



СТ А Н О В И Щ Е



от

ПРОФ. Д-Р ЛЮДМИЛ ПЕЙЧЕВ ПЕЙЧЕВ, ДМ, МЗМ

катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“

при Фармацевтичен Факултет на МУ Пловдив

на

- дисертационен труд за присъждане на Образователна и Научна степен 'ДОКТОР'
- област на висше образование **7. Здравеопазване и спорт**
- професионално направление **7.1. „Медицина“**
- докторска програма **„Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“**

Автор:

Д-Р ПЛАМЕН КРАСИМИРОВ КРЪСТЕВ – докторант на самостоятелна подготовка

Катедра:

„Фармакология и токсикология“, Факултет „Фармация“, Медицински университет – Плевен

Тема:

**„ЕФЕКТИ НА U-74389G В ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ МОДЕЛИ НА БЕЛОДРОБНА
ФИБРОЗА И КОЛИТ ПРИ ПЛЪХОВЕ“**

Научни ръководители:

**ПРОФ. Д-Р ГАЛЯ ЦВЕТАНОВА СТАВРЕВА-
МАРИНОВА**

ДОЦ. Д-Р ВИОЛЕТА ЙОРДАНОВА ДАНЧЕВА, ДМ

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен/електронен носител е в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагането му и Правилника за развитие на академичния състав на МУ – Плевен (2022). Комплектът е подреден коректно и пълно. Не се установяват нарушения на процедурните изисквания. Няма данни за плагиатство в предоставения ми за оценяване дисертационен труд. Декларирам, че нямам конфликт на интереси с кандидата по смисъла на действащата нормативна уредба.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Д-р Пламен Красимиров Кръстев завършва висше образование в Медицински университет в гр. Плевен със специалност медицина през 1995 г. В стремежът си за овладяване на нови знания през 2002 година придобива магистърска степен по финанси, икономист във Великотърновския университет.

Професионалният му път като лекар започва през 1996 г. като началник на медицинска служба на поделение 38960 село Тепиш. В периода 2002 година до 2005 година е лекар ординатор в медицински пункт на УБ „Христо Ботев“ Плевен. От 2005 година до 2007 година той е заместник началник на медицински пункт на поделение 24870 село Каменец. От 2007 година до 2015 година е замесник началник на медицински пункт на военно формирование 52090 в Долна Митрополия. През 2015 година след успешен конкурс е назначен за редовен асистент в катедрата по Фармакология и токсикология на МУ Плевен до настоящия момент.

Д-р Кръстев провежда практическите занимания по фармакология на студентите по медицина във Факултет „Медицина“ и студенти от специалност „Медицинска сестра“ в Медицински колеж към университета.

Докторантът притежава много добри умения за работа с персонален компютър с основните офис програми, статистики и електронни платформи за обучение на студенти. Той владее отлично писмено и говоримо английски и руски език. Преминал е обучение по „Здравен мениджмънт за ръководители на лечебни заведения“. През 2010 година е преминал „Captain’s Career Course“ за медицински кадри с висше образование във военните бази „Lackland AFB“ и „Fort Sam Houston“, Сан Антонио, щата Тексас, САЩ.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цел и задачи

Тематиката на дисертацията е актуална, особено през последните години когато милиони хора по света страдат от усложненията на заразата с Ковид-19. От друга страна нарастващата употреба на нови лекарства от групата на моноклонални антитела, противотуморни химиотерапевтици и агенти с молекулярно насочване предизвикват оксидативен стрес и потенциален риск от органна токсичност. Оксидативният стрес е основен фактор за развитието на редица заболявания, включително белодробни увреждания и възпалителни заболявания на червата. От друга страна при лечението на патологични състояния, свързани с оксидативен стрес се използват различни класове антиоксиданти. Необходимостта от създаването на нови медикаменти за тази цел нараства.

Целта и осемте задачи на дисертационния труд са написани ясно и точно. Те са в пълно съответствие с получените резултати, а именно да се изследват ефектите на лазароида U-74389G при експериментални модели на белодробна токсичност и възпалителни заболявания на червата. Извършена е значителна по обем експериментална работа с 206 бели мъжки плъха порода Вистар, с тегло 200-250 грама. Д-р Кръстев е използвал съвременни експериментални модели за предизвикване на медикаментозна пулмофиброза и химически индуциран колит на опитни животни. 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.

4. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е с общ обем 153 страници, от които: използвани съкращения – 5 стр., въведение и обзор – 51 стр.; цел, задачи, материал и методи – 11 стр.; резултати и обсъждане – 62 стр.; научни приноси – 1 стр.; изводи – 2 стр.; заключение – 1 стр.; списък на научните публикации – 1 стр.; библиография – 16 стр.

Работата е онагледена с 52 фигури и 9 таблици, което е показател за големия обем изследвания, осъществени самостоятелно от докторанта за доказване на поставената теза и позволяват добро възприемане на представените резултати.

Библиографията към дисертационния труд съдържа 386 източника – 3 на кирилица и 383 на латиница. Над 60% от литературните източници са от последните 5 години.

Заглавието на дисертационния труд е интригуващо и насочва към експерименталната същност на тази работа. Въведението на дисертационния труд

логично насочва вниманието към изучаване на фармакологичните ефекти на лазароид – антиоксидант от групата на 21-аминостероидите, който инхибира пероксидацията на липидната мембрана вследствие на оксидативен стрес. Лазароид U-74389G – обект на дисертационния труд, има потенциал да минимизира тези ефекти като антиоксидант. Механизмите на това действие не са добре проучени, а тяхното изучаване разкрива възможности за създаване на нови терапевтични стратегии.

Обзорът на дисертационния труд разкрива възможностите на д-р Кръстев да навлезе в същността на важен за медицинската практиката проблем и да прояви научен подход при неговото експериментално моделиране. Трите части на литературния обзор са пряко свързани със същността на дисертационния труд. Първата част е посветена на лазароид U-74389G, неговите основни фармакологични характеристики и проблемите, които предстоят да бъдат решени, свързани с механизма на действие и безопасното му използване при животни и хора. Много сполучливо тази част на обзора завършва със сравнение на фармакологичните свойства на U-74389G и терапевтичните възможности на метилпреднизолон. Сравнени са предимствата и недостатъците на всеки от тях като средства за преодоляване на оксидативния стрес.

Втората и трета част на литературния обзор са свързани с белодробната фиброза и възпалителните заболявания на червата като улцерозен колит и болест на Крон. Двете части представят накратко хистологичните промени, патоанатомичните изменения, патофизиологични механизми и клинични симптоми на оксидативния стрес, довели до увреждане на белите дробове и лигавиците на храносмилателната система. В тези две части акцентът е върху експерименталните модели на пулмофиброза и колит, които аргументират методите, използвани в дисертационния труд.

В главата материал и методи подробно и коректно са описани експерименталните модели и методи. Използвани са 206 бели мъжки плъха порода Wistar с тегло 200–250 г, отглеждани при стандартизирани условия, като обемът на извършената експериментална работа е значителен. Прави впечатление изключително прецизия подбор на опитни постановки за верифициране на терапевтичната ефективност от прилагане на лазароид U-74389G. При модела на амиодарон-индуцирана белодробна токсичност са сравнени два режима на интратрахеално приложение на амиодарон – еднократно и двукратно. В експериментите е избран двукратния режим, който осигурява възпроизводимо увреждане при по-нисък леталитет. При експерименталния модел на колит са тествани три дози на улцерогенния агент DNBS. Въз основа на

получените резултати е избрана дозата от 30 mg, която индуцира възпроизводим колит при всички опитни животни.

Експериментите с опитни животни са осъществени при спазване на правата на животните съгласно International Guiding Principles for Animal Research и етичните принципи при планиране и провеждане на експерименти според изискванията на БАБХ и комисията по Етика на научни изследвания при МУ Плевен.

В главата резултати и обсъждане проличава умението на д-р Кръстев да съпоставя своите резултати с данни на други автори. Анализът на публикациите по темата позволява на д-р Кръстев да насочи вниманието към не решените проблеми и да подсказва идеи за нови терапевтични решения. Представените разсъждения красноречиво затвърждават убеждението, че д-р Кръстев е изграден учен с творчески подход към поставената цел и задачи.

Дисертационният труд завършва с 7 извода при модел на амиодарон индуцирана белодробна токсичност и 6 извода при модел на DNBS- индуциран колит. Този труд има приноси с научно и приложно значение. Приемам напълно, посочените от автора 4 приноса с оригинален характер и 3 с потвърдително и приложно значение.

Статистическата обработка на данните. Получените данни са подложени на подходящ статистически анализ с програмата SPSS, v.21 с графично представяне на данните чрез GraphPad софтуер. Резултатите са представени коректно в таблици и фигури. Д-р Кръстев притежава много добри компютърни умения за онагледяване и презентиране на получените резултати.

6. Публикации и научна активност

Д-р Кръстев е представил 3 научни публикации, в две от които е първи автор. Две от публикациите са отпечатани в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Scopus, Web of Science), а една – в нереферирано издание с научно рецензиране. Публикационната активност на докторанта по показател „Г“ е 45 точки, което надхвърля минималните национални изисквания за придобиване на ОНС „Доктор“ в професионално направление 7.1. Медицина, с нормативно изискуем минимум от 30 т. Резултатите от проучванията са представени на VIII Национален конгрес по Фармакология, клинична фармакология и терапия с международно участие в МУ – Плевен, през 2024 г.

Публикационната активност на д-р Кръстев е предпоставка за популяризиране на получените резултати сред научно-изследователски колективи у нас и в чужбина. Те

представляват интерес за специалисти в областта на фармакология, токсикология, военна медицина, вътрешни болести, интензивно лечение и реанимация.

7. Лично участие на докторанта

Считам, че дисертационният труд е лично дело на д-р Пламен Кръстев. В подкрепа на това е и фактът, че получените резултати и формулирани приноси са лична заслуга под умелото ръководство на научните ръководители на докторантката – проф. д-р Галя Ставрева-Маринова и доц. д-р Виолета Данчева, дм

8. Автореферат

Авторефератът към дисертационния труд е изчерпателен, отлично онагледен с 53 фигури и 9 таблици и напълно достатъчен като обем от 60 страници за да представи същността на работата. Той е изготвен според изискванията на правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на научни длъжности в МУ Плевен.

9. Критични бележки и препоръки

Нямам критични бележки, а препоръката ми към дисертанта е да повиши публикационната си активност в реферирани международни издания. Това ще популяризира интересните резултати от дисертационния труд и ще доведе до висок процент цитирания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и Правилника за неговото прилагане. Представените материали и резултати съответстват на изискванията на Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на научни длъжности в МУ Плевен.

Дисертационният труд показва, че д-р Пламен Кръстев притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научната специалност Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия) като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено в рецензирания по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси.

Предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен ‘Доктор’ на д-р Пламен Красимиров Кръстев в докторска програма по „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“.

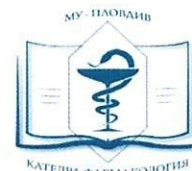
На основание чл.59 от ЗЗЛД

Пловдив, 01.09.2026 г.

.....
Проф. д-р ЛЮДМИЛ ПЕЙЧЕВ ПЕЙЧЕВ, дм, мзм
/Катедра по фармакология, токсикология и
фармакотерапия при Фармацевтичен факултет на
Медицински университет Пловдив/



О P I N I O N



from

PROF. LYUDMIL PEYCHEV PEYCHEV, MD, PhD, MHM

**Department of Pharmacology, Toxicology and Pharmacotherapy
at the Faculty of Pharmacy of the Medical University of Plovdiv**

for

- Dissertation for the award of the Educational and Scientific Degree '**DOCTOR**'
- field of higher education **7. Health and Sports**
- professional field **7.1. "Medicine"**
- doctoral program "**Pharmacology (incl. pharmacokinetics and chemotherapy)**"

Author:

DR. PLAMEN KRASIMIROV KRASTEV – PhD student in independent training

Department:

"Pharmacology and Toxicology", Faculty of Pharmacy, Medical University – Plevn

Subject:

**"EFFECTS OF U-74389G IN EXPERIMENTAL RAT MODELS OF PULMONARY
FIBROSIS AND COLITIS"**

Scientific supervisors:

PROF. Dr. GALIA Tsvetanova Stavreva-Marinova

Assoc. DR. VIOLETA YORDANOVA DANCHEVA, DM

1. General presentation of the procedure and the doctoral student

The submitted set of materials on paper/electronic media is in accordance with the requirements of the Act on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria (DASRB), its Implementing Regulations and the Regulations on the Development of the Academic Staff of MU – Pleven (2022). The set is arranged correctly and completely. No violations of the procedural requirements are established. There is no evidence of plagiarism in the dissertation submitted to me for evaluation. I declare that I have no conflict of interest with the candidate within the meaning of the current regulations.

2. Brief biographical data about the doctoral student

Dr. Plamen Krasimirov Krastev graduated from the Medical University in Pleven with a degree in medicine in 1995. In his quest to master new knowledge, in 2002 he obtained a master's degree in finance, an economist at the University of Veliko Tarnovo.

His professional path as a doctor began in 1996 as the head of the medical service of unit 38960, village of Tepish. In the period from 2002 to 2005, he was a resident doctor at the medical center of the "Hristo Botev" University Hospital in Pleven. From 2005 to 2007, he was the deputy head of the medical center of unit 24870, village of Kamenets. From 2007 to 2015, he was the deputy head of the medical center of military formation 52090 in Dolna Mitropolia. In 2015, after a successful competition, he was appointed as a full-time assistant in the Department of Pharmacology and Toxicology of the Medical University of Pleven until now.

Dr. Krastev conducts practical classes in pharmacology for medical students at the Faculty of Medicine and students of the specialty "Nursing" at the Medical College of the university.

The doctoral student has very good skills in working with a personal computer with the main office programs, statistics and electronic platforms for training students. He has excellent written and spoken English and Russian. He has completed training in "Health Management for Heads of Medical Institutions". In 2010, he completed the "Captain's Career Course" for medical personnel with higher education at the military bases "Lackland AFB" and "Fort Sam Houston", San Antonio, Texas, USA.

3. Relevance of the topic and appropriateness of the set goals and objectives

The topic of the dissertation is relevant, especially in recent years when millions of people around the world suffer from the complications of Covid-19 infection. On the other hand, the increasing use of new drugs from the group of monoclonal antibodies, antitumor

chemotherapeutics and molecularly targeted agents cause oxidative stress and a potential risk of organ toxicity. Oxidative stress is a major factor in the development of a number of diseases, including lung damage and inflammatory bowel diseases. On the other hand, in the treatment of pathological conditions associated with oxidative stress, different classes of antioxidants are used. The need to create new medications for this purpose is growing.

The goal and eight tasks of the dissertation are written clearly and precisely. They are in full accordance with the results obtained, namely to study the effects of lazaroïd U-74389G in experimental models of lung toxicity and inflammatory bowel diseases. A significant experimental work was carried out with 206 white male Wistar rats, weighing 200-250 grams. Dr. Krastev used modern experimental models to induce drug-induced pulmonary fibrosis and chemically induced colitis in experimental animals. 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.

4. Characteristics and evaluation of the dissertation work

The dissertation has a total volume of 153 pages, of which: abbreviations used – 5 pages, introduction and overview – 51 pages; goal, tasks, material and methods – 11 pages; results and discussion – 62 pages; scientific contributions – 1 page; conclusions – 2 pages; conclusion – 1 page; list of scientific publications – 1 page; bibliography – 16 pages.

The work is illustrated with 52 figures and 9 tables, which is an indicator of the large volume of research carried out independently by the doctoral student to prove the thesis and allows for a good perception of the presented results.

The bibliography to the dissertation contains 386 sources – 3 in Cyrillic and 383 in Latin. Over 60% of the literary sources are from the last 5 years.

The title of the dissertation is intriguing and points to the experimental nature of this work. The introduction of the dissertation logically directs attention to the study of the pharmacological effects of lazaroïd - an antioxidant from the group of 21-aminosteroids, which inhibits lipid membrane peroxidation due to oxidative stress. Lazaroïd U-74389G - the subject of the dissertation, has the potential to minimize these effects as an antioxidant. The mechanisms of this action are not well studied, and their study reveals opportunities for creating new therapeutic strategies.

The review of the dissertation reveals the capabilities of Dr. Krastev to delve into the essence of an important problem for medical practice and to demonstrate a scientific approach in its experimental modeling. The three parts of the literature review are directly related to the

essence of the dissertation. The first part is dedicated to lazard U-74389G, its main pharmacological characteristics and the problems that remain to be solved, related to the mechanism of action and its safe use in animals and humans. This part of the review very successfully ends with a comparison of the pharmacological properties of U-74389G and the therapeutic possibilities of methylprednisolone. The advantages and disadvantages of each of them as means for overcoming oxidative stress are compared.

The second and third parts of the literature review are related to pulmonary fibrosis and inflammatory bowel diseases such as ulcerative colitis and Crohn's disease. Both parts briefly present the histological changes, pathoanatomical changes, pathophysiological mechanisms and clinical symptoms of oxidative stress, which led to damage to the lungs and mucous membranes of the digestive system. In these two parts, the emphasis is on the experimental models of pulmonary fibrosis and colitis, which argue the methods used in the dissertation work.

In the chapter material and methods, the experimental models and methods are described in detail and correctly. 206 white male Wistar rats weighing 200–250 g were used, raised under standardized conditions, and the volume of experimental work performed was significant. The extremely precise selection of experimental setups for verifying the therapeutic effectiveness of the application of lazard U-74389G is striking. In the model of amiodarone-induced pulmonary toxicity, two regimens of intratracheal administration of amiodarone were compared – single and double. The double regimen was chosen in the experiments, which provides reproducible damage with lower lethality. In the experimental model of colitis, three doses of the ulcerogenic agent DNBS were tested. Based on the results obtained, the dose of 30 mg was chosen, which induced reproducible colitis in all experimental animals.

