

СТАНОВИЩЕ

от

Доц. д-р Мария Николаева Симеонова, дм

на дисертационен труд за присъждане на ОНС “Доктор”

Област на висше образование: 7.1. Здравеопазване и спорт , Професионално направление:
7.1.Медицина, Научна специалност: „Медицинска генетика”

Автор: д-р Зорница Богомилова Камбурова-Мартинова

Катедра: Медицинска генетика, МУ- Плевен

Тема: Проучване върху носителството на генетични дефекти за предразположение при жени с рак на гърда и рак на яйчник от Българската популация и значението на установените генетични варианти за изграждане на подход за генетично консултиране при тези заболявания

Научен ръководител: проф. д-р Катя Стефанова Ковачева-Коцева, дм

Със Заповед № 3765/ 17.12.2024 год. на Ректора на МУ- Плевен, съм избрана за член на Научното жури (НЖ) във връзка с дисертационния труд на д-р Зорница Камбурова-Мартинова, а с Решение от 1-то заседание на НЖ съм определена за Председател. Декларирам, че нямам конфликт на интереси с авторката на дисертационния труд.

Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект документи и материали е в съответствие с процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ-Плевен и Правилника за РАС на Университета.

Становището е изготвено въз основа на представен автореферат и дисертационен труд. Последният е в обем 172 страници и съдържа 20 фигури и 28 таблици. Библиографията обхваща 465 литературни източника, от които 5 на кирилица и 460 на латиница.

Дисертацията и авторефератът са структурирана по правилата за изготвяне на такъв вид научни трудове, въпреки твърде големия обем. Прави добро впечатление, че разделите Резултати и Обсъждане са представени като общ раздел, с което се избягват излишни повторения и по-лесно се възприема логичната последователности и стойност на данните. За това допринася и финалното Обобщение. Доказателственият материал е с много добро качество и свидетелства за възможностите на докторантката. Прочитът на дисертацията оставя цялостно впечатление на мащабно, многопластово научно проучване.

Актуалност на тематиката

Актуалността на тематиката е безспорна. Ракът на гърдата е най-честото раково заболяване сред жените, а ракът на яйчниците е едно от най-злокачествените - с агресивно протичане и ниска преживяемост. Това определя медико-социалното значение на тези две злокачествени заболявания. Етиологията им е комплексна и включва участие на генетични и средови фактори, в сложни взаимодействия помежду им. Унаследените герминативни мутации в гени за предразположение към рак са в основата на наследствените форми при тези две заболявания. Разкриването на генетичната природа на наследствения рак на гърда и яйчници доскоро се ограничаваше до няколко високо-рискови гени. Днес, с навлизането на новите геномни технологии-секвениране от следващо поколение спектърът на гени, участващи в наследственото предразположение непрекъснато расте. За мен дисертационният труд на Зорница Камбурова е актуален и е с принос за нашата и международната научна общност главно по 2 причини. От една страна за пръв път в България е проведено широкомащабно изследване на генетични дефекти в широк спектър от 94 гени за предразположение, при жени с рак на гърда или рак на яйчник от Българската популация – важни социално-значими заболявания. Използвани са най-модерни методи за секвениране от следващо поколение. Открити са и нови патогенни варианти, които не са описвани досега за Българската популация, както и такива, които никога не са описвани в световни бази данни. От друга страна, резултатите от проучването дават реална възможност за по-пълноценно генетично консултиране на такива пациенти и техните семейства. Освен това се потвърждават отговорностите и ролята на генетичния консултант, като интегрална част от мултидисциплинарен екип, ангажиран с пациенти с РГ или РЯ. Много важен е изградения комплексен подход за генетично консултиране при пациенти с наследствен РГ/РЯ и техни рискови родственици, в зависимост от установения носителски статус на П/ВП вариант. Това е важно за ранната диагноза, по-ефективно лечение и профилактика на тези заболявания.

Познаване на проблема и целесъобразност на целта и задачите

Обзорът е много обтоен и дори прекалено детайлен. Разделен е на 4 основни раздела с техните подраздели, с оглед предвидените етапи на научното проучване. Акцент в него е генетичното консултиране при различните видове рак на гърдата и яйчника. Систематизирането на литературните данни показва, че докторантката много добре познава проблема и може да прави анализ на цитираната литература. Очевидно е, че в хода на разработване на дисертацията, тя е обогатила и надградила знанията и уменията си в областта на човешката онкогенетика и най-вече в приложението на най-новите геномни технологии и методи за диагностика. Добро впечатление прави представеното самостоятелно Обобщение на литературния обзор. Именно в него логично се обосновава замисъла на целта и задачите на дисертационния труд. За Българската популация, липсват публикувани данни за дела на умерено-пенетрантните гени в етиологията на РГ и РЯ, както и за спектъра на мутации във високо-пенетрантни гени, различни от BRCA1 и 2.

Проучванията върху генетичната етиология на РГ/РЯ за Българската популация са провеждани предимно сред селектирани групи фамилии. Всичко това поражда интереса на докторантката към по-задълбочено проучване на генетичната основа при наследствени форми на РГ и РЯ, използвайки новите геномни технологии и стават обект на настоящата научна разработка.

Цел и задачи

Целта е формулирана много добре. За постигането ѝ са заложили 5 основни задачи с множество подзадачи. Те са представени конкретно и са адекватни на поставената цел.

