

РЕЦЕНЗИЯ

от професор Радослав Александров Гърчев, дм, дмн
Ръководител на Катедрата по физиология, МФ, МУ-София

Относно: Обявен конкурс в ДВ бр. 82/03.10.2014 година за академичната длъжност
„ПРОФЕСОР“

към Институт по невробиология - БАН с кандидат
доцент **Росица Николова Замфирова-Митова, дб**

Със заповед на Директора на Институт по невробиология, БАН съм определен за член на научно жури по процедура за придобиване на академичната длъжност „професор“ обявена в Д.В. бр. 82/03.10.2014 г. за нуждите на направление „Биологични ефекти на природни и синтетични вещества“, в професионално направление 7.1. Медицина, научна специалност „Фармакология“.

На първото заседание на научното жури, което се състоя на 10.02.2015 година бях определен за официален рецензент по процедура за придобиване на академична длъжност „професор“ към направление „Биологични ефекти на природни и синтетични вещества“, Институт по невробиология, БАН.

На обявения в ДВ. бр. 82/03.10.2014 година конкурс за професор, единствен кандидат подал документи е доцент Росица Николова Замфирова-Митова, дб.

Към датата на издаване на документа за трудов стаж 04.11.2014 година, Росица Замфирова е служител на ИНБ от 26.01.1977 г. до настоящия момент и има общ трудов стаж 37 г., 9 м., и 7 дни, от които като биолог в ИФ от 26.01.1977 г. до 03.07.2007 г.; 30 г., 5 м., 7 дни и ст.н. с. II ст, доцент от 03.07.2007 г. до 03.11.2014 г.; 7 г., 04 м., 00 дни.

За конкурса доцент Росица Николова Замфирова-Митова, дб е представила всички необходими документи съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав и Правилника на Институт по невробиология - БАН за неговото прилагане.

Всички представени материали са прецизно описани и прегледно подредени.

Декларирам, че нямам общи публикации с доцент Росица Замфирова-Митова, дб.

Кратки биографични данни

Росица Николова Замфирова е завършила висше образование през 1976 година в Биологически Факултет на СУ „Св.Климент Охридски,, специалност „Биохимия и физиология на животните и човека“. През 1977 година постъпва на работа в Институт по физиология, БАН като специалист-биохимик. През 1994 година защитава дисертация на тема „Модулиращо действие на хистамина върху адренергичната невромедиация в гладки мускули,, и е присъдена научна степен „кандидат на биологическите науки,,. От 2007 година е ст.н.с. по научната специалност 03.01.24 Фармакология /вкл. Фармакокинетика и химиотерапия/. От 2008 година е ръководител на лаборатория Медиаторни механизми на лекарствените ефекти, ИНБ. От 2008 година е ръководител на направление „Биологични ефекти на природни и синтетични вещества“, ИНБ, БАН. Член е на научния съвет на ИНБ, БАН, както и заместник председател на този съвет.

Краткосрочни специализации и квалификационни курсове

През 1981/1982 година специализира в продължение на 11 месеца в Сегед, Унгария, Int. Res. Centre по тема „Модерни методи в биологията,, организиран от ЮНЕСКО.

През 1994/1995 година специализира във Флоренция, Италия, Dept. di Pharmacologia Preclinica e Clinica, Univ. di Firenze по програма TEMPUS (TEMPUS S_JEP- 07424-94) за усвояване на техниката на микродиализа в продължение на 6 месеца.

Научно-изследователска дейност

Пълният списък на публикуваните от доцент Росица Николова Замфирова-Митова, дб включва 49 статии. От тях 6 са включени в дисертацията за придобиване на образователната и научна степен „доктор“. Научните статии включени в конкурса за доцент са 28.

Доцент Росица Николова Замфирова-Митова, дб е представила за участие в конкурса за заемане на академичната длъжност „Професор“ списък на публикациите извън тези свързани академичното звание доцент. В този списък са включени публикуваните след хабилитирането статии – 15 на брой. Тринадесет от тези публикации са в престижни списания с импакт фактор. Общият импакт фактор на тези 13 статии е 20.66. В тези трудове доцент Замфирова е първи автор в пет публикации втори автор в три публикации.

Представени са и пет статии в сборници от научни конгреси, конференции и симпозиуми, извън свързаните с дисертацията и невяклучени в хабилитацията.

Разработваните теми са актуални, използвани са съвременни методи. Голяма част от научните резултати определено имат практическа стойност. Сътрудничеството със специалисти, които синтезират нови, неизвестни до сега пептиди е особено ползотворно. Получени са оригинални данни за биологичната активност на новосинтезирани пептиди.

За периода след нейното хабилитиране доцент Замфирова е участвала с публикувани резюмета на четири международни форума, на четири национални форума с международно участие и на три национални форума.

Доцент Росица Николова Замфирова-Митова, дб е представил списък от цитирания на нейни трудове за периода 2008-2014 година – след нейното хабилитиране. Общият брой цитирания е 96. Цитирани са общо 20 труда. Цитирани са публикации на доцент Замфирова в престижни международни списания с импакт фактор. Само четири от цитиранията са от български автори – в дисертация, в българско списание на английски език и в две чуждестранни списания. Останалите цитирания са от чуждестранни автори, публикували в престижни списания с импакт фактор.

Наукометричните показатели на доцент Росица Николова Замфирова-Митова, дб надхвърлят количествените критерии, предвидени в правилника на ИНБ - БАН за придобиване на академичната длъжност «професор».

Приноси на научните трудове на доц. Росица Николова Замфирова-Митова, дб

Изследвания върху ефектите и механизмите на действие на биологично-активни пептиди и техни производни.

Получени са оригинални данни за биологичната активност на серия от новосинтезирани аналози на **N/OFG(1-13)NH₂** с модификации в двата важни за активността на пептида центъра – *massage domain* (Phe1-Gly-Gly-Phe4) и *address domain*, включващ аминокиселините с положително заредена странична верига (Arg8,12, Lys9,13). За първи път е изследвана биологичната активност на серия N-модифицирани с аминокиселинна група новосинтезирани аналози на **N/OFG(1-13)NH₂**. Анализите, съдържащи аминокиселинни заместители с различни по големина пръстени (C5, C7, C8), свързани към Phe1, запазват селективността към ноцицептиновите рецептори. Свързването на аминокиселините с Gly2 (т.е. заместването на Phe1 с тях) е придружено от понижаване на активността и афинитета към ноцицептиновите рецептори от получените производни пептиди и поява на афинитет към класическите опиоидни рецептори. Проведените изследвания потвърждават значимостта на Phe1 за селективността и афинитета на пептида към рецептора. Получени са нови данни за биологичната активност на новосинтезирани пептиди, получени чрез модифициране на страничната верига на **N/OFG(1-13)NH₂**. Установено е, че скъсяването на страничната верига на Lys9 с 2 или 3 CH₂-групи (замяната на Lys9 с по-късоверижните DAB и DAP)

сnižава афинитета и ефикасността на новосинтезираните пептиди. Включването на структурния аналог на Arg - канаванин (Cav) на мястото на Lys9 или Lys13 променя в различна степен селективността на пептидите. [Cav9]N/OFQ(1-13)NH₂ активира предимно опиоидните рецептори, докато [Cav13]N/OFQ(1-13)NH₂ запазва в по-голяма степен афинитета към ноцицептиновите рецептори. Установено е, че структурните промени в позиция 9 предизвикват по-изразени промени в биологичната активност, което подсказва, че положително заредените странични вериги на Lys9 са по-важни за окупирването на рецептора от тези в позиция 13.

За първи път, върху електрически стимулиран vas deferens от плъх, е изследвана биологичната активност на новосинтезирани хексапептиди: Производни на Ac-RYYRWK-NH₂ (NOP рецепторен агонист), в който: аминокиселината Arg в позиция 1 е заменена с 1-[(метоксифосфоно) метиламино] циклоалканкарбоксилни киселини. Заместването на Arg1 в молекулата на Ac-RYYRWK-NH₂ с 1-[(метоксифосфоно) метиламино] циклоалканкарбоксилни киселини значително понижава афинитета на лигандите към NOP рецепторите. Увеличаване големината на пръстена (с 5-8 въглеродни атома) допълнително намалява активността и селективността на новосинтезираните хексапептиди към NOP рецепторите. Аминокиселината триптофан в позиция 5 е модифицирана с β2-триптофановите аналози (S)-2-(1-метил-1H-индол-3-ил)пропионов или (S)-2-(5-митокси-1H-индол-3-ил)пропионов. Присъствието на N-метил β2-триптофанова група в позиция 5 на Ac-RYYRWK-NH₂ променя селективността на изходния пептид - новосинтезираното съединение взаимодейства както с ноцицептиновите, така и с опиоидните рецептори. Присъствието на 5-метокси β2-триптофанова група в позиция 5 на Ac-RYYRWK-NH₂ променя напълно афинитета на референтния пептид – новосинтезираното съединение проявява нисък афинитет към ноцицептиновите рецептори и активира предимно опиоидните рецептори. Производни на Ac-RFMWMK-NH₂ (силен инхибитор на μ и κ опиоидните рецептори), в който намиращия се в позиция 4 триптофан беше заменен с новосинтезираните β2-триптофанови аналози (S)-2-(1-метил-1H-индол-3-ил)пропионов или (S)-2-(5-митокси-1H-индол-3-ил)пропионов. Присъствието на N-метил β2-триптофанов остатък в позиция 4 на Ac-RFMWMK-NH₂ не променя селективността на референтния пептид. Инкорпорирането на 5-метокси β2-триптофанов остатък в позиция 4 в Ac-RFMWMK-NH₂ "обръща" афинитета на съединенията – производното на μ-рецепторния антагонист показва свойства на слаб NOP рецепторен агонист. Тези изследвания показват, че не само мястото на модифициране, но и природата на инкорпорираната група водят до качествени промени в селективността и афинитета на хексапептидите.

N/OFQ(1-13)NH₂ и някои от новосинтезираните му аналози са изследвани за евентуална цитотоксичност (в невробластомни SH-SY5Y клетки, експресиращи орфанов опиоиден рецептор), както и за потенциална антиоксидантна активност (в химически системи, генериращи свободни радикали; в мозък и черен дроб на плъх). Доказано е, че пептидите със скъсена странична верига - [Dab9]N/OFQ(1-13)NH₂ и [Dap9]N/OFQ(1-13)NH₂ предизвикват клетъчно увреждане и намаляват преживяемостта на SH-SY5Y клетки, докато N/OFQ(1-13)NH₂ и [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂, макар и във високи концентрации, проявяват цитопротективен ефект. В сравнение с N/OFQ(1-13)NH₂ и [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂, структурните аналози [Dab9]N/OFQ(1-13)NH₂ и [Dap9]N/OFQ(1-13)NH₂ намаляват в по-слаба степен нивото на генерираните в химически системи свободни радикали (O₂- или .OH). В ин витро експерименти е показано, че тези структурни аналози променят антиоксидантния статус в плъши органи (повишават липидната пероксидация, намаляват нивото на глутатион). Установено е, че скъсяването на страничната верига в позиция 9 на N/OFQ(1-13)NH₂ води до появата на цитотоксичност и прооксидантно действие от новосинтезираните пептиди [Dab9]N/OFQ(1-13)NH₂ и [Dap9]N/OFQ(1-13)NH₂

За първи път са проведени системни ин виво изследвания, целящи да изяснят дали N/OFQ(1-13)NH₂ (или неговия структурен аналог [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂) не реализира противовъзпалително действие освен по невронален, и по свободно-радикален механизъм. Използван е модел на карагенан (CG)-предизвикано остро периферно възпаление, като пептидите са въвеждани i.p. (едновременно или 15 мин преди интраплантарното въвеждане на CG в дясната лапа на плъх). Доказано е, че: N/OFQ(1-13)NH₂ (въведен едновременно с CG) и [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂ (инжектиран 15 мин преди CG) потискат нарастването на едема в сравнение с контролната група (третирана само с CG). N/OFQ(1-13)NH₂ и [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂ не променят CG-предизвиканите промени в антиоксидантния статус в тъкан от лапа (намалено ниво на глутатион, понижена активност на супероксид дисмутаза и повишени активности на глутатион пероксидаза и глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа), независимо от начина на въвеждане на пептидите. N/OFQ(1-13)NH₂ и [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂ не променят CG-предизвиканите промени в антиоксидантния статус в еритроцити (повишена липидна пероксидация) и черен дроб на плъх (повишена липидна пероксидация и намалено ниво на глутатион), независимо от начина на въвеждане на пептидите. Получени са данни, показващи, че противовъзпалителното действие на N/OFQ(1-13)NH₂ и [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂ най-вероятно се осъществява предимно по неврогенен, а не по свободно-радикален механизъм.

Получени са оригинални данни за противовъзпалителното действие на един от новосинтезираните хексапептиди - HP3, в който Trp5 е заменен от (S)-2-(1-метил-1H-индол-3-ил)пропионова киселина - въведен 15 мин преди, или едновременно с CG при модел на остро периферно възпаление. Установено е, че HP3 има добър противовъзпалителен ефект, който се реализира чрез активиране и на ноцицептиновите и на опиоидните рецептори. Ефектът на HP3 (40 mg/kg), въведен едновременно с CG, 4 часа след началото на експеримента е съизмерим с този на индометацин (3 mg/kg). В сравнение с N/OFQ(1-13)NH₂ и [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂, структурните аналози [Dab9]N/OFQ(1-13)NH₂ и [Dap9]N/OFQ(1-13)NH₂ намаляват в по-слаба степен нивото на генерираните в химически системи свободни радикали (O₂⁻ или .OH). В ин витро експерименти е показано, че тези структурни аналози променят антиоксидантния статус в плъши органи (повишават липидната пероксидация, намаляват нивото на глутатион). Установено е, че скъсяването на страничната верига в позиция 9 на N/OFQ(1-13)NH₂ води до появата на цитотоксичност и прооксидантно действие от новосинтезираните пептиди [Dab9]N/OFQ(1-13)NH₂ и [Dap9]N/OFQ(1-13)NH₂.

Изследвана е и възможността за функционална връзка и общи звена в механизма на действие на канабиноиди и ноцицептин при остро CG-предизвикано възпаление. За първи път е доказано, че едновременното третиране на плъхове с CB1-рецепторен агонист (HU 210) и N/OFQ(1-13)NH₂ или [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂ не засилва противовъзпалителното действие на агонистите. Въведени след блокиране на CB1 рецепторите, изследваните пептиди N/OFQ(1-13)NH₂ и [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂ не проявяват противовъзпалително действие. Въведен след инхибиране на ноцицептиновите рецептори, CB1 агониста запазва противовъзпалителното си действие. Претретирането на животните с ванилоиден рецепторен инхибитор предотвратяват действието на канабиноидния агонист, но не променят ефекта на ноцицептиновите агонисти. Може да се предположи, че свободни или активирани CB1-рецептори са необходими за NOP-предизвиканото инхибиране на остро карагенан-предизвикано възпаление.

За първи път е изследвано антиноцицептивното действие на Tug-K-MIF-1 (невропептид от семейството на MIF, изолиран от мозъчна тъкан) при PP-тест на плъхове и възможното участието на хистаминергичната система в реализирането му. Доказано е, че: H1-блокът дифенхидрамин значително намалява противоболковото действие на Tug-K-

MIF-1, без да го премахва напълно H₂-антагонистът фамотидин доза-зависимо намалява противоболковото действие на T_{yr}-K-MIF-1. Едновременното блокиране на двата подтипа хистаминови рецептори, както и претретиране с H₃-агонист R-(α)-метилхистамин, предотвратява напълно появата на пептидното аналгетично действие. Получени са оригинални и убедителни данни, подкрепящи предположението, че предизвикания от T_{yr}-K-MIF-1 аналгетичен ефект се реализира с участието на хистаминергичната система.

Изследван е антиоксидантният капацитет на антидипресантите - дезипрамин и флуоксетин и на фосфодиестеразния инхибитор – пентоксифилин. Установено е, че и трите лекарствени средства показват добър антиоксидантен капацитет в химически системи, генериращи свободни радикали (O₂⁻, .OH). Получени са оригинални данни за противовъзпалително действие на дезипрамин и пентоксифилин при модел на остро периферно възпаление. Лекарствата в доза 50 mg/kg, въведени 30 мин преди CG, намаляват възпалителния оток на лапата. 24 часа след предизвикване на възпалението, тези лекарства частично възстановяват нивото на неензимния антиоксидант - глутатион (намалено от CG) в черен дроб. Това вероятно допринася за благоприятния им ефект при чернодробни нарушения, по-специално тези, предизвикани от възпалителни процеси. Установено е, че 14-дневно третиране на C57BL/6 мишки с флуоксетин (10 mg/kg/ден) предотвратява напълно оксидативния стрес, предизвикан в далак при развитието на меланома. Доказано е, че изследваните лекарствени средства притежават значима антиоксидантна активност, която е от значение за терапевтичния им ефект.

Приемам представените от Доцент Росица Николова Замфирова-Митова, дб приноси.

Учебно- преподавателска дейност

Доцент Замфирова е чела лекции и е водила семинари по основи на фармакологията в Биологическия факултет на СУ „Св.Климент Охридски“ през 2010 година.

Участие в проекти

Доцент Замфирова е участвала в седем проекта за периода 2007-2014 година. Четири от тях са с ФНИ, като на един от тях е била ръководител. Участвала е в проекти по ЕБР – два и в един проект с външно за БАН финансиране.

Ръководени докторанти, специализанти и дипломанти

Доцент Замфирова е била научен ръководител на един докторант и научен консултант на един докторант. Ръководила е работата и на един дипломант.

Друга научна дейност

Доц. Замфирова е подготвила рецензии на проекти финансирани от ФНИ, рецензии за списание «Доклади на БАН» и рецензии за списание "PHARMACOGNOSY MAGAZINE". Член е на етичната комисия на ИНБ. Член е на следните научни дружества: Българско фармакологично дружество, Българско дружество по невронауки, Българско пептидно дружество, Европейско пептидно дружество. Била е член на организационния комитет на 33-ти Европейски пептиден симпозиум.

Лични впечатления

Познавам Доцент Росица Николова Замфирова-Митова като упорит, последователен и изключително отговорен към професионалните си задължения учен. Отличава се със своето трудолюбие, отзивчивост и коректност.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доцент Росица Николова Замфирова-Митова, дб има богат професионален теоретичен и практически опит. Тя е задълбочен изследовател, с доказани теоретични и практически приноси. Разностранните й познания дават възможност да се изправи пред различни предизвикателства. Научната й дейност се отличава с индивидуалност и прецизност. Успешно сътрудничи с изследователи от други специалности. Тя умело координира работата на лабораторията и направлението при разработването на съвместни проекти с други научни институти от страната и чужбина.

Въз основа на високата научна значимост на научните трудове, получените значими научно-приложни приноси и отзвукът, който те са намерили в научната литература, считам, че доцент Росица Николова Замфирова-Митова, дб притежава всички качества да придобие академичната длъжност «Професор».

На основание на всички достойнства, характеризиращи Росица Николова Замфирова-Митова, дб, доцент към направление „Биологични ефекти на природни и синтетични вещества“, Институт по невробиология, БАН, убедено подкрепям присъждането й на академичната длъжност «Професор».

София 17.03.2015

Професор д-р Радослав Гърчев, дм, дмн

