

СТ А Н О В И Щ Е

На дисертационния труд и автореферат на тема

ИМУНОЛОГИЧНИ АСПЕКТИ НА ДЕФИЦИТА НА ВИТАМИН D ПРИ ДЕЦА СЪС ЗАБОЛЯВАНИЯ НА ДИХАТЕЛНАТА СИСТЕМА

Представен за публична защита пред научно жури за присъждане на научна и
образователна степен „Доктор“ по област на висше образование
7 Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1 “Медицина”
по докторска програма „Педиатрия“

Автор: **д-р ГЕНА СТОЙКОВА ПЕТКОВА**
Редовен докторант
Катедра „Детски болести“, Медицински университет-
Плевен

Научен ръководител: доц. Бойко Шентов, дм

Изготвил становището: проф. д-р Анна Иванова Кънева-Ненчева, дм
Клиника по детска кардиология, МБАЛ „НКБ“ ЕАД,
избрана за член на научното жури на основание
на заповед на Ректора № 1990/01.07.2026

Служебен адрес: София 1309; ул. Коньовица 65
ел.поща: kaneva_anna@abv.bg

Не съм открила пропуски в приложената от д-р Гена Стойкова Петкова документация. Спазени са изискванията на ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научните степени и заемане на академични длъжности в МУ Плевен. Нямам конфликт на интереси от участието ми в научното жури. Нямам общи научни трудове с докторанта.

Значимост на темата.

Острите респираторни заболявания (ОРЗ), в детска възраст са основна причина за заболяемост, хоспитализации и смъртност в световен мащаб. В последните години разкриването на плейотропните ефекти на витамин D очертаха ролята му в повлияване на естествения и придобит имунитет като модулатор на инфекциите чрез образуване на ендогенни антимикробни пептиди и инхибиране на производството на възпалителни цитокини.

Системното и целенасочено изследване на нивата на витамин D очертава значителен процент от населението с поднормени нива. Доказана е връзката между ниските нива на витамин D и редица хронични и остри заболявания, включително и такива на дихателните пътища, но за детска възраст у нас това не е достатъчно проучено. Липсва универсален консенсус и са налице ограничени насоки за определяне на статуса на витамин D, както при деца, така и при възрастни.

Структура. Дисертационният труд, написан на 114 страници, е добре балансиран и включва въведение (2 страници), литературен обзор (29 страници), цел и задачи (1 стр.), материали и методи (9 стр.), резултати, обсъждане и заключение (49 стр.), изводи и приноси (2 стр.), приложения (8 стр.). Онагледен е с 18 таблици и 16 фигури. Библиографията включва общо 399 заглавия, от които 6 са на кирилица и 393 на латиница, като 40 % от цитираните публикации са от последните 10 години, и 70 (18 %) от последните 5 години.

В **литературния обзор**, обхващащ 29 страници, системно и последователно са разгледани метаболизмът, биологията, методите за оценка на витамин D, дефинициите за статуса на витамин D — дефицит, недостатъчност, оптимални нива; разпространението на дефицита в глобален мащаб, както и в България, рисковите фактори за дефицит на витамин D. Разгледани са взаимодействието на витамин D с клетките на имунната система и техните метаболити, ролята му в регулацията на вродения и придобит имунитет, както и влиянието на витамин D върху възпалителния отговор и цитокините IL-1 β , IL-6, TNF- α . Представена е ролята на витамин D в протичането и тежестта на острите респираторни инфекции в детската възраст.

Специално внимание е отделено на проведените в България проучвания за статуса на вит. D и респираторните заболявания. В тях се отбелязва висока честота на неоптимален вит. D статус както при болни, така и при здрави контроли, но сравнението на резултатите е затруднено поради използваните различни референтни стойности за статус, различните методи за определяне на серумни концентрации и различен дизайн на проучванията.

Независимо от широко разпространения дефицит на витамин D в детска възраст, данните за ефекта на профилактиката в протичането на редица заболявания остават противоречиви, без категорични препоръки за рутинно прилагане на допълнително лечение (подпомагане) с цел предпазване от инфекции. Това налага задълбочаване на изследванията върху патофизиологията на връзката между витамин D и респираторни инфекции и е основа за формулиране на целта на дисертационния труд на д-р Гена Стойкова.

Целта на дисертационния труд е да се анализира ролята на витамин D и някои възпалителни маркери по отношение на клиничното протичане на остри респираторни инфекции на долни дихателни пътища в детска възраст. За постигане на целта са поставени четири основни **задачи**, които са добре формулирани и отговарят на поставената цел.

Пациенти и методи. Проучването е проспективно, едноцентрово, клинично-епидемиологично, аналитично-срезово. На база строго определени включващи и изключващи критерии са включени 129 пациенти и 30 здрави контроли на възраст 0-17 години. От пациентите 42 деца са с бронхопневмония, 32 с бронхиолит и 25 с остър бронхит.

Използвани са клинични и рентгенологични методи за верифициране на поставените диагнози, като за оценка на тежестта на остър бронхиолит, остра пневмония и остър бронхит са използвани съвременни скали, представени много добре. Използвани са съвременни лабораторни методи за оценка на нивата на витамин D, паратхормон, както и нивата на циркулиращи възпалителни цитокини.

Използвани са стандартни статистически методики, които позволяват достоверно оформяне на изводи.

Резултатите и обсъжданията са представени за всяка отделна задача на дисертационния труд.

По задача 1: Да се направи клинично-епидемиологичен анализ на децата с остри респираторни инфекции на долните дихателни пътища за периода 01.07.2021-30.12.2023г, Д-р Стойкова доказва, че липсва статистически значима разлика между болни и здрави по отношение на възраст, ръст и тегло. В групата на болните деца, преобладават тези с умерено по тежест протичане при бронхопневмония и бронхиолит и леко при остър бронхит.

Получените от д-р Стойкова резултати за честота и тежест на протичане на инфекции на долни дихателни пътища при деца съответстват на тези, публикувани в литературата и позволяват извършване на сравнителен анализ с тях.

По задача 2: Да се определи витамин D статуса при децата с остри респираторни инфекции чрез изследване серумните нива на 25(ОН) витамин D и паратхормона (PTH), д-р Стойкова намира значителна хетерогенност по отношение на нивата на витамин D, заболяванията и връзката с остри респираторни заболявания в

детска възраст. Тя доказва ясно изразена сезонна вариабилност на серумните нива на витамин D с най-ниски стойности през зимните месеци. В общата група липсва статистически значима разлика в средните серумни нива на витамин D и паратхормон спрямо здравите контроли, но анализът по категории показва по-висока честота на недостатъчност на витамин D при болните деца. Най-висок дял на недостатъчност на витамин D е установен при децата с бронхопневмония и остър бронхит. При децата с остър бронхиолит стойностите на витамин D не се различават от здравите контроли, което е свързано вероятно с възрастово обусловеният профилактичен прием на вит. D в ранна детска възраст. Това се отнася и за случаите с RSV бронхиолит в тази възрастова група.

По задача 3: Да се определи серумната концентрация на проинфламаторните цитокини IL-1, IL-6 и TNF-алфа в хода на острите респираторни инфекции Д-р Стойкова установява наличие на разлики в цитокиновия профил между децата с остри респираторни инфекции и контролната група. Налице е различен проинфламаторен цитокинов профил при отделните форми на остри респираторни инфекции в детската възраст. Особен интерес представлява връзката между проинфламаторните цитокини и RSV бронхиолит при деца. Д-р Стойкова доказва по-високи нива на IL-1 β и по-ниски на TNF- α в сравнение със здрави контроли, а липсата на статистически значима разлика в серумните нива на IL-6 при деца с RSV вирусен бронхиолит обяснява с преобладаващо умерена тежест на клинично протичане в изследваната група.