The experiments with experimental animals were carried out in compliance with the rights of animals according to the International Guiding Principles for Animal Research and the ethical principles in planning and conducting experiments according to the requirements of the Bulgarian Academy of Sciences and the Research Ethics Committee at the Pleven Medical University.

The chapter results and discussion demonstrates Dr. Krastev's ability to compare his results with data from other authors. The analysis of publications on the topic allows Dr. Krastev to draw attention to unsolved problems and suggest ideas for new therapeutic solutions. The presented reasoning eloquently reinforces the belief that Dr. Krastev is a well-established scientist with a creative approach to the set goal and tasks.

The dissertation work ends with 7 conclusions in a model of amiodarone-induced pulmonary toxicity and 6 conclusions in a model of DNBS-induced colitis. This work has contributions of scientific and applied significance. I fully accept the 4 contributions indicated by the author as original in nature and 3 with confirmatory and applied significance.

Statistical data processing. The obtained data were subjected to appropriate statistical analysis with the SPSS, v.21 program with graphical presentation of the data using GraphPad software. The results are presented correctly in tables and figures. Dr. Krastev has very good computer skills for visualizing and presenting the obtained results.

6. Publications and scientific activity

Dr. Krastev has presented 3 scientific publications, in two of which he is the first author. Two of the publications are printed in scientific journals, referenced and indexed in world-renowned databases of scientific information (Scopus, Web of Science), and one - in a non-referenced publication with scientific review. The publication activity of the doctoral student according to indicator "G" is 45 points, which exceeds the minimum national requirements for acquiring the ONS "Doctor" in the professional field 7.1. Medicine, with a regulatory minimum of 30 points. The results of the studies were presented at the VIII National Congress on Pharmacology, Clinical Pharmacology and Therapy with international participation at the Medical University - Pleven, in 2024.

The publication activity of Dr. Krastev is a prerequisite for popularizing the results obtained among scientific research teams in our country and abroad. They are of interest to specialists in the fields of pharmacology, toxicology, military medicine, internal medicine, intensive care and resuscitation.

7. Personal participation of the doctoral student

I believe that the dissertation is the personal work of Dr. Plamen Krastev. This is supported by the fact that the results obtained and formulated contributions are a personal merit under the skillful guidance of the doctoral student's scientific supervisors - Prof. Dr. Galya Stavreva-Marinova and Assoc. Prof. Dr. Violeta Dancheva, MD

8. Abstract

The abstract of the dissertation is comprehensive, excellently illustrated with 53 figures and 9 tables and is completely sufficient in its 60 pages to present the essence of the work. It has been prepared in accordance with the requirements of the regulations for the conditions and procedure for acquiring scientific degrees and holding scientific positions at the Pleven Medical University.

9. Critical remarks and recommendations

I have no critical remarks, and my recommendation to the dissertation is to increase his publication activity in refereed international journals. This will popularize the interesting results of the dissertation and will lead to a high percentage of citations.

CONCLUSION

The dissertation contains scientific and applied results that represent an original contribution to science and meet all the requirements of the Act on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria (ADABRB) and the Regulations for its implementation. The presented materials and results comply with the requirements of the Regulations on the conditions and procedure for acquiring scientific degrees and occupying scientific positions at the Medical University of Pleven.

The dissertation shows that Dr. Plamen Krastev possesses in-depth theoretical knowledge and professional skills in the scientific specialty of Pharmacology (incl. pharmacokinetics and chemotherapy) by demonstrating qualities and skills for independent conduct of scientific research.

Due to the above, I confidently give my positive assessment of the conducted research presented in the above-reviewed dissertation, abstract, achieved results and contributions.

I propose to the esteemed scientific jury to award the educational and scientific degree ‘Doctor’ to Dr. Plamen Krasimirov Krastev in the doctoral program in “Pharmacology (incl. pharmacokinetics and chemotherapy)”.

Plovdiv, 01.09.2026

На основание чл.59 от ЗЗЛД
.....

Prof. Dr. LYUDMIL PEYCHEV PEYCHEV, MD, PhD, MHM

/Department of Pharmacology, Toxicology and
Pharmacotherapy at the Faculty of Pharmacy, Medical
University of Plovdiv/