

1о Председателя на научното жури,
назначено със заповед № 2381/28..07. 2026 г
но Ректора на МУ- Плевен

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Иванка Илиева Костадинова, дм,

по процедурно за придобиване на ОНС „Доктор“ по професионално направление 7.1. Медицина,
по докторска програма „Фармакология“ /вкл. Фармакокинетика и химиотерапия//
за дисертационен труд „Ефекти на U-74389G в експериментални модели на белодробна фиброза
и колит при плъхове“

на д-р Пламен Красимиров Кръстев, докторант на самостоятелна подготовка,
с научни ръководители: проф. д-р Галя Цветанова Ставрева- Маринова

доц. д-р Виолета Йорданова Данчева, дм,

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Със заповед №2381/28.07.2026г. година на проф. д-р Д. Димитров, дм,, Ректор на МУ-
Плевен съм включена в състава на научно жури по процедура за защита на дисертационен труд
„Ефекти на U-74389G в експериментални модели на белодробна фиброза и колит при плъхове
“ на д-р Пламен Красимиров Кръстев за придобиване на ОНС „Доктор“.

Представеният комплект материали на електронен носител е в съответствие със Закона за
развитие на академичния състав в Република България и Правилника за неговото приложение и
критериите за придобиване на академични длъжности и научни степени на МУ-Плевен и включва
всички изискуемши документи. Д-р Кръстев е посочил 3 публикации по темата на
дисертациония труд. Документите са подредени коректно и точно. Това улеснява членовете на
журито при проследяване на проведената процедура за присъждане на ОНС „Доктор“. Оценявам
положително сериозното отношение на д-р Кръстев и научните му ръководители към всички
етапи на провежданата процедура. Няма нарушения на процедурата. Декларирам, че нямам общи
трудовете с докторанта

2. Кратки биографични данни

През 1987 година д-р Кръстев завършва математическа гимназия в Плевен. През 2002 година придобива магистърска степен по финанси, икономист във Великотърновския университет. През 1995 година завършва медицина в Медицински Университет Плевен. Има две специалности: Авиационна медицина през 2000 година и Обща медицина през 2004 година.

Д-р Кръстев е началник на медицинска служба на поделение 38960 село Тепиш от октомври 1996 година до юли 2002 година. От юли 2002 година до юни 2005 година е лекар ординатор в медицински пункт на УБ „Христо Ботев“ Плевен. От юни 2005 година до май 2007 година той е заместник началник на медицински пункт поделение 24870 село Каменец. От юни 2007 година до март 2015 година е замесник началник на медицински пункт на военно формирование 52090, Долна Митрополия. От септември 2015 година е асистент в катедрата по Фармакология на МУ Плевен, в момента е преподавател към същата катедра. Владее отлично писмено и говоримо руски и английски език. За повишаване на квалификацията си е провел различни обучения: “Здравен мениджмънт за ръководители на лечебни заведения”, “**Captain’s Career Course**” (Курс за кариерно развитие на висшите медицински кадри във въоръжените сили на САЩ) – във военните бази “Lackland AFB” и “Fort Sam Houston” в град Сан Антонио, Тексас, от 02.2010 до 09.2010. Притежава компютърни умения и дизайнерски такива.

Дисертационният труд на д-р Пламен Кръстев съдържа 156 страници. При конструиране на дисертационния труд са спазени изискванията на МУ- Плевен за присъждане на ОНС „Доктор“: съкращения – 3 стр., въведение – 2 стр., литературен обзор – 49 страници, цел, задачи, материал и методи – 12 страни, резултати и обсъждане – 63 страници, изводи 2 страници, приноси – 1 страница, библиография -17 страници. Работата е онагледена с 53 фигури и 9 таблици. Книгописът към дисертационния труд съдържа 385 източника- 3 на кирилица и 382 на латиница. Д-р Кръстев е представил по темата на дисертацията 2 статии в реферирани база данни (Scopus и Web of science) - 30 точки и 1 публикация в нереферирани с научно рецензиране или публикации в редактирани колективни томовете – 10 точки, При изикуеми по минимални изисквания за ОНС „Доктор“ 30 точки, докторантът е посочил 45 точки.

Темата на дисертационния труд е актуална. Свързана е със социално значим проблем интерстициална белодробна болест, белодробна фиброза и възпалителни заболявания на червата. Това са заболявания, които влошават качеството на живот на пациентите, трудно се диагностицират и лекуват. В терапията им се проучват различни лекарствени препарати. Според Мавсн А.Алтобиани и съавтори (2024 година) интерстициалната белодробна болест може да се дължи на излагане на алергени, работа с опасни материали, лекарства или основно автоимунно

заоляване. генетични фактори на индивида, излагане на замърсители на околната среда. Проучване на 467685 пациента, диагностицирани с рак и лекувани с антинеопластични лекарства между 2017 и 2022 година показва, че при 23-51% от случаите интерстициалната белодробна фиброза е причинена от блеомицин, еферолимус, ерлотинит, трастузумаб, дерукстекан и имунни контролни инхибитори. Идиопатичната белодробна фиброза е най-агресивната форма на интерстициална белодробна фиброза, причиняваща прогресивно и трайно белодробно увреждане. Тя причинява хронично и необратимо белодробно заболяване с лоша прогноза, като средната преживяемост е 3–5 години след поставяне на диагнозата, ако не се лекува. Въпреки че две антифибротични лекарства значително намаляват скоростта на прогресия на заболяването, остава трудно да се предскаже развитието на заболяването при отделните пациенти. Най-тежката и често срещана идиопатична форма е идиопатичната белодробна фиброза (ИПФ), която представлява ~50% от всички докладвани ИИП, за които няма лечение. Значителната вариабилност, наблюдавана сред пациентите, затруднява прогнозирането на индивидуалния резултат. Някои пациенти с идиопатична белодробна фиброза (ИБФ) изпитват бърза прогресия, а други - бавна. Систематичен преглед предполага, че гастроэзофагеалната рефлуксна болест (ГЕРБ) е свързана с ИБФ Това обстоятелство определя и дизайна на дисертацията. По-конкретно, рискът от развитие на идиопатична фиброза на белите дробове (ИФБ) е 1,5–2 пъти по-висок при мъжете, отколкото при жените. Стареенето е рисков фактор за интерстициални белодробни заболявания (ИБЗ), като се наблюдава значително увеличение на честотата сред по-възрастните хора. Тази тенденция е особено очевидна при идиопатична белодробна фиброза (ИБФ), където заболяването засяга предимно хора над 65-годишна възраст

Интерстициалното заболяване на белите дробове (ИБД) е нарастващ глобален здравен проблем, с увеличение от 86% на смъртността, свързана с ИБД и се очаква да представлява 0,26% от общата смъртност през 2027 г. в света. Неотдавнашно проучване установи, че разпространението на (ИБД) варира от 6,3 до 71 на 100 000 души, а честотата на ILD варира от 1 до 31,5 на 100 000 души годишно. Друго проучване от Франция съобщава за разпространение от 97,9 на 100 000 и заболяемост от 19,4 на 100 000 за човек годишно . Британската фондация за бели дробове оцени честотата на идиопатична белодробна фиброза (ИБФ) на около 50 на 100 000 души годишно в Обединеното кралство.

Точната етиология на улцерозния колит (УК) е неизвестна, но заболяването изглежда е многофакторно и полигенно. Предполагаемите причини включват фактори на околната среда,

имунна дисфункция и вероятна генетична предразположеност. Някои предполагат, че децата с тегло при раждане под средното, родени от майки с УК, са с по-голям риск от развитие на заболяването. При повечето пациенти с улцерозен колит (УК) се идентифицира човешки левкоцитен антиген (HLA)-B27, въпреки че това откритие не е причинно-следствено свързано със състоянието и откриването на HLA-B27 не предполага значително повишен риск от УК. УК може да бъде повлиян и от диетата, въпреки че се смята, че диетата играе второстепенна роля. Хранителните или бактериалните антигени могат да окажат влияние върху вече увредената лигавица, която има повишена пропускливост. Улцерозният колит е хронично възпалително заболяване на червата с глобално разпространение, оценено на 5 милиона случая през 2023 г., като честотата варира от 0,5 до 24,5 на 100 000 души годишно. Заболяването е най-често срещано в Северна Европа и Северна Америка, където разпространението в Съединените щати е приблизително от 378 до 721 на 100 000 (засягайки ~2,4–2,7 милиона американци), а най-високите нива са сред белите, които не са испанци, и тези от ашкеназки еврейски произход.

Епидемиологичните тенденции показват, че докато честотата се е стабилизирала или е намаляла в много страни с високи доходи, тя се увеличава рязко в страните с ниски и средни доходи, особено в Азия. Рисковите фактори включват западен начин на живот, градски живот без тютюнев дим, докато тютюнопушенето е свързано с по-нисък риск от развитие на заболяването и по-леки клинични резултати. **Систематичен преглед на литературата от 2014 до 2025 за епидемиологията на улцерозния колит от януари 2024 година** с включени са общо 197 проучвания: 177 кохортни (проспективни или ретроспективни), 13 с напречно сечение, 4 с контрола на случаите, 1 структурирано проучване и 2 с неопределен дизайн. Честотата (на 100 000 човеко-години) варира в световен мащаб от 1,16 в Тайван до 57 в Дания. Тайван в Азия отчита най-ниската честота (1,16), следван от Бразилия (1,34), Испания (2,37), Израел (15,80), Канада (12,90), Южна Корея (29,71) и Дания (57,00). Данните от надлъжното проучване от Италия, Испания и Дания показват възходящи тенденции, като честотата в Испания се е увеличила повече от два пъти за 30 години. Разпространението (на 100 000 човеко-години) варира от 11,00 в Китай до 397,0 в Дания. Най-ниските нива са наблюдавани в Китай (11,00) и Бразилия (11,90), следвани от Испания (36,60), Съединените щати (159,50), Южна Корея (334,00) и Дания (397,00). Честотата и разпространението на улцерозен колит (УК) варират значително в различните региони, като най-високата тежест се наблюдава в Европа, Северна Америка и Южна Корея. Хората с ВЧЗ боледуват по-често и от сърдечно-съдови заболявания, заболявания на дихателната система, заболявания на бъбреците и черния дроб, злокачествени заболявания. Няма етиологично лечение на ВЧЗ.