По задача 4: Да се проучи връзката между витамин D статуса, нивата на проинфламаторните цитокини и клиничното протичане на острите инфекции на дихателните пътища при деца, е изследвана корелационната зависимост между инфламаторните цитокини и нивата на витамин D. Установена е статистически значима връзка между бронхопневмонията и нивата на TNF- α и IL-1 β . Това означава, че при децата с бронхопневмония се наблюдават по-високи нива на тези провъзпалителни цитокини, което може да е свързано с по-тежкото протичане на заболяването. В дисертационния труд са анализирани и модели на взаимовръзка между различните инфламаторни цитокини и отделните диагностични групи (бронхиолит, остър бронхит, бронхопневмония). Сравнително еднородният спектър по отношение на тежестта на протичане на бронхопневмония, остър бронхит и бронхиолит не позволява извършването на сравнителен анализ между тези заболявания. В подгрупата на инфекции с RSV възпалителният отговор се характеризира с координирана активация на проинфламаторните цитокини, без наличие на пряка зависимост от серумните нива на витамин D или от тежестта на клиничното протичане. Всичко това насочва към извода, че възпалителният отговор е по-тясно свързан с патофизиологичните особености на отделните заболявания, а не със серумните нива на витамин D. Липсата на устойчиви зависимости между витамин D и

отделните цитокини в диагностичните подгрупи вероятно се дължи, както на ограничен брой пациенти, така и на сложния мултифакторен характер на възпалителния отговор при острите респираторни инфекции, включително възрастта на пациентите, тежестта и етиологията на инфекцията, сезонността, степента на витамин D недостатъчност и особеностите на индивидуалния имунен отговор.

Изводите, 4 на брой, логично и правилно формулирани, следват данните от резултатите и статистическия анализ и отговарят на поставените цел и задачи. Съгласна съм с представените 5 приноса, 3 иновативни за България и 2 с научно-теоретичен характер.

Представени са 8 публикации - три реални и 5 постери, представени на конгреси и конференции.

Авторефератът отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичните кадри.

Нямам критични бележки. Д-р Гена Стойкова се е съобразила с всички, направени от мен в предварителната защита.

В заключение дисертационният труд на д-р Гена Стойкова Петкова потвърждава сложния многофакторен характер на връзката между статуса на витамин D, клиничното протичане на острите респираторни инфекции в детска възраст и проинфламаторните цитокини.

Основно предимство на работата е интегрираният, проспективен дизайн, който комбинира измервания на витамин D, паратхормон и набор от възпалителни цитокини в рамките на два научноизследователски проекта, както и систематичният литературен обзор и детайлното описание на клиничните, рентгенологични и лабораторни методи, предоставящи устойчив фундамент за бъдещи изследвания и за практически клинични препоръки.

Дисертационният труд на д-р Гена Стойкова Петкова „Имунологични аспекти на дефицита на витамин D при деца с остри респираторни заболявания“ е висококачествено научно изследване, което отговаря на всички изисквания за присъждане на образователната и научна степен „доктор“. Аз ще гласувам положително и препоръчвам на членовете на научното жури да оценят положително дисертационният труд на д-р Гена Стойкова Петкова

На основание чл.59 от ЗЗЛД

София
10.09.2026

Изготвил становището:
Проф. Анна Кънева

STANDPOINT

The thesis and abstract on a topic

IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF VITAMIN D DEFICIENCY IN CHILDREN WITH RESPIRATORY DISEASES

Presented for public defense before a scientific jury for the award of a scientific and educational degree "doctor" in the field of higher education 7 Health care and sports, professional direction 7.1 Medicine in the doctoral program "Pediatrics"

Autor	Dr. GENA STOYKOVA PETKOVA Full-time Ph.D. student Department of Pediatrics, Medical University Pleven`
Supervisor	Ass.Prof. Boiko Shentov Ph.D.
Prepared the standpoint	Prof. Anna Ivanova Kaneva-Nencheva Ph.D. Clinic of Pediatric Cardiology, MHAT "National Heart Hospital", elected as a member of the scientific jury on the basis of Rector's order No. PK36-1990/01. 07.2026
Office address	65 Konjovitza str, 1309 Sofia Tel/fax: 029201471; email: kaneva_anna@abv.bg

I have not found any gaps in the documentation provided by Dr. Gena Stoikova Petkova. The requirements of the Law for the development of the academic staff of the Republic of Bulgaria, the applicable rules of the Law for the development of the academic staff, and the regulatory conditions and procedures for acquiring scientific degrees and occupying academic positions at Medical University Pleven have been met. I have no conflicts of interest arising from my participation on the scientific jury. I have no joint research papers with the Ph.D. student.

