

## РЕЦЕНЗИЯ

**От:** проф. д-р Ренета Тошкова, доктор, ИЕМПАМ-БАН, Член на Научно жури, назначено със Заповед № РД-15-62/ 26.05.2023 г. на Директора на ИЕМПАМ-БАН, гр. София

**Относно:** конкурс за избор на академичната длъжност „Доцент” по научна специалност "Имунология" (01.06.23) в Област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.3. Биологически науки, за нуждите на секция "Патология" в ИЕМПАМ-БАН, обявен в Държавен вестник - брой 38, стр. 79, от 28.04.2023 г.

Единствен кандидат за конкурса е д-р Росица Светолик Милчева, гл. асистент в секция „Патология“ при ИЕМПАМ-БАН. Представените документи на хартиен и електронен носител са много добре систематизирани, отговарят на изискванията на ЗРАСРБ, на ППЗРАСРБ и Правилника на БАН и ИЕМПАМ-БАН, и съдържат всички приложими материали.

### **Биографични данни и кариерен профил на кандидата**

Д-р Росица Светолик Милчева е родена в град София. Завършва Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски", като магистър по Молекулярна биология през 2002 г. От 2002 г. работи в Института по експериментална патология и паразитология (ИЕПП) на БАН като специалист, а през 2005 е избрана за научен сътрудник. В периода 2010 г - 2014 г. заема академичната длъжност асистент и от 2014г - до момента е главен асистент в секция „Патология" при ИЕМПАМ-БАН. В периода 2007 г. - 2011 г. е докторант в катедра „Патология" на Медицински факултет към Университет „Коменски“ в Братислава, Словакия. През 2011 г. получава ОНС „Доктор“ след защита на дисертационен труд на тема „Механизми на апоптозата в скелетна мускулатура след инвазия с *Trichinella spiralis* (Mechanisms of apoptosis in striated muscle fiber after invasion by *Trichinella spiralis*). Д-р Милчева специализира трикратно (2006г, 2007г и 2008г) в Медицински факултет на Университета „Коменски“ в Братислава, Словакия Република. Други специализации в чужбина са: в Центъра за Гликобиология към Имперския колеж в Лондон, Университета на Уелс в Абъристуит и Института по молекулярни бионауки към Университет „Карл Франц“ в Грац, Австрия. Всички специализации допринасят за развитието и като учен-изследовател в областта на имунологията, биохимията и клетъчната биология. Общата и научна продукция включва 29 научни статии, 21 от които, публикувани в списания индексирани в WoS/Scopus, общ брой цитирания - 74 и h-индекс 5 (Scopus).



## **Описание на представените научни публикации по конкурса**

В конкурса д-р Росица Светолик Милчева участва с Автореферат на дисертационен труд и 19 статии, които не повтарят представените за придобиване на ОНС „Доктор“ и конкурса за главен асистент. Всички научни статии са публикувани в издания индексирани от Web of Science и/или SCOPUS и притежават импакт фактор (общ ИФ 24.242), включващи международни списания като: Gels, Acta Histochemica, Materials Science and Engineering, Open Life Sciences, Parasitology Research, Biologia, Acta Parasitologica, Helminthologia, Folia Parasitologica. Статиите могат да бъдат групирани по квартали, както следва: 4 статии с Q1; 3 статии с Q2; 10 статии с Q3; 2 статии с Q4 (съгласно Web of Science и SCOPUS). От всички представени за конкурса статии, 15 са публикувани в Web of Science и Scopus след избирането ѝ за главен асистент. Личният принос на кандидатката е неоспорим – в 10 публикации, е първи автор, в 2 - втори автор, в 3 – трети. Научните проучвания са осъществени в резултат на успешно изпълнени интердисциплинарни национални и международни проекти. Д-р Росица Светолик Милчева е ръководител на 2 и участник в 1 научни проекта, финансирани от ФНИ. Участник е в 2 проекта по ЕБР на БАН с Латвийската академия на науките и е ръководител на 1 текущ проект по двустранното сътрудничество на БАН със Словашката академия на науките. Участвала е в проект, финансиран по Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“ за подкрепа развитието на докторанти, постдокторанти и млади учени.