Методология на изследването

В проучването са представени – 203 пациентки с рак на гърдата, разделени правилно, по възраст (5 групи), по критерии за фамиленост (6 групи), според имунохистохимичния статус (4 групи); и 67 жени с рак на яйчника за период от 11 години. Пациентките са набирани проспективно. Те са посетили кабинета за ГК към УМБАЛ Георги Странски – Плевен. Набирани са също ретроспективно от регистъра на Онкологичния център на същата болница. Жените с рак на яйчника са включвани предимно проспективно от тези преминаващи лечение в УМБАЛ Георги Странски Плевен.

Стегнато и ясно са представени използваните методи, а именно – Анкетен метод; Генеалогичен метод, ДНК анализ с изолиране на ДНК, Масивно паралелно секвениране и Анализ на данните от секвенирането; Генетично консултиране и Статистическа обработка на данните.

Приложената в дисертационния труд методология е най - съвременна. Тя позволява постигане на поставената цел и дава адекватен отговор на задачите. Представени са подробно главните методични етапа на изследването и използваните в тях методи. Безспорно, докторантката показва много добра теоретична и практическа подготовка и професионален опит. Високо оценявам личния труд, който тя е вложила в усвояването и прилагането на високотехнологичните методи в дисертационния си труд.

Резултати и обсъждане

Подкрепям подхода на авторката да представи резултатите заедно с тяхното обсъждане в общ раздел. Резултатите са описани последователно така, както логично е следвало самото проучване, в основните етапа на разработката. Добро впечатление правят обобщенията, които се правят след всеки раздел и подраздел на резултатите. Това потвърждава умението на докторантката да обобщава и анализира. Онагледяването на резултатите е с много добро качество. Фигурите и таблиците са информативни, Не се преповтарят детайлно в текста, но би било добре да отразяват данни от статистически анализ, особено при някои, което би допринесло за по-добро разбиране на получените резултати. Етапите на научната разработка са следните:

Първият етап е Възрастови, репродуктивни, фамилни и клинични характеристики на проучваните жени с РГ и хистологични и молекулярни характеристики на туморите при тях“. Дисертантката установява:

Най-често се засяга възрастовата група между 40-49 г.; По-честата локализация на туморите е лява гърда; Фамилност се установява в 16% от всички случаи на РГ; Най-честият хистологичен тип е NST, а най-честият сурогатен субтип е Луминален А.

Вторият етап на проучването е Честота на носителство и профила на патогенни/вероятно патогенни (П/ВП) варианти в гените за предразположение към рак сред изследваната група жени с РГ. Авторката установява:

Честотата на носителство на ПВ в гени за предразположение към РГ в общата група жени е 22%. Делът на ТНРГ е по-висок от този докладван по литературни данни. Съгласна съм с обяснението на авторката. В равна степен са засегнати високо- и умерено пенетрантните гени. Най-висока е честотата на носителство на ПВ сред пациентките, рано диагностицирани до 39г. Най-често са засегнати BRCA1/2 гените, докато в групата жени след 40г, най-често се откриват ПВ в умерено-пенетрантни гени.

Честотата на открито носителство на ПВ в BRCA гените се повишава и достига до 44%, ако при анализа на фамилната анамнеза се взимат предвид и родствениците с РЯ. Докторантката потвърждава сходната генетична етиология (участие на BRCA1/2 гените) при двете заболявания – рак на гърдата и рак на яйчника. Сред жените с ТНРГ носителството на ПВ е 43,2%, като около 2/3 от тях са в BRCA1 гена.

Третият етап е Възрастови, репродуктивни, фамилни, хистологични и клинични характеристики на проучваните жени с РЯ:

Потвърждава се, че най-засегнатата възрастовата група е между 50-69г., като намерената средна възраст на диагностициране е 57,54г. Наднорменото тегло участва в етиология на РЯ. В изследването фамилният РЯ има дял около 12% от всички случаи. Най-честия хистологичен тип е ВССОК.

Четвърти етап : Честота на носителство и профила (вид и молекулярна характеристика) на П/ВП варианти в гените за предразположение към рак сред изследваната група жени с РЯ и РГ:

Честотата на носителство на ПВ в гени за предразположение в общата група жени с РЯ е 27%. В общата група проучвани жени с РГ и РЯ се откриват 45 ПВ (в 22 гена). Шест от тях са в гените FANCM, FANCG, BRIP1 (FANCI), RAD51C, TP53 и ERCC5) и не са докладвани досега. Синдром на наследствена мултилокусна неоплазия авторката установява в 2% от всички изследвани жени с РГ и РЯ, като в 40% от тези случаи единият от вариантите е в BRCA гените. Съгласна съм с оценката, че особеностите в генетичния профил на Българската популация, потвърждава необходимостта от прилагане на по-всеобхватен генетичен скрининг, с използване на новите геномни NGS технологии.

Пети етап: Изграждане на подход за генетично консултиране, в зависимост от носителския статус на П/ВП вариант в гените за предразположение при пациенти с РГ/РЯ

При ГК на жените с наследствени форми на РГ/РЯ, дължащи се на ПВ във високо-пенетрантните гени докторантката се е придържала основно към общоприетите препоръки. Но при жените с носителство на ПВ в умерено-пенетрантните гени ролята на генетичния консултант става критично важна за персонализиране на риска и изграждане на най-подходяща стратегията за профилактика на други възможни локализации.

Споделям извода, че ГК при РГ и РЯ е основен подход за откриване на наследствени форми на тези заболявания и че ГК позволява на генетичния консултант да направи точна оценка на риска при конкретния пациент и негови родственици, като даде насоки за по-ефективна ранна диагноза, лечение и профилактика.

Изводи

Приемам изводите. Те са добре обмислени и конкретно формулирани. Направени са 5 основни извода с няколко под-извода, отразяващи коректно етапите и подетапите на проучването. Те са точен отговор на поставените задачи.

Приноси.

Приемам приносите