Importance of the topic

Acute respiratory infections (ARIs) in childhood are a leading cause of morbidity, hospitalizations, and mortality worldwide. In recent years, the discovery of the pleiotropic effects of vitamin D has highlighted its role in influencing innate and adaptive immunity as a modulator of infections through the formation of endogenous antimicrobial peptides and the inhibition of inflammatory cytokine production.

Systematic and targeted testing of vitamin D levels reveals that a significant percentage of the population has suboptimal levels. A link has been established between low vitamin D levels and a number of chronic and acute diseases, including respiratory tract diseases; however, this has not been sufficiently studied in children in our country. There is no universal consensus, and guidelines for determining vitamin D status are limited for both children and adults.

Structure. The dissertation, which is 114 pages long, is well-balanced and includes an introduction (2 pages), a literature review (29 pages), objectives and tasks (1 page), materials and methods (9 pages), results, discussion, and conclusion (49 pages), conclusions and contributions (2 pages), and appendices (8 pages). It is illustrated with 18 tables and 16 figures. The bibliography includes a total of 399 titles, of which 6 are in Cyrillic and 393 in Latin script; 40% of the cited publications are from the last 10 years, and 70 (18%) are from the last 5 years.

In the **literature review** systematically and consistently examines the metabolism and biology of vitamin D, methods for assessing vitamin D status, and definitions of vitamin D status—deficiency, insufficiency, and optimal levels; the prevalence of deficiency on a global scale as well as in Bulgaria, and the risk factors for vitamin D deficiency. The interaction of vitamin D with immune system cells and their metabolites is examined, as well as its role in the regulation of innate and adaptive immunity, and the influence of vitamin D on the inflammatory response and the cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α . The role of vitamin D in the course and severity of acute respiratory infections in childhood is presented.

Special attention is given to studies conducted in Bulgaria on vitamin D status and respiratory diseases. These studies report a high prevalence of suboptimal vitamin D status in both patients and healthy controls; however, comparing the results is

challenging due to the use of different reference values for status, different methods for determining serum concentrations, and varying study designs.

Despite the widespread prevalence of vitamin D deficiency in childhood, the evidence regarding the effect of prevention on the course of a number of diseases remains contradictory, with no definitive recommendations for the routine use of supplemental therapy to prevent infections. This necessitates further research into the pathophysiology of the relationship between vitamin D and respiratory infections and forms the basis for the objective of Dr. Gena Stoykova's dissertation.

The **aim** of this dissertation is to analyze the role of vitamin D and certain inflammatory markers in the clinical course of acute lower respiratory tract infections in children.

To achieve this objective, **four main research questions** have been formulated; they are clearly defined and align with the stated objective.

Patients and Methods. This was a prospective, single-center, clinical-epidemiological, cross-sectional study. Based on strictly defined inclusion and exclusion criteria, 129 patients and 30 healthy controls aged 0–17 years were enrolled. Among the patients, 42 children had bronchopneumonia, 32 had bronchiolitis, and 25 had acute bronchitis.

Clinical and radiological methods were used to verify the diagnoses, and modern, well-documented scales were employed to assess the severity of acute bronchiolitis, acute pneumonia, and acute bronchitis. Modern laboratory methods were used to assess levels of vitamin D, parathyroid hormone, and circulating inflammatory cytokines.

Standard statistical methods were employed, allowing for the reliable formulation of conclusions.

The results and discussions are presented for each individual task of the dissertation.

Task 1: Conduct a clinical-epidemiological analysis of children with acute lower respiratory tract infections for the period July 1, 2021–December 30, 2023, Dr. Stoykova demonstrates that there is no statistically significant difference between sick and healthy children in terms of age, height, and weight. In the group of sick

children, those with moderate severity of bronchopneumonia and bronchiolitis predominate, while those with mild severity predominate in cases of acute bronchitis.

Dr. Stoykova's findings regarding the frequency and severity of lower respiratory tract infections in children correspond to those published in the literature and allow for a comparative analysis with them.

Task 2: To determine vitamin D status in children with acute respiratory infections by measuring serum levels of 25(OH) vitamin D and parathyroid hormone (PTH); Dr. Stoykova found significant heterogeneity regarding vitamin D levels, diseases, and the association with acute respiratory illnesses in childhood. She demonstrated a clearly pronounced seasonal variability in serum vitamin D levels, with the lowest values occurring during the winter months. In the overall group, there was no statistically significant difference in the mean serum levels of vitamin D and parathyroid hormone compared to healthy controls, but analysis by category revealed a higher prevalence of vitamin D deficiency among sick children. The highest prevalence of vitamin D deficiency was observed in children with bronchopneumonia and acute bronchitis. In children with acute bronchiolitis, vitamin D levels did not differ from those of healthy controls, which is likely related to age-appropriate prophylactic supplementation with vitamin D in early childhood. This also applies to cases of RSV bronchiolitis in this age group.

Task 3: "Determine the serum concentrations of the pro-inflammatory cytokines IL-1, IL-6, and TNF-alpha during acute respiratory infections," Dr. Stoykova found differences in the cytokine profile between children with acute respiratory infections and the control group. There is a distinct pro-inflammatory cytokine profile among the various forms of acute respiratory infections in children. Of particular interest is the relationship between pro-inflammatory cytokines and RSV bronchiolitis in children. Dr. Stoykova demonstrated higher levels of IL-1 β and lower levels of TNF- α compared to healthy controls, and she attributes the lack of a statistically significant difference in serum IL-6 levels in children with RSV viral bronchiolitis to the predominantly moderate severity of the clinical course in the study group.

Task 4: To investigate the relationship between vitamin D status, levels of pro-inflammatory cytokines, and the clinical course of acute respiratory tract infections

in children, the correlation between inflammatory cytokines and vitamin D levels was examined. A statistically significant association was found between bronchopneumonia and levels of TNF- α and IL-1 β . This means that children with bronchopneumonia exhibit higher levels of these pro-inflammatory cytokines, which may be associated with a more severe course of the disease. The dissertation also analyzes patterns of interrelationships between the various inflammatory cytokines and the individual diagnostic groups (bronchiolitis, acute bronchitis, bronchopneumonia). The relatively homogeneous spectrum in terms of the severity of broncho-pneumonia, acute bronchitis, and bronchiolitis does not allow for a comparative analysis between these diseases. In the subgroup of RSV infections, the inflammatory response is characterized by coordinated activation of pro-inflammatory cytokines, with no direct correlation to serum vitamin D levels or the severity of the clinical course. All of this points to the conclusion that the inflammatory response is more closely linked to the pathophysiological characteristics of individual diseases than to serum vitamin D levels. The lack of consistent associations between vitamin D and individual cytokines in the diagnostic subgroups is likely due both to the limited number of patients and to the complex, multifactorial nature of the inflammatory response in acute respiratory infections, including patient age, the severity and etiology of the infection, seasonality, the degree of vitamin D deficiency, and the characteristics of the individual immune response.

The conclusions—four in total—are logically and correctly formulated, follow from the data, results, and statistical analysis, and correspond to the stated objectives and tasks. I agree with the five contributions presented: three are innovative for Bulgaria, and two are of a scientific-theoretical nature.

Eight publications are presented—three full-length papers and five posters presented at congresses and conferences

The **abstract** meets the requirements of the Academic Staff Development Act.

I have no critical comments. Dr. Gena Stoykova has addressed all the comments I made during the preliminary defense.

In **conclusion**, the dissertation by Dr. Gena Stoykova Petkova confirms the complex, multifactorial nature of the relationship between vitamin D status, the clinical course of acute respiratory infections in childhood, and pro-inflammatory cytokines.

A key strength of the study is its integrated, prospective design, which combines measurements of vitamin D, parathyroid hormone, and a range of inflammatory cytokines across two research projects, as well as the systematic literature review and detailed description of clinical, radiological, and laboratory methods, providing a solid foundation for future research and practical clinical recommendations.

Dr. Gena Stoykova Petkova's dissertation, "Immunological Aspects of Vitamin D Deficiency in Children with Respiratory асѣѣѣѣѣ," is a high-quality scientific study that meets all the requirements for the award of the academic and scientific degree of "Doctor." I will vote in favor and recommend that the members of the academic jury give a positive evaluation of Dr. Gena Stoykova Petkova's dissertation.

На основание чл.59 от ЗЗЛД

Sofia 10.09.2026

Prof. Anna Kaneva-Nencheva