В проучванията си д-р Милчева демонстрира богат методичен опит като използва широк кръг от класически и съвременни научни подходи - лектинова и имунохистохимия, едно- и двумерационална електрофореза, уестърн и лектинов блот, флуоцитометрия, клетъчно култивиране, анализ на клетъчна смърт (AnnexinV/PI и TUNEL тестове), RT-PCR, realtime PCR, анализ на генна експресия, статистически анализи и др. Резултатите от научната и продукцията са станали достояние на научната общност с 16 доклада и 6 постера в 22 научни форума, от които 12 са международни. Представен е списък с 32 цитирания на 9 статии в база данни Web of Science и Scopus, от които 24 след заемане на длъжността главен асистент.

## **Оценка на научно-изследователската и научно-приложната дейност на кандидата (приноси)**

Научноизследователската дейност на д-р Росица Милчева отговаря на профила на конкурса. Приносите от постигнатите резултати са фокусирани в областта на имунологията, биохимията, клетъчната и молекулярна биология, и експерименталната патология и са детайлно отразени в приложената към



документите на конкурса “авторска справка”. Най-съществените от тях са свързани с *in vivo* и *in vitro* изследване на имунологични, морфологични, генетични, биохимични и функционални промени в експериментален тъканен модел на Поддържаща клетка „Nurse cell“, образувана в участък от мускулно влакно (клетка) на напречно-набраздената мускулна тъкан след инвазия с паразитния нематод *Trichinella spiralis* и цялостно изясняване на взаимоотношенията паразит - гостоприемник и модулирането на имунния отговор на гостоприемника.

В хода на проведените проучвания са постигнати **Приноси с фундаментален и научно-приложен характер**, систематизирани както следва:

1. Охарактеризирани са промените в гликозилирането през различните стадии от развитието на нематоди от род *Trichinella*, които допринасят за изясняване на взаимоотношенията паразит - гостоприемник и модулирането на имунния отговор на гостоприемника от *Trichinella spiralis*. Получените резултати са с потенциал за приложение в борбата с алергии, автоимунни и злокачествени заболявания.

2. Проучени са механизмите на апоптоза като средство за адаптация на *Trichinella* и изграждането на ефективна ниша на обитание в напречно-набраздената мускулна тъкан. Резултатите изясняват част от механизмите на потискане и избягване на имунния отговор на заразявания с *Trichinella* гостоприемник.

3. Изследвани са механизмите на апоптоза по време на чревната фаза на заразяване с *Trichinella*. Установено е, че инвазията на стомашно-чревния тракт с *Trichinella* не се асоциира с механизми на апоптоза, а с модуляция на възпалението като част от имунния отговор на гостоприемника.

4. Установено е, че серумните нива на сиалова киселина са надежден диагностичен маркер за възпаление, като част от неспецифичния имунен отговор на гостоприемника при експериментална инвазия с *Trichinella spiralis* на плъх (*Rattus norvegicus*), както и индикатор за възпаление при кожна инфекция.

5. Установена е повишена регулация на два ядрени протеина поли-(АДФ-рибоза) полимераза 1 (PARP-1) и ядрен антиген на клетъчна пролиферация (PCNA) в процеса на трансформация на инвазирана напречно-набраздена мускулна клетка в Поддържаща клетка на *T. spiralis*. Доказано е, че процесът на трансформация е свързан с ядрена локализация на протеините апоптоза-индуциращ фактор (AIF), Bcl-2 асоцииран протеин X (BAX) и каспаза-3, които в норма се намират в клетъчната цитоплазма. Установена е ядрена локализация на екскреторно-секреторни протеини на *T. spiralis*. Резултатите доказват високата адаптивност на паразита и способност на *T. spiralis* да регулира вътреклетъчните системи в напречно-набраздената мускулна тъкан, и допринасят за по-доброто разбиране на взаимоотношенията гостоприемник-паразит.



6. Установено е, че инвазията на напречно-набраздена мускулна тъкан с *T. spiralis* и процесът на локална де-диференциация на засегнатия участък от мускулната клетка в Поддържаща клетка са свързани с повишена вътреклетъчна биосинтеза на  $\alpha$ -2,3- и  $\alpha$ -2,6-сиалилирани гликопротеини. Доказано е, че  $\alpha$ -2,3-сиалилирането в Поддържащата клетка е резултат от повишена експресия на ензима  $\beta$ -галактозид  $\alpha$ -2,3-сиалилтрансфераза 6. Постоянна характеристика на всички етапи на Поддържащата клетка на *T. spiralis* е и повишената експресия на  $\alpha$ -дистрогликан и на ензима УДФ-Н-ацетилглюкозамин 2-епимераза/Н-ацетилманозамин (ГНЕ). Също така, ранният етап от де-диференция на засегнатата напречно-набраздена мускулна клетка в Поддържаща клетка на *T. spiralis* е свързан с експресия *de novo* на ензима Н-ацетилгалактозаминил- $\alpha$ -2,6-сиалилтрансфераза 1, който не е характерен за този вид тъкан. Тези изследвания са с медицинско значение и актуалност и допринасят за по-детайлно описание на гликозилирането, за по-доброто разбиране на адаптивните способности на напречно-набраздената мускулна тъкан, което има отношение към лечението на наследствени и вродени миопатии, свързани с дефекти в биосинтетичния гликозилиращ апарат.

7. Иновативно и оригинално е изследването, в което е установено, че мускулната фаза на заразяване с *T. spiralis* и де-диференцирането на засегнатите участъци от напречно-набраздената мускулна тъкан в Поддържащи клетка на паразитния нематод протича със силно завишена протеинова и РНК-експресия на белтъка дистрофин. Този белтък е част от дистрофин-гликопротеин асоцииран комплекс, с важно значение за поддържане на целостта на мускулните клетки при съкращение, и неправилната му биосинтеза, (поради генетичен дефект) води до развитието на прогресивни заболявания известни като мускулни дистрофии.

8. Важен момент в изследванията е направената пълна и обновения характеристика на генната експресия на ензими от три семейства сиалилтрансферази, със субстратна специфичност гликопротеини, в напречно-набраздена мускулна тъкан в модели *in vivo* (на мишка - *Mus musculus*) и *in vitro* (миша клетъчна линия С2С12). Изследването доказва разликите в експресиите на всеки ензим от трите семейства сиалилтрансферази и изяснява възможността клетъчната линия С2С12 да замени използването на лабораторни животни за анализи, както и потенциалът и за приложение в областта на онкологичните заболявания.

9. Оригинални са изследванията с микотоксините Фумонизин В1 (FB1) и деоксиниваленол (DON) относно влиянието им върху имунната система на пилета и ефекта им *in vitro* върху перманентни клетъчни линии. Установено е, че приложени в естествени концентрации (съдържащи се във фуража) и особено комбинирането им повлияват броя и функцията на лимфоцитите (пролиферативна активност, митогенен отговор), макрофагите, структурата на имунните органи и имунния статус и здравето на домашните птици, с възможен неблагоприятен



икономически ефект. В опити *in vitro*, микотоксините приложени в ниски концентрации имат изразен антипролиферативен и цитотоксичен ефект върху различни клетъчни линии (BALB/c 3T3, DEC 99, MDA-MB-231, MCF-7 и HeLa клетки).

10. Доказано е, че метакарн фиксаторът запазва морфологията, протеиновата имунореактивност и целостта на РНК на тъкани, включени в парафин много по-ефективно в сравнение с традиционно използвания формалдехфид. Тези свойства го определят като най-подходящ фиксатор при морфологични и имунохистохимични изследвания, и анализи на генна експресия, провеждани върху парафинови тъканни срези и редуцира броя на използваните лабораторни животни.

Друг важен акцент в научните изследвания на кандидата е в областта на нанотехнологията.

11. Разработени са нови антибиофилмни покрития, на основата на наночастици от цинков оксид (ZnO NPs), конюгирани с ензима амилаза (разграждащ матрицата на биофилма) и са нанесени върху силиконови уринарни катетри. Изследвани са антимикробните свойства на тези частици в 7 дневен модел при заек (*Oryctolagus cuniculus*). Резултатите от клиничните, хематологичните и хистологичните изследвания на органите на отделителната система показват, че нанофункционализацията на катетри с хибридни ZnO/AM покрития са обещаваща стратегия за превенция и контрол на свързаните с катетър уринарни инфекции в клиниката.

12. Друг принос на кандидата е характеризиране на нов тип синтезирана интерпенетрираща полимерна мрежа - хидрогел (ИПМ, от interpenetrating polymer network, IPN) на основата на поли (карбоксибетаин) метакрилат и поли (сулфобетаин) метакрилат. Демонстрирана е способността на ИПМ хидрогела да променя обема си под влияние на външни стимули, характерни за живите системи (температура, рН и концентрация на соли); добра механична стабилност, липса на цитотоксичност и антибактериална активност спрямо *Pseudomonas Aeruginosa*, *Acinetobacter Baumannii* и *Klebsiella Pneumoniae* и отлична *in vivo* биосъвместимост. С тези характеристики, хидрогела ИПМ е уникален биоматериал, с потенциал за приложение в областта на медицината, фармацията и изработката на интелигентни материали, при производството на сензорни устройства.

**Оценка на съответствие на показателите на кандидата спрямо минималните национални изисквания съгласно Приложение 1 от Правилника за прилагане на ЗРАСРБ**

Таблично представените доказателства за изпълнение на минималните национални изисквания и изискванията на правилника на БАН и ИЕМПАМ-БАН, вярно отразяват събрания брой точки. В детайли е представено отделно сумиране



на точките за всеки критерий. Точковата оценка може да бъде обобщена в таблица по следния начин:

<b>Таблица - Минимални изисквани точки по група показатели съобразно ЗРАСРБ и правилника за приложението му, както и съобразено с критериите на БАН и ИЕМПАМ-БАН</b>		
<b>Показател</b>	<b>Изискуем минимален брой точки</b>	<b>Брой точки на кандидата, на база представени доказателства</b>
А	50	50 дисертация Доктор
Б	-	-
В	100 по ППЗРАСРБ и правилника на ИЕМПАМ-БАН	100, получени от 5 реферирани публикации, с импакт фактор (Scopus): 2 x Q1 = 50 1 x Q2 = 20 2 x Q3 = 30
Г	220 по ППЗРАСРБ и правилника на ИЕМПАМ-БАН	234, получени от 14 реферирани публикации с импакт фактор (Scopus): 2 x Q1 = 50 2 x Q2 = 40 8 x Q3 = 120 2 x Q4 = 24
Д	60 по ППЗРАСРБ и правилника на ИЕМПАМ-БАН	64, получени от 32 цитата в чуждестранни реферирани публикации 32 x 2 = 64
<b>Минимален общ брой точки по показатели А, В, Г и Д</b>	430	<b>448 общ брой точки по показатели А, В, Г и Д на кандидата</b>

Анализът на количествените критерии показва, че д-р Росица Милчева покрива минималните изисквания за всяка от групите (А-Д), като по показатели „Г“ и „Д“ ги надвишава и напълно отговаря на изискванията на правилника на ИЕМПАМ-БАН, както и на националните изисквания съгласно ППЗРАСРБ

#### **Лични впечатления от кандидата и професионални награди**

Познавам д-р Милчева от назначаването и в Института. Тя е трудолюбив и целенасочен учен, отлично подготвен специалист в областта на имунологията, клетъчната биология и биохимия. Притежава добри организационни умения,



доказала е способност за самостоятелна и екипна работа и с готовност приема решаването на нови предизвикателства. Д-р Милчева има присъдени три награди и две грамоти (най-добра публикация на млад учен в ИЕПП-БАН, ръководител на проект със значимо проектно финансиране в ИЕМПАМ, най-добра презентация на международен форум), което доказва отлично и високо ниво на професионална подготовка.

### **Заклучение**

Научно-изследователската дейност на гл. ас. д-р Росица Светолик Милчева е изцяло в областта на обявения конкурс и покрива напълно всички количествени и качествени критерии за присъждане на научното звание „Доцент“ съгласно изискванията на ЗРАСРБ, и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в БАН и ИЕМПАМ-БАН. Голяма част от изследванията са публикувани в реномирани международни списания с импакт фактор и импакт ранг, цитирани са многократно, което доказва международна разпознаваемост на научната и продукцията. Получени са оригинални резултати с безспорен фундаментален, методологичен и научно-приложен приносен характер в медико-биологичен аспект и с възможност за прилагане в медицинската практика. Вярвам, че академичното израстване на д-р Милчева ще отвори пред нея нови хоризонти и ще и позволи да споделя знания и опит, и да разгърне пълния си потенциал на ерудирани изследовател за по-нататъшното развитие на научното направление - имунология в Института.

Въз основа на гореизложеното давам давам положителна и висока оценка на цялостната научно-изследователска дейност на кандидатката и убедено предлагам на членовете на Научното жури и почитаемия Научен съвет на ИЕМПАМ-БАН да избере гл. ас. д-р Росица Светолик Милчева на академичната длъжност „Доцент“ по Научна специалност "Имунология" (01.06.23), в Област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.3. Биологически науки за нуждите на секция „Патология" при ИЕМПАМ-БАН.

04.09.2023г.

София

подпис:



проф. д-р Ренета Тошкова, доктор