Патогенетичното лечение е скъпоструващо. Продължителното лечение е свързано с потенциален риск от нежелани лекарствени реакции. Нарастващата глобална тенденция на повишаване на заболяемостта от интерстициална белодробна фиброза и възпалителни заболявания на червата подчертава необходимостта от засилено наблюдение, оптимизирани стратегии за управление и разширени изследвания за справяне с този нарастващ проблем за общественото здраве.

Във въведението д-р Кръстев разглежда въпросите, свързани с изучаването на фармакологични ефекти на лазароид, посочва актуалността на проблема. В литературния обзор докторантът представя световните научни постижения по темата на дисертационния труд. Литературният обзор е разделен на три части: лазароид U-74389G, белодробна фиброза, възпалителни заболявания на червата. В първата част на обзора задълбочено и подробно са описани химическата структура, механизъм на действие, фармакокинетика и токсичност, фармакологични свойства и ефекти на U-74389G в експериментални и клинични проучвания. Разгледани са противовъзпалителните ефекти на съединението и механизма на противовъзпалително действие. Направено е сравнение с фармакологичните свойства и ефекти на метилпреднизолон като са обсъдени различията между тях. Във втората част на литературния обзор подробно е обсъдена етиология, честотата на идиопатичната белодробна фиброза, интерстициална белодробна болест, фиброзен хроничен свръхчувствителен пневмонит. Разгледана е патогенезата на белодробната фиброза и ролята на реактивни кислородни видове в развитието ѝ. Интерес представлява индуцирана от лекарства интерстициална белодробна болест и хистопатологичните модели на интерстициална пневмония. Подробно са разгледани лекарствата, които причиняват белодробна фиброза и механизмите на увреждане на белодробната тъкан: амиодарон, химиотерапевтични средства, нитрофурантоин, антиревматични средства, метотрексат. **Биологичните агенти** са все по-честа причина за DI-ILD, а **тумор некрозис фактор (TNF) инхибиторите** представляват най-честите причинители на ILD. Механизмът на белодробно увреждането е неизвестно, но може да бъде свързано с масивно освобождаване на цитокини от лизирани неопластични клетки. Обсъдено е лечение на идиопатична белодробна фиброза. В обзор:а много добре са описани моделите на белодробна фиброза. Разгледани са хуманизирани модели на белодробна фиброза, двуизмерни клетъчна модели, които се използват за изследване на клетъчно поведение и потенциални съединения, които да се използват в терапевтичния план на лечение на белодробната фиброза. За оценяване на нови лечения се използват Precisim-Cut Lung Slices, 3D биоинженерни модели, които са полезни за отчитане на ефикасността и тестване на антифиброзни лекарства. В третата част на обзора са разгледани

възпалителните заболявания на червата (ВЧЗ): улцерозен колит (УК) и болест на Крон (БК). Обсъдена е честотата и разпространението на ВЧЗ, етиологията и патогенезата на тези заболявания.. Описана е ролята на генетичните фактори. Отчита се, че ВЧЗ се среща при повечето пациенти с полигенно разстройство. Разгледана е ролята на чревната микрофлора в патогенезата на ВЧЗ. Разгледани са вроден и адаптивен имунитет при ВЧЗ, както и техните особености. При ВЧЗ увредата води до неконтролирано възпаление. ВЧЗ е свързано с неадекватна имунна и епителна реакция към микробиома поради секреция на възпалителни медиатори водещи до активиране на CD4+ и CD8+ Т клетки в епитела, секретирани огромни количества възпалителни цитокини спрямо противовъзпалителните цитокини. Обсъдена е ролята на автофагията в развитието на възпалителни заболявания на червата. Автофагията участва във вътреклетъчната хомеостаза, като допринася за разграждането и рециклирането на цитозолно съдържание и органели и устойчивост срещу инфекции и вътреклетъчни микроби. Състоянието на редукция и окисление на червата зависи от равновесието между оксиданти, като свободни радикали, реактивни кислородни видове (ROS) или реактивни азотни видове (RNS) от една страна и антиоксидантни механизми като глутатион пероксидазата (GPX) и глутатион S-трансфераза ензими. Подрбно са обсъдени патофизиологията и хистопатологията при възпалителна заболявания на червата. Описана е ключовата роля на чревната имунна система за патогенезата на възпалителното заболяване на червата . Възпалителните заболявания на червата са хронични възпалителни заболявания на стомашно-чревния тракт със сложна етиология, включваща генетични, имунологични и фактори на околната среда. Мултифакторната характеристика на тези заболявания е използвана при разработване на различни животински модели за изследване на основните механизми и разработване на потенциални терапевтични стратегии. Подрбно са класифицирани и описани различните модели на възпалителни заболявания на червата: химически индуцирани модели, адаптивен Т-клетъчен модел, генетично конструиран експериментален модел, IL-10 Knockout модел (модел на елиминиране на IL-10), модели на мишки със спонтанна мутация. SAMP1/YitFc колит, микробиом-индуцирани модели на мишки. Задълбочено са обсъдени и ограниченията за използване на тези модели. Тези данни, които могат да се използват при избор на дизайн на следващи експериментални изследвания. Обсъдените данни от достъпната литература подчертават необходимостта от проучвания на фармакологичните ефекти на нови синтезирани съединения за подобряване на качеството на живот на болните и намаляване на смъртността от социално значими заболявания като ВЧЗ и интерстициална белодробна болест.

Представените данни в литературния обзор доказват, че д-р Кръстев познава много добре литературата по темата на дисертацията, Аналитично и компетентно Пламен Кръстев обсъжда нерешените проблеми като използва данни от достъпната му литература по темата на дисертационния труд. Докторантът е направил обширна литературна справка. Проследяването на въпросите, поставени в дисертационния труд за продължителен период от време му помагат да изгради собствено мнение, съвместно с научните си ръководители да прецени необходимостта от допълнителни изследвания, които не са правени до момента. В дисертационния си труд д-р Кръстев поставя за разглеждане дискуссионни въпроси, изказва собствено мнение, обосновава аргументирано избора на избраните дози, използвани в експериментите. Последователно и подробно разглежда основните въпроси, свързани с темата на дисертационния труд. В заключението към обзора Кръстев аргументира избора на двата модела на хронично възпаление патологично различни, но свързани с оксидативен стрес амиодарон-индуцирана белодробна токсичност и DNBS-индуциран колит при плъхове. Изборът на тези два модела е продиктуван от клиничната им релевантност, доброто им охарактеризиране в литературата и факта, че и двата обединяват интензивен оксидативен стрес с провъзпалителен отговор, именно спектърът от действие, за който U-74389G е теоретично обоснован протектор. Резултатите от настоящия труд могат да се използват за определяне на терапевтичния потенциал на U-74389G при заболявания, в патогенезата на които оксидативният стрес и възпалението играят централна роля.

Целта на дисертационния труд е написана ясно и точно. Поставените в дисертационния труд 8 задачи, по четири за всеки избран модел подпомагат изпълнението на поставената цел.

В дисертационния си труд докторантът е използвал за изпълнение на поставените задачи съвременни, утвърдени модели и методи за отчитане на получените резултати. В материал и методи подробно са описани използваните експериментални модели и методи. Предимство на докторската теза е посочването на положителните и отрицателните страни на съществуващите модели и методи на изследване, както и аргументите за използването на определени от тях. Експериментите са проведени в лаборатория по експериментална физиология и фармакология на катедра „Фармакология и токсикология“ при МУ-Плевен. Проучването е проведено в съответствие с международните стандарти за грижа и използване на опитни животни (Европейска директива 2010/63/ЕС), както и с националното законодателство и политики и е одобрено от Българската агенция по безопасност на храните.

В експериментите са използвани 206 бели мъжки плъхове, порода Вистар, с тегло 200-250 грама. Извършена е огромна по обем експериментална дейност с голям брой животни. Тествани

са два модела за белодробна токсичност. Избран е модел с двукратно приложение на амиодарон, което е много по-трудоемко. Тествани са 3 модела на експериментален колит като на базата на получените резултати е избран този модел с DNBS в доза 30 мг.

Резултатите са обработени и представени коректно в таблици и фигури. За обработка на данните от експерименталните изследвания са използвани подходящи статистически тестове, които осигуряват достоверност и съпоставимост на получените резултати с данни на други автори. Д-р Кръстев притежава добри компютърни умения, които му помагат при презентирането и публикуването на получените резултати. В обсъждането той съпоставя резултатите от настоящото изследване с данни на други автори. Дискутират се и вероятните причини за тези различия. Данните от проведените експерименти са обобщени в обсъждането на резултатите, заключението, изводите и приносите.

Д-р Кръстев познава много добре литературата по темата на дисертационния труд, изказва своята позиция, анализира аргументирано получените резултати и направените изводи. Дисертацията е написана и структурирана правилно. Целта и задачите са поставени ясно. Резултатите и обсъждането са свързани логично. В заключението много добре са обобщени резултатите от експерименталното проучване. В резултат на прецизно извършената работа и правилното обсъждане на резултатите са направени 7 извода при модел на амиодарон индуцирана белодробна токсичност и 6 извода при модел на DNBS- индуциран колит. Изводи съответстват на поставените задачи и точно и коректно отразяват най-съществените резултати. Изводите са точно формулирани, отговарят на данните, получени в научния експеримент. Приемам изводите без забележки. Д-р Кръстев е посочил 4 приноси с оригинален характер и 3 такива с потвърдителен и научно-приложен характер. Убедена съм, че приносите ще представляват интерес в следващи предклинични и клинични изследвания. Приемам и оценявам като значими приносите, посочените в дисертацията на д-р Кръстев. Считам, че те реално отразяват постигнатите резултати. Д-р Кръстев има теоретични познания и практически умения, може да работи в екип. Докторантът борава свободно с фактите от достъпната му литература, изказва и защитава аргументирано собствената си позиция, сравнява и съпоставя получените собствени резултати с тези на други автори като търси причините за приликите и различията между тях.

Авторефератът на дисертационния труд „Ефекти на U-74389G в експериментални модели на белодробна фиброза и колит при плъхове“ съдържа 77 страници и отразява основното съдържание на дисертационния труд и получените резултати. Той е онагледен с 53 фигури и 9

таблицы. Авторефератът е конструиран правилно, съобразно изискванията, посочени в нормативните документи на МУ Плевен.

Въз основа на гореизложеното, преценявам дисертационния труд на д-р Пламен Красимиров Кръстев като негово лично дело, напълно отговарящо на изискванията и препоръчителните наукометрични критерии за присъждане на образователната и научната степен "Доктор".

Д-р Пламен Кръстев успява под ръководството на научните си ръководители да овладее съвременни методики, да работи в екип и да поддържа изследователските си интереси и контакти по проблеми, които развива с последователност и в колаборация с другите изследователи. Данните от проведеното експериментално изследване представляват оригинален принос в науката и отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на МУ - Плевен. Разработката на дисертационния труд показва, че д-р Пламен Кръстев има задълбочени теоретични знания и професионални умения по научната специалност "Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)". Дисертантът притежава качества и умения за самостоятелно провеждане на научни изследвания.

В заключение, давам положителна оценката на представения от д-р Пламен Красимиров Кръстев дисертационен труд на тема: „Ефекти на U-74389G в експериментални модели на белодробна фиброза и колит при плъхове“ и убедено изразявам мнението си, че трудът напълно отговаря на възприетите изисквания за присъждането на образователната и научна степен „ДОКТОР“.

Въз основа на гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** на проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемите членове на научното жури да присъдят на д-р Пламен Красимиров Кръстев образователна и научна степен „ДОКТОР“** в докторска програма по „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия). Област на висше образование: 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление: 7.1 Медицина.

На основание чл.59 от ЗЗЛД

.....

Проф. д-р И. Костадинова, дм

**To the Chairman of the Scientific Jury,
appointed by order No. 2381/28..07. 2026
of the Rector of MU-Pleven**

REVIEW

by Prof. Ivanka Ilieva Kostadinova, MD, PhD

**in accordance with the procedure for obtaining the PhD in the professional field 7.1. Medicine, in the doctoral program "Pharmacology" /incl. Pharmacokinetics and chemotherapy//
for the dissertation "Effects of U-74389G in experimental models of pulmonary fibrosis and colitis in rats"**

of Plamen Krasimirov Krastev, MD, PhD student in independent training,

with scientific supervisors: Prof. Galya Tsvetanova Stavreva -Marinova.MD,PhD

Assoc. Prof. . Violeta Yordanova Dancheva, MD,PhD

1. General presentation of the procedure and the doctoral student

By order No. 2381/28.07.2026 of Prof. D. Dimitrov, MD, PhD, Rector of MU-Pleven, I am included in the scientific jury for the procedure for the defense of the dissertation "Effects of U-74389G in experimental models of pulmonary fibrosis and colitis in rats" by Dr. Plamen Krasimirov Krastev for the acquisition of the PhD..

The presented set of materials on electronic media is in accordance with the Act on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Regulations for its implementation and the criteria for acquiring academic positions and scientific degrees of MU-Pleven and includes all required documents. Dr. Krastev has indicated 3 publications on the topic of the dissertation. The documents are arranged correctly and accurately. This facilitates the members of the jury in following the procedure for awarding the ONS "Doctor". I positively assess the serious attitude of Dr. Krastev and his scientific supervisors to all stages of the procedure. There are no violations of the procedure. I declare that I have no common works with the doctoral student.

2. Brief biographical data

In 1987, Krastev graduated from the Mathematics High School in Pleven. In 2002, he obtained a Master's degree in Finance, Economics from the University of Veliko Tarnovo. In 1995, he graduated from the Medical University of Pleven. He has two specialties: Aviation Medicine in 2000 and General Medicine in 2004. Krastev was the head of the medical service of unit 38960, village of Tepish, from

October 1996 to July 2002. From July 2002 to June 2005, he was a resident physician at the medical center of the University Hospital "Hristo Botev" Pleven. From June 2005 to May 2007, he was the deputy head of the medical center of unit 24870, village of Kamenets. From June 2007 to March 2015, he was the deputy head of the medical post of military formation 52090, Dolna Mitropolia. Since September 2015, he has been an assistant professor at the Department of Pharmacology of the Pleven Medical University, and is currently a lecturer at the same department. He is fluent in written and spoken Russian and English. To improve his qualifications, he has conducted various training courses: "Health Management for Heads of Medical Institutions", "Captain's Career Course" (Career Development Course for Senior Medical Personnel in the US Armed Forces) – at the military bases "Lackland AFB" and "Fort Sam Houston" in San Antonio, Texas, from 02.2010 to 09.2010. He has computer skills and design skills.

The dissertation of Plamen Krastev, MD contains 156 pages. When constructing the dissertation, the requirements of MU-Pleven for awarding the PhD were met: Abbreviations - 3 pages, introduction - 2 pages, literature review - 49 pages, goal, tasks, material and methods - 12 pages, results and discussion - 63 pages, conclusions 2 pages, contributions - 1 page, bibliography - 17 pages. The work is illustrated with 53 figures and 9 tables. The bibliography to the dissertation contains 385 sources - 3 in Cyrillic and 382 in Latin. Dr. Krastev has presented 2 articles on the topic of the dissertation in refereed databases (Scopus and Web of Science) - 30 points and 1 publication in non-refereed with scientific review or publications in edited collective volumes - 10 points. With the required minimum requirements for the ONS "Doctor" of 30 points, the phd student has indicated 45 points.

The topic of the dissertation is relevant. It is related to a socially significant problem of interstitial lung disease, pulmonary fibrosis and inflammatory bowel diseases. These are diseases that worsen the quality of life of patients, are difficult to diagnose and treat. Various drugs are being studied in their therapy. According to Mavsn A. Altobiani and co-authors (2024), interstitial lung disease can be due to exposure to allergens, work with hazardous materials, drugs or primary autoimmune inflammation. genetic factors of the individual, exposure to environmental pollutants. A study of 467,685 patients diagnosed with cancer and treated with antineoplastic drugs between 2017 and 2022 shows that in 23-51% of cases, interstitial pulmonary fibrosis was caused by bleomycin, eferolimus, erlotin, trastuzumab, deruxtecan, and immune checkpoint inhibitors. Idiopathic pulmonary fibrosis is the most aggressive form of interstitial pulmonary fibrosis, causing progressive and permanent lung scarring. It causes a chronic and irreversible lung disease with a poor prognosis, with a median survival of 3–5 years after diagnosis if untreated. Although two antifibrotic drugs have demonstrated a significant reduction in the rate of

disease progression, it remains difficult to predict the course of the disease in individual patients. The most severe and common idiopathic form is idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), which accounts for ~50% of all reported IPF, for which there is no treatment. The considerable variability observed among patients makes it difficult to predict individual outcome. Some patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) experience rapid progression, while others experience slow progression. A systematic review suggests that gastroesophageal reflux disease (GERD) is associated with IPF. Specifically, the risk of developing Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF) is 1.5–2 times higher in men than in women. Aging is a risk factor for interstitial lung disease (ILD), with a significant increase in incidence among older people. This trend is particularly evident in idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), where the disease predominantly affects people over 65 years of age. Interstitial lung disease (ILD) is a growing global health problem, with an 86% increase in ILD-related mortality and is expected to account for 0.26% of all deaths worldwide by 2027. A recent study found that the prevalence of (IBD) ranged from 6.3 to 71 per 100,000 people, and the incidence of ILD ranged from 1 to 31.5 per 100,000 people per year. Another study from France reported a prevalence of 97.9 per 100,000 and an incidence of 19.4 per 100,000 per person per year. The British Lung Foundation estimated the incidence of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) to be around 50 per 100,000 people per year in the United Kingdom. The exact etiology of ulcerative colitis (UC) is unknown, but the disease appears to be multifactorial and polygenic. Suggested causes include environmental factors, immune dysfunction, and a possible genetic predisposition. Some suggest that children with a lower birth weight born to mothers with UC are at greater risk of developing the disease. Human leukocyte antigen (HLA)-B27 is identified in most patients with ulcerative colitis (UC), although this finding is not causally related to the condition, and the detection of HLA-B27 does not imply a significantly increased risk of UC. UC may also be influenced by diet, although diet is thought to play a minor role. Dietary or bacterial antigens can affect an already damaged mucosa that has increased permeability. Ulcerative colitis is a chronic inflammatory bowel disease with a global prevalence estimated at 5 million cases in 2023, with an incidence ranging from 0.5 to 24.5 per 100,000 people per year. The disease is most common in Northern Europe and North America, where the prevalence in the United States is estimated at 378 to 721 per 100,000 (affecting ~2.4–2.7 million Americans), with the highest rates among non-Hispanic whites and those of Ashkenazi Jewish descent. Epidemiological trends indicate that while the incidence has stabilized or decreased in many high-income countries, it is increasing sharply in low- and middle-income countries, particularly in Asia. Risk factors include a Western lifestyle, urban living without tobacco smoke, while smoking is associated with a lower risk of developing the disease and milder clinical outcomes. A systematic review of the

literature from 2014 to 2025 on the epidemiology of ulcerative colitis as of January 2024 included a total of 197 studies: 177 cohort (prospective or retrospective), 13 cross-sectional, 4 case-control, 1 structured study, and 2 with an unspecified design. The incidence (per 100,000 person-years) varies worldwide from 1.16 in Taiwan to 57 in Denmark. Taiwan in Asia reported the lowest incidence (1.16), followed by Brazil (1.34), Spain (2.37), Israel (15.80), Canada (12.90), South Korea (29.71) and Denmark (57.00). Longitudinal study data from Italy, Spain and Denmark show increasing trends, with the incidence in Spain having more than doubled in 30 years. Prevalence (per 100,000 person-years) ranged from 11.00 in China to 397.0 in Denmark. The lowest rates were observed in China (11.00) and Brazil (11.90), followed by Spain (36.60), the United States (159.50), South Korea (334.00) and Denmark (397.00). The incidence and prevalence of ulcerative colitis (UC) vary considerably across regions, with the highest burden observed in Europe, North America, and South Korea. The increasing global trend of increasing incidence of interstitial pulmonary fibrosis and inflammatory bowel disease highlights the need for enhanced surveillance, optimized management strategies, and expanded research to address this growing public health problem.

In the introduction, Dr. Krastev examines the issues related to the study of pharmacological effects of lazaroic acid, points out the relevance of the problem.

In the literature review, the doctoral student presents the world's scientific achievements on the topic of the dissertation. The literature review is divided into three parts: lazaroic acid U-74389G, pulmonary fibrosis, inflammatory bowel diseases. In the first part of the review, the chemical structure, mechanism of action, pharmacokinetics and toxicity, pharmacological properties and effects of U-74389G in experimental and clinical studies are described in depth and in detail. The anti-inflammatory effects of the compound and the mechanism of anti-inflammatory action are examined. A comparison is made with the pharmacological properties and effects of methylprednisolone, and the differences between them are discussed. In the second part of the literature review, the etiology, incidence of idiopathic pulmonary fibrosis, interstitial lung disease, chronic fibrotic hypersensitivity pneumonitis are discussed in detail. The pathogenesis of pulmonary fibrosis and the role of reactive oxygen species in its development are reviewed. Of interest are drug-induced interstitial lung disease and histopathological models of interstitial pneumonia. The drugs that cause pulmonary fibrosis and the mechanisms of lung tissue damage are reviewed in detail: amiodarone, chemotherapeutic agents, nitrofurantoin, antirheumatic agents, methotrexate. Biologic agents are an increasingly common cause of DI-ILD, and tumor necrosis factor (TNF) inhibitors are the most common agents of ILD. The mechanism of lung injury is unknown, but may be related to the massive release of cytokines from lysed neoplastic cells. Treatment of idiopathic

pulmonary fibrosis is discussed. Models of pulmonary fibrosis are well described in this review. Humanized models of pulmonary fibrosis, two-dimensional cell models used to study cellular behavior, and potential compounds to be used in the therapeutic treatment of pulmonary fibrosis are reviewed. Precisi-Cut Lung Slices, 3D bioengineered models that are useful for assessing the efficacy and testing of antifibrotic drugs, are used to evaluate new treatments. The third part of the review discusses inflammatory bowel diseases (IBD): ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). The incidence and prevalence of IBD, etiology and pathogenesis of these diseases are discussed. The role of genetic factors is described. It is reported that IBD occurs in most patients with a polygenic disorder. The role of the intestinal microflora in the pathogenesis of IBD is discussed. Innate and adaptive immunity in IBD are reviewed, as well as their features. In IBD, damage leads to uncontrolled inflammation. IBD is associated with an inadequate immune and epithelial response to the microbiome due to secretion of inflammatory mediators leading to activation of CD4⁺ and CD8⁺ T cells in the epithelium, secreting huge amounts of inflammatory cytokines versus anti-inflammatory cytokines. The role of autophagy in the development of inflammatory bowel diseases is discussed. Autophagy is involved in intracellular homeostasis, contributing to the degradation and recycling of cytosolic contents and organelles and resistance against infections and intracellular microbes. The redox state of the intestine depends on the balance between oxidants, such as free radicals, reactive oxygen species (ROS) or reactive nitrogen species (RNS), on the one hand, and antioxidant mechanisms such as glutathione peroxidase (GPX) and glutathione S-transferase enzymes. The pathophysiology and histopathology of inflammatory bowel disease are discussed in detail. The key role of the intestinal immune system in the pathogenesis of inflammatory bowel disease is described. Inflammatory bowel diseases are chronic inflammatory diseases of the gastrointestinal tract with a complex etiology involving genetic, immunological and environmental factors. The multifactorial nature of these diseases has been used in the development of various animal models to investigate the underlying mechanisms and develop potential therapeutic strategies. The different models of inflammatory bowel disease are classified and described in detail: chemically induced models, adaptive T-cell model, genetically engineered experimental model, IL-10 Knockout model (IL-10 elimination model), mouse models with spontaneous mutation. SAMP1/YitFc colitis, microbiome-induced mouse models. The limitations of using these models are also discussed in depth. These data can be used when choosing the design of subsequent experimental studies. The discussed data from the available literature emphasize the need for studies of the pharmacological effects of new synthesized compounds to improve the quality of life of patients and reduce mortality from socially significant diseases such as COPD and interstitial lung disease. The data presented in the literature review prove that

Krastev knows the literature on the topic of the dissertation very well. Plamen Krastev analytically and competently discusses the unresolved problems using data from the literature available to him on the topic of the dissertation. The doctoral student has made an extensive literature review. Following the questions posed in the dissertation for a long period of time helps him to form his own opinion, together with his scientific supervisors to assess the need for additional research that has not been done so far. In his dissertation, Krastev raises discussion questions for consideration, expresses his own opinion, justifies the choice of the selected doses used in the experiments with arguments. Consistently and in detail, the main issues related to the topic of the dissertation work are considered. In the conclusion to the review, Krastev argues for the choice of two pathologically different, but oxidative stress-related models of chronic inflammation: amiodarone-induced pulmonary toxicity and DNBS-induced colitis in rats. The choice of these two models is dictated by their clinical relevance, their good characterization in the literature, and the fact that both combine intense oxidative stress with a pro-inflammatory response, precisely the spectrum of action for which U-74389G is a theoretically justified protector. The results of the present work can be used to determine the therapeutic potential of U-74389G in diseases in the pathogenesis of which oxidative stress and inflammation play a central role.

The purpose of the dissertation is written clearly and precisely. The 8 tasks set in the dissertation, four for each selected model, support the implementation of the set goal. In his dissertation, the doctoral student used modern, established models and methods for reporting the results to fulfill the tasks set. The experimental models and methods used are described in detail in the material and methods. An advantage of the doctoral thesis is the indication of the positive and negative sides of the existing models and research methods, as well as the arguments for the use of certain of them. The experiments were conducted in the laboratory of experimental physiology and pharmacology of the Department of Pharmacology and Toxicology at MU-Pleven. The study was conducted in accordance with international standards for the care and use of experimental animals (European Directive 2010/63/EU), as well as with national legislation and policies and was approved by the Bulgarian Food Safety Agency.

The experiments used 206 white male Wistar rats, weighing 200-250 grams. A huge volume of experimental work was carried out with a large number of animals. Two models of pulmonary toxicity were tested. A model with a double administration of amiodarone was chosen, which is much more labor-intensive. 3 models of experimental colitis were tested, and based on the results obtained, this model with DNBS at a dose of 30 mg was chosen.

The results have been processed and presented correctly in tables and figures. Appropriate statistical tests have been used to process the data from the experimental studies, which ensure the reliability and comparability of the obtained results with data from other authors. Dr. Krastev has good computer skills, which help him in presenting and publishing the obtained results. In the discussion, he compares the results of the present study with data from other authors. The probable reasons for these differences are also discussed. The data from the conducted experiments are summarized in the discussion of the results, conclusion, inferences and contributions. Krastev knows the literature on the topic of the dissertation very well, expresses his position, analyzes the results obtained and the conclusions drawn with arguments.

The dissertation is written and structured correctly. The goal and tasks are clearly stated. The results and discussion are logically connected. The conclusion summarizes the results of the experimental study very well. As a result of the precisely performed work and the correct discussion of the results, 7 conclusions were made in the model of amiodarone-induced pulmonary toxicity and 6 conclusions in the model of DNBS-induced colitis. . The conclusions correspond to the tasks set and accurately and correctly reflect the most significant results. The conclusions are precisely formulated, correspond to the data obtained in the scientific experiment. I accept the conclusions without remarks Krastev has indicated 4 contributions of an original nature and 3 of a confirmatory and scientifically applied nature. I am convinced that the contributions will be of interest in subsequent preclinical and clinical studies. I accept and evaluate as significant the contributions indicated in Krastev's dissertation. I believe that they actually reflect the achieved results. Krastev has theoretical knowledge and practical skills, can work in a team. The doctoral student freely handles the facts from the literature available to him, expresses and defends his own position with arguments, compares and contrasts his own results with those of other authors, looking for the reasons for the similarities and differences between them.

The abstract of the dissertation "Effects of U-74389G in experimental models of pulmonary fibrosis and colitis in rats" contains 77 pages and reflects the main content of the dissertation and the results obtained. It is illustrated with 53 figures and 9 tables. The abstract is constructed correctly, in accordance with the requirements specified in the regulatory documents of the Medical University of Pleven.

Based on the above, I assess the dissertation work of Plamen Krasimirov Krastev as his personal work, fully meeting the requirements and recommended scientometric criteria for awarding the educational and scientific degree "PhD". Plamen Krastev managed, under the guidance of his scientific supervisors, to master modern methodologies, to work in a team and to maintain his research interests

and contacts on problems, which he develops consistently and in collaboration with other researchers. The data from the conducted experimental study represent an original contribution to science and meet the requirements of the Act on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for the Implementation of the Act on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Regulations of the Medical University of Pleven. The development of the dissertation work shows that Plamen Krastev has in-depth theoretical knowledge and professional skills in the scientific specialty "Pharmacology (incl. pharmacokinetics and chemotherapy)". The phd student possesses the qualities and skills to independently conduct scientific research.

In conclusion, I give a positive assessment of the dissertation presented by Plamen Krasimirv Krastev on the topic: "Effects of U-74389G in experimental models of pulmonary fibrosis and colitis in rats" and I confidently express my opinion that the work fully meets the accepted requirements for the award of the educational and scientific degree "PhD". Based on the above, I confidently give my positive assessment of the conducted research, presented by the above-reviewed dissertation, abstract, achieved results and contributions, and I propose to the esteemed members of the scientific jury to award Plamen Krasimirov Krastev the educational and scientific degree "PhD" in the doctoral program in "Pharmacology (incl. pharmacokinetics and chemotherapy)". Field of higher education: 7. Health and sports, Professional field: 7.1 Medicine.

На основание чл.59 от ЗЗЛД

Prof. Ivanka Kostadinova, MD, PhD