

СТ А Н О В И Щ Е

от проф. д-р Анелия Александрова Димитрова, дм,
Катедра „Физиология и патофизиология” при Медицински факултет на
Медицински университет - Плевен

ОТНОСНО: Дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „ДОКТОР” на д-р Пламен Красимиров Кръстев, преподавател в сектор „Фармакология“ към катедра „Фармакология и токсикология“ на Факултет „Фармация“ при МУ-Плевен.

Със заповед на Ректора на МУ-Плевен № 2381/28.07.2026 г. и решение на Председателя на Научното жури съм определена да представя становище във връзка с дисертационен труд на тема **„Ефекти на U-74389G в експериментални модели на белодробна токсичност и колит при плъхове“** за придобиване на ОНС „доктор“ по **професионално направление 7.1 Медицина, докторска програма Фармакология (вкл. Фармакокинетика и химиотерапия)**. Автор на дисертационния труд е д-р Пламен Красимиров Кръстев, преподавател в сектор „Фармакология“ към катедра „Фармакология и токсикология“ на Факултет „Фармация“ при МУ-Плевен. Ръководители на дисертационния труд са: проф. д-р Галя Цветанова Ставрева-Маринова., д.м. и доц. д-р Виолета Йорданова Данчева, д.м.

Д-р Пламен Красимиров Кръстев е представил всички необходими документи съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав и правилника на МУ-Плевен.

Д-р Пламен Красимиров Кръстев е роден на 29.12.1969 г. в гр. Плевен. Средното си образование завършва в Математическа гимназия „Гео Милев“ в същия град. През 1995 г. завършва ОКС „магистър“ по медицина във Висш медицински институт – Плевен. В периода 1996–2000 г. придобива специалност „Авиационна медицина“ във Военномедицинска академия – София, а в периода 2000–2004 г. и втора специалност „Обща медицина“ във Висш медицински институт – Плевен. През 2003 г. придобива и образователно-квалификационна степен „магистър“ по специалност „Финанси“ във Великотърновски университет „Св. св. Кирил и Методий“.

Основните му интереси в началото са насочени към военната медицина. В периода 1996–2015 г. последователно заема длъжностите началник на медицинска служба, лекар-

ординатор и заместник-началник на медицински пункт в различни военни формирования. От 2015 г. започва работа като асистент в катедра „Фармакология“ в Медицински университет – Плевен, където работи и до днес.

Д-р Кръстев представя научни публикации, участия в научни форуми и справка за изпълнение на минималните национални изисквания. Представените документи показват, че са изпълнени изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България и Правилника за неговото прилагане за допускане до публична защита на дисертационен труд за придобиване на образователната и научната степен „Доктор“.

Темата на дисертационния труд е актуална и е свързана с изучаване ефектите на антиоксиданта лазароид U-74389G за терапевтично приложение в различни модели на оксидативен стрес и възпаление. Използвани са експериментални модели на амиодарон-индуцираната белодробна токсичност (АИБТ) и болестта на Крон.

Оксидативният стрес и хроничното тъканно възпаление са два патологични процеси, които са тясно свързани и могат да бъдат разглеждани като общ механичен „мост“ между тези две заболявания, въпреки че засягат различни органи. Те формират самоподдържащ се порочен кръг, при който оксидативният стрес стимулира възпалителните сигнални механизми, а хроничното възпаление допринася за допълнително образуване на реактивни кислородни и азотни видове. В резултат се задълбочават клетъчното увреждане, тъканното ремоделиране и развитието на фиброзни изменения.

Амиодаронът е ефективен антиаритмичен медикамент, но при част от пациентите може да причини сериозна белодробна токсичност. АИБТ може да има различни клинични и патологични прояви и потенциално да доведе до тежко, понякога необратимо белодробно увреждане.

Болестта на Крон е хронично, рецидивиращо възпалително заболяване на гастроинтестиналния тракт. Характерна особеност е трансмуралното възпаление, което може да обхване всички слоеве на чревната стена.

U-74389G е синтетичен 21-аминостероид от групата на "лазароидите", с основен молекулярен механизъм на действие инхибиране пероксидацията на мембранните липиди чрез улавяне на пероксидови и хидроксилни радикали. За разлика от метилпреднизолонa, U-74389G не проявява имunosупресивни или метаболитни нежелани ефекти, характерни за класическите кортикостероиди. Създаването на експерименталните модели на белодробна токсичност и възпалителни заболявания на червата и изследване ефектите на лазароида U-74389G при тях, определят актуалността

на разработката, а възможността за прилагане на получените резултати в практиката определят високата ѝ стойност. Резултатите от настоящия труд биха допринесли за изясняване на терапевтичния потенциал на U-74389G при заболявания, в патогенезата на които оксидативният стрес и възпалението играят централна роля.

Целта на дисертацията, която е да се изследват ефектите на лазароида U-74389G при експериментални модели на белодробна токсичност и възпалителни заболявания на червата е формулирана точно и ясно.

Дисертацията е написана на 153 страници и онагледена с 53 фигури и 9 таблици. Използваната литература включва 386 заглавия, по-голямата част от които са от последните години. Изложението е ясно и работата като цяло е много добре оформена.

Литературният обзор е изчерпателен и задълбочен. Прави впечатление широкото ползване и познаване на световната литература по проблема. Целта е ясно формулирана и за постигането ѝ са представени три задачи с подзадачи. Изследвани са общо 206 бели мъжки плъхове порода Wistar . Използвани са два експериментални модела за АИБТ, като животните са разделени на пет групи. Тествани са и три модела на експериментален колит, с четири групи животни. Методите са адекватни и информативни. Други използвани методи са биохимични, хистопатологични, имунологични и статистически за обработка на конкретните данни.

Резултатите са обективни и достоверни, като обсъждането им е направено компетентно и задълбочено. Формулирани са 7 основни извода за модела на амиодарон-индуцирана белодробна токсичност и шест за модела на DNBS (2,4-Dinitrobenzenesulfonic acid hydrate)-индуциран колит, които ги приемам. Те отразяват точно и пълно основните постижения на представения труд.

Д-р Кръстев показва значителен по брой приноси, които са представени и аргументирани добре. Те са разделени на приноси с оригинален характер, които са: за първи път е систематично сравнена ефикасността на лазароида U-74389G и преднизолон при амиодарон-индуцирана белодробна токсичност при плъхове – установено е, че протективният ефект на U-74389G по отношение на маркерите за белодробна фиброза (хидроксипролин, колаген) е сравним, а по някои показатели леко превъзхождащ ефекта на преднизолон; за първи път е изследван ефектът на U-74389G в DNBS-индуциран модел на колит при плъхове, като е демонстриран комплексен протективен ефект – клиничен, макроскопски, имунологичен (цитокени), антиоксидантен (MDA) и хистологичен; установено е, че U-74389G нормализира серумните нива на малонов диалдехид при DNBS-индуциран колит до стойности, неразличими от контролата, което

доказва пълна антиоксидантна протекция срещу DNBS-индуцирания оксидативен стрес; документирано е, че U-74389G потиска значимо провъзпалителните цитокини (TNF- α , IL-1 β , IL-6) и повишава IL-10 при DNBS-индуциран колит, с ефект, превъзхождащ сулфасалазин в прилагания 6-дневен протокол. От приносите с потвърдителен и научно-приложен характер е потвърдено, че двукратното интратрахеално приложение на амиодарон (дни 0 и 2, 6,25 mg/kg) представлява по-безопасен и подходящ модел на АИБТ в сравнение с еднократното приложение в по-висока концентрация; доказано е, че DNBS в доза 30 mg, интаректално, е оптималната доза за индуциране на възпроизводим и тежък колит при плъхове от порода Wistar, подходящ за фармакологични изследвания, докато дозите от 10 и 20 mg осигуряват непълна пенетрантност; разширени са данните за антифибротичния потенциал на лазароидите при белодробни увреждания, като е установено, че U-74389G значително инхибира отлагането на колаген и повишаването на хидроксипролин след интратрахеално приложение на амиодарон.

Резултатите от дисертацията са публикувани в 3 статии: една от публикациите е с IF в Archives of the Balkan Medical Union, една в Journal of Biomedical and Clinical Research и една в сборник доклади.

Заклучение:

Представеният ми за становище дисертационен труд съдържа значителни научни и практически приноси и отговаря на качествените и количествените критерии, заложиени в Правилника за развитие на академичния състав на МУ- Плевен към Закона за развитие на академичния състав на Р. България. Предвид добре проведеното научно изследване, задълбочения анализ на получените резултати, цялостното оформление на разработката и научните публикации, въз основа на които е базирана, с дълбока убеденост препоръчвам на почитаемите членове на Научното жури да гласуват положително за присъждането на научната степен „ДОКТОР” на д-р Пламен Красимиров Кръстев.

Като член на журито декларирам, че вотът ми ще е положителен.

На основание чл.59 от ЗЗЛД

31.08.2026 г.

Плевен

Проф. д-р Анелия Димитрова, дм

OPINION

by Prof. Aneliya Aleksandrova Dimitrova, MD, PhD

Department of Physiology and Pathophysiology, Faculty of Medicine, Medical
University – Pleven

REGARDING:

Dissertation thesis for the award of the educational and scientific degree “DOCTOR” to Dr. Plamen Krasimirov Krastev, Lecturer in the Pharmacology Sector at the Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Medical University – Pleven.

By Order No. 2381/28.07.2026 of the Rector of Medical University – Pleven and by decision of the Chair of the Scientific Jury, I have been appointed to present an opinion regarding the dissertation thesis entitled “Effects of U-74389G in Experimental Models of Pulmonary Toxicity and Colitis in Rats” for the acquisition of the educational and scientific degree “Doctor” in Professional Field 7.1 Medicine, Doctoral Programme Pharmacology (including Pharmacokinetics and Chemotherapy). The author of the dissertation thesis is Dr. Plamen Krasimirov Krastev, Lecturer in the Pharmacology Sector at the Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Medical University – Pleven. The supervisors of the dissertation thesis are Prof. Galya Tsvetanova Stavreva-Marinova, MD, PhD, and Assoc. Prof. Violeta Yordanova Dancheva, MD, PhD.

Dr. Plamen Krasimirov Krastev has submitted all the required documents in accordance with the requirements of the Academic Staff Development Act and the Regulations of Medical University – Pleven.

Dr. Plamen Krasimirov Krastev was born on 29 December 1969 in Pleven. He completed his secondary education at the Geo Milev Mathematical High School in the same city. In 1995, he obtained a Master’s degree in Medicine from the Higher Medical Institute – Pleven. During the period 1996–2000, he acquired a specialty in Aviation Medicine at the Military Medical Academy – Sofia, and during the period 2000–2004, he acquired a second specialty in General Medicine at the Higher Medical Institute – Pleven. In 2003, he also obtained a Master’s degree in Finance from St. Cyril and St. Methodius University of Veliko Tarnovo.

His primary interests were initially focused on military medicine. During the period 1996–2015, he successively held the positions of Head of a Medical Service, Staff Physician, and Deputy Head of a Medical Centre in various military formations. Since 2015, he has been working as an Assistant Professor at the Department of Pharmacology at Medical University – Pleven, where he continues to work to the present day.

Dr. Krastev has presented scientific publications, participation in scientific forums, and documentation demonstrating fulfilment of the minimum national requirements. The submitted documents indicate that the requirements of the Academic Staff Development Act in the Republic of Bulgaria and its Implementing Regulations for admission to a public defence of a dissertation thesis for the acquisition of the educational and scientific degree “Doctor” have been fulfilled.

The topic of the dissertation thesis is relevant and is related to the investigation of the effects of the antioxidant lazaroid U-74389G for potential therapeutic application in various models of oxidative stress and inflammation. Experimental models of amiodarone-induced pulmonary toxicity (AIPT) and Crohn’s disease have been used.

Oxidative stress and chronic tissue inflammation are two pathological processes that are closely interconnected and may be regarded as a common mechanistic “bridge” between these two diseases, despite their involvement of different organs. They form a self-sustaining vicious cycle in which oxidative stress stimulates inflammatory signalling mechanisms, while chronic inflammation contributes to the additional generation of reactive oxygen and nitrogen species. As a result, cellular damage, tissue remodelling, and the development of fibrotic changes are further aggravated.

Amiodarone is an effective antiarrhythmic drug; however, in some patients it may cause serious pulmonary toxicity. AIPT may have various clinical and pathological manifestations and may potentially lead to severe and, in some cases, irreversible pulmonary damage.

Crohn’s disease is a chronic, relapsing inflammatory disease of the gastrointestinal tract. A characteristic feature is transmural inflammation, which may involve all layers of the intestinal wall.

U-74389G is a synthetic 21-aminosteroid belonging to the group of “lazaroids”, whose principal molecular mechanism of action is the inhibition of membrane lipid peroxidation through scavenging of peroxy and hydroxyl radicals. Unlike methylprednisolone, U-74389G does not exhibit the immunosuppressive or metabolic adverse effects characteristic of classical corticosteroids. The development of experimental models of pulmonary toxicity and inflammatory bowel disease and the investigation of the effects of the lazaroid U-74389G in these models determine the relevance of the present research, while the possibility of applying the obtained results in practice determines its high value. The results of the present study could contribute to clarifying the therapeutic potential of U-74389G in diseases in whose pathogenesis oxidative stress and inflammation play a central role.

The aim of the dissertation, namely to investigate the effects of the lazaroide U-74389G in experimental models of pulmonary toxicity and inflammatory bowel disease, is formulated precisely and clearly.

The dissertation comprises 153 pages and is illustrated with 53 figures and 9 tables. The bibliography includes 386 references, the majority of which are from recent years. The presentation is clear, and the work as a whole is very well structured and formatted.

The literature review is comprehensive and thorough. The extensive use of and familiarity with the international literature on the subject are particularly noteworthy. The aim is clearly formulated, and three main tasks with sub-tasks are presented for its achievement. A total of 206 male albino Wistar rats were studied. Two experimental models of AIPT were used, with the animals divided into five groups. Three models of experimental colitis were also tested, involving four groups of animals. The methods used are appropriate and informative. Other methods included biochemical, histopathological, immunological, and statistical methods for the processing of the specific data.

The results are objective and reliable, and their discussion has been carried out competently and in depth. Seven main conclusions have been formulated regarding the model of amiodarone-induced pulmonary toxicity and six regarding the model of DNBS (2,4-dinitrobenzenesulfonic acid hydrate)-induced colitis, all of which I accept. They accurately and comprehensively reflect the principal achievements of the presented work.

Dr. Krastev demonstrates a considerable number of scientific contributions, which are well presented and substantiated. The contributions of an original nature include the following: for the first time, the efficacy of the lazaroide U-74389G and prednisolone has been systematically compared in amiodarone-induced pulmonary toxicity in rats, establishing that the protective effect of U-74389G with regard to markers of pulmonary fibrosis (hydroxyproline and collagen) is comparable to, and according to some parameters slightly exceeds, that of prednisolone; for the first time, the effect of U-74389G has been investigated in a DNBS-induced model of colitis in rats, demonstrating a complex protective effect—clinical, macroscopic, immunological (cytokines), antioxidant (MDA), and histological; it has been established that U-74389G normalizes serum malondialdehyde levels in DNBS-induced colitis to values not differing from those of the control group, demonstrating complete antioxidant protection against DNBS-induced oxidative stress; it has been documented that U-74389G significantly suppresses the pro-inflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β , and IL-6 and increases IL-10 in DNBS-induced colitis, with an effect superior to that of sulfasalazine within the applied 6-day protocol. Among the confirmatory and scientifically applicable contributions, it has been confirmed that twice-repeated intratracheal administration of amiodarone (on days 0 and 2, 6.25 mg/kg) represents a safer and more appropriate model of AIPT compared with a single administration at a higher concentration; it has been demonstrated that DNBS at a dose of

30 mg, administered intrarectally, is the optimal dose for inducing reproducible and severe colitis in Wistar rats suitable for pharmacological studies, whereas doses of 10 and 20 mg provide incomplete penetrance; and the available data on the antifibrotic potential of lazarooids in pulmonary injury have been expanded by establishing that U-74389G significantly inhibits collagen deposition and the increase in hydroxyproline following intratracheal administration of amiodarone.

The results of the dissertation have been published in three articles: one publication with an impact factor in Archives of the Balkan Medical Union, one in the Journal of Biomedical and Clinical Research, and one in a conference proceedings volume.

Conclusion:

The dissertation thesis submitted to me for evaluation contains significant scientific and practical contributions and meets the qualitative and quantitative criteria laid down in the Regulations for Academic Staff Development of Medical University – Pleven pursuant to the Academic Staff Development Act of the Republic of Bulgaria. In view of the well-conducted scientific research, the in-depth analysis of the obtained results, the overall presentation of the work, and the scientific publications on which it is based, I firmly recommend that the esteemed members of the Scientific Jury vote positively for the award of the educational and scientific degree “DOCTOR” to Dr. Plamen Krasimirov Krastev.

As a member of the Jury, I declare that my vote will be positive.

31 August 2026

Pleven

На основание чл.59 от ЗЗЛД

Prof. Anelia Dimitrova, MD, PhD