already existing.

Patients affected by genetically determined neurodegenerative diseases, referred to the IRCCS Neurological Institute "Carlo Besta", will be included as part of the project. In particular, the study will focus on some forms of onset in adulthood, such as Huntington's disease (HD) and spinocerebellar diseases (SCAs) and on Friedreich's ataxia. Several studies have shown that the combined use of the assessment of clinical phenotype and the quantification of selective brain region atrophy by neuroimaging can allow detailed monitoring of disease course, in some cases as early as in the presymptomatic phase. The main clinical and neuropsychological scales (e.g. SARA, UHDRS, SDMT), functional tests for balance and posture, daily physical activity, and brain MRI data (3T) will be evaluated. Evaluations for specific extraneurological symptoms will be considered in selected cohorts. For the project, is expected a close collaboration with specialists in different areas of neuroscience, including ITs, biostatistics and experts in brain magnetic resonance. The data could be used for the phenotypic characterization and stratification of patients enrolled in homogeneous clinical cohorts, and for future pharmacological trials.

## Posizioni con Percorso Executive

**n.1 position reserved to employees of Fondazione AS.FRA. Onlus, Clinical Neurosciences curriculum, related to reserach project**

*Specific cognitive – Dis Functioning and associated specific vulnerability to psychopathology in intellectual disability patients compared to schizophrenia ones*

### Background

Even more evidences confirm the neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia (SCZ) in a continuum from intellectual disability (ID) through autism spectrum disorder (ASD) (Owen et al 2011; 2017) (Bertelli, Scuticchio, 2011).

Cognitive impairment is seen since the early stage of SCZ and it has been studied with COGNE tools but also with neuroimaging techniques (Niendam TA, 2018). On the other hand, looking at ID, there is increasing debate about the intelligence construct: it could be not only defined by IQ levels but also by specific cognitive functions impairment (Bertelli, Cooper, Salvador Carulla, 2018) that could have a genetic heritage, too.

Moreover, people with ID suffer from psychiatric disorders in an increased percentage (16.6-40.9%) than non-ID population (Cooper et al., 2007), moving to the hypothesis that ID, with its specific cognitive function impairment, is a specific vulnerability factor for psychopathologic conditions development.

### Aims

- 1) to compare an ID (with or without ASD) group of patients with a SCZ group for:
  - a)cognitive domains  
measured with WAIS-IV with/or Leiter-R  
Tower of London, Wisconsin, Figura di Rey, Matrici di Raven  
BACS
  - b)emotion recognition  
FEIT
- 2) assess in ID group:
  - a)The associated psychiatric disorders with SPAIDD-G and specific Spaidd tools (SPAIDD-ASD, SPAIDD-A, SPAIDD-M, SPAIDD-P) (Bertelli et al., 2012)
  - b)emotional development with SED-S (Sappok et al., 2016)

### Design of the study

Hp 1) cross sectional study: to understand specific cognitive profile ID Vs SCZ and the connection between specific cognitive deficit and specific psychopathological vulnerability (for example anxiety or psychosis)

Hp 2) longitudinal study (2 years) taking cognitive functioning as predictor of functional outcome (length of rehabilitation stay eg)

Population of patients recruitable at november 2018: ASFRA: 20 ID patients; 50 psychotic patients; 30 personality disorders patients

ASST Monza Mental Health and Addiction Department (UOP36 + UOP38) 227 ID patients Possible use of biological data

Possible collaboration with an international center (e.g. King's College)

### References

- [1] Owen M.J. et al., Neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia, *The British Journal of Psychiatry*, 2011, 198:173-175
- [2] Owen M.J., O'Donovan M.C., Schizophrenia and the neurodevelopmental continuum: evidence from genomics, *World Psychiatry*, 2017, 16(3): 227-235
- [3] Bertelli MO, Scuticchio D, 2011 <http://www.crea->

[sansebastiano.org/IT/articolo.php?id=89&t=schizofrenia-e-disturbi-dello-sviluppo-intellettivo-quale-contiguità%3F](http://sansebastiano.org/IT/articolo.php?id=89&t=schizofrenia-e-disturbi-dello-sviluppo-intellettivo-quale-contiguità%3F)

- [4] Niendam TA. et al., Association of age at onset and longitudinal course of prefrontal function in youth with schizophrenia, *JAMA Psychiatry*, 2018
- [5] Bertelli MO, Cooper SA, Salvador Carulla L, Intelligence and specific cognitive functions in intellectual disability: implications for assessment and classification, *Curr Op Psychiatry*, 2018, 31: 88-95
- [6] Cooper SA, Smiley E, Morrison J, Williamson A, Allan L, Mental ill-health in adults with intellectual disabilities: Prevalence and associated factors. *British Journal of Psychiatry*, 2007, 190: 27-35
- [7] Bertelli M, Scuticchio D, Ferrandi A, Lassi S, Mango F, Ciavatta C, Porcelli C, Bianco A, Monchieri S. Reliability and validity of the SPAID-G checklist for detecting psychiatric disorders in adults with intellectual disability. *Research in Developmental Disability*. 2012; 33(2):382-90.
- [8] Sappok T, et al., Scale of Emotion Development — Short, *Research in Developmental Disability*. 2016, 59: 166-175

**n.1 posizione riservata ai dipendenti presso ITALFARMACO S.p.a., Curriculum Neuroscienze sperimentali vincolata al progetto**

*Valutazione dell'effetto farmacologico di composti modulanti il processo fibrotico in modelli animali di distrofinopatie e malattie fibrodegenerative*

**Progetto**

Background La fibrosi è un processo che porta all'accumulo anomalo di componenti della matrice extracellulare durante il ripristino dei tessuti danneggiati con conseguente perdita della loro struttura e funzionalità. Le malattie fibrodegenerative sono spesso associate a patologie infiammatorie croniche e si manifestano in diversi tessuti e organi vitali, compreso il muscolo scheletrico. Nel muscolo umano, la fibrosi è associata principalmente al deperimento muscolare provocato dalle distrofinopatie. In particolare, nella Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD), il muscolo scheletrico degenera, si attivano pathways infiammatori e si assiste alla perdita di capacità rigenerativa da parte delle cellule satelliti del tessuto muscolare. La DMD è una malattia legata al cromosoma X che porta al progressivo deperimento muscolare con un'incidenza media di 1:3500 maschi neonati. La DMD è dovuta a mutazioni nel gene che codifica per la distrofina, proteina che svolge un ruolo determinante per la stabilità meccanica della membrana durante la contrazione muscolare. Mutazioni a carico di questo gene causano l'assenza della distrofina a livello subsarcolemmale nelle fibre muscolari striate con conseguente degenerazione delle fibre muscolari stesse, attivazione di processi infiammatori cronici (mediati principalmente dalla citochina pro-infiammatoria TNF $\alpha$ ) e progressiva sostituzione del tessuto muscolare con adipociti e fibroblasti, innescando così il processo che porta alla formazione di fibrosi. Nella DMD, con la progressione della patologia, la capacità rigenerativa del muscolo si riduce e l'eccesso di fibrosi causa una grave riduzione della funzionalità muscolare. Tra le principali cause della ridotta aspettativa di vita dei pazienti DMD abbiamo sia la grave insufficienza respiratoria dovuta all'indebolimento del

diaframma che la cardiomiopatia dilatativa dovuta alla massiccia presenza di fibrosi TGF $\beta$ -dipendente a livello cardiaco. Dati generati nei nostri Laboratori dimostrano che Givinostat, un pan-inibitore delle istone-deacetilasi (HDAC) attualmente utilizzato in uno studio clinico di fase III per il trattamento della DMD, contrasta l'atrofia indotta dal TNF $\alpha$  nelle cellule muscolari scheletriche sane e suggerisce che un meccanismo simile possa aver luogo anche nelle cellule muscolari DMD. Inoltre, in due modelli murini di DMD abbiamo osservato sia la diminuzione di fibrosi che l'aumento delle cross sectional area (CSA) in seguito a trattamento con Givinostat. Analisi immunoistochimiche effettuate su biopsie muscolari di pazienti DMD evidenziano che Givinostat riduce l'infiammazione, la necrosi e la fibrosi nel tessuto muscolare e promuove l'accrescimento delle fibre muscolari, come evidenziato dall'aumento delle CSA dei miociti. Il processo fibrotico è coinvolto anche in altre patologie fibrodegenerative, come ad esempio nella fibrosi polmonare, nella fibrosi midollare, nella fibrosi cardiaca e nella sindrome da stress respiratorio acuto (ARDS). Nonostante gli organi interessati siano diversi, anche in queste patologie si va incontro a fibrosi come conseguenza alla risposta infiammatoria sistemica dell'organismo, caratterizzata dal rilascio di una grande quantità di citochine pro-infiammatorie (tra cui TNF $\alpha$ ), in seguito al danno dell'organo d'interesse. Sebbene approcci farmacologici possano ritardare parzialmente la progressione delle malattie fibrodegenerative, attualmente non esistono trattamenti definitivi per contrastarle. C'è quindi molto interesse nell'identificare nuovi bersagli terapeutici per contrastare la risposta infiammatoria cronica e ridurre la fibrosi.

**Obiettivi del progetto** In questo progetto ci proponiamo di:

- testare HDAC inibitori (tra cui Givinostat) potenzialmente efficaci nel trattamento della fibrosi, sia nel muscolo distrofico che in altri organi come il cuore (fibrosi cardiaca) o a livello polmonare come nell'ARDS e nella fibrosi polmonare e capirne meglio il meccanismo d'azione;
- monitorare i processi fibrotici e l'effetto farmacologico in vivo di inibitori di HDAC tramite tecniche di imaging sia nei modelli murini di DMD che nei modelli di malattie fibrodegenerative (ARDS, fibrosi polmonare, fibrosi cardiaca) messi a punto dai vari Gruppi di Ricerca del Dipartimento di Medicina e Chirurgia dell'Università di Milano-Bicocca.

**n.1 position reserved to employees of Rottapharm Biotech S.r.l., Experimental Neuroscience Curriculum related to reserach project**

*Improving nonclinical assessment of painkillers in multimodal analgesia therapies.*

**Profile**

Applications are invited from Rottapharm Biotech employees who have completed a Master's degree in Medicinal Biotechnologies. Candidates who have completed the aforementioned degrees abroad may also apply, if said degrees are recognized as equivalent to Italian degrees. The

knowledge of English language is a mandatory condition for all applicants. Additional competence and/or experience relevant to the choice of the candidate:

- 1) Master's thesis focused on the cloning, expression and biochemical evaluation of pharmacological relevant targets,
- 2) a solid laboratory experience and background in biochemistry.

#### **Project**

During the 3-year duration of this PhD program the candidate will have to participate in the educational activities (teaching courses) organized by the Doctoral School and by the Program with the aim to be credited with at least 8 ECTS (CFU according to the Italian definition). The distribution of the educational activities will be defined by the tutors according to the candidate expertise and research project needs. All the remaining activities will be performed at the Rottapharm Biotech Srl laboratories under the joint supervision of the tutors, with the only exception of activities connected with the research program or candidate education that the tutors indicate should be performed elsewhere. Current pharmacotherapy of acute and chronic pain is dominated by well-established drug classes such as narcotic analgesics, nonsteroidal anti-inflammatory agents, anticonvulsants and antidepressants. However, not all patients achieve meaningful pain relief. Opioids are still the drugs of choice for the treatment of many painful conditions, and morphine represents one of the most frequently prescribed drugs for this purpose. Despite the analgesic benefits of opioids in chronic pain, there are prospective disadvantages of using these substances long term. Tolerance, constipation, sedation, physical dependence and addiction are adverse effects that make the discovery of novel analgesics extremely important. Moreover, opioid prescriptions have escalated during the last decades, with consequent increases in public health spending and, regrettably, in opioid misuse, abuse and addiction. This trend also caused an increase in fatal adverse effects. Different clinical approaches are available to mitigate the risks, including limiting the prescribed opioid to the lowest effective dose for both acute and chronic pain. Researchers have proposed combination therapies of opioids and other analgesics as a considerable alternative (multimodal analgesia). The concept behind multimodal analgesia is to mitigate the unwanted effects of opioids by facilitating their use at the lowest effective doses. Potential benefits range from improved efficacy to a decrease in the safety risks associated with opioid use (adverse effects, tolerance, misuse, abuse, addiction).

A problem encountered in the attempt to set up the strategies for multimodal analgesia is the lack of suitable nonclinical models for studying spontaneous pain behaviors. Indeed, most of animal models of acute and chronic pain rely on the analysis of evoked pain behaviors (based on mechanical or thermal stimulation). This is a profound variance from what currently seen in humans: clinical pain is often self-reported by patients as spontaneous pain in the absence of overt stimulation. Therefore, the most important symptom of clinical pain is largely being ignored in nonclinical models. In this project, we would like to set up new nonclinical strategies for multimodal analgesia, i.e. by combining sub-threshold doses of opiates and new analgesics, using new paradigms for



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

evaluating their efficacy, testing spontaneous pain rather than evoked pain, and their safety (i.e. sedation, respiratory depression, addiction liability and so on).

**External training**

8CFU

Any mandatory examination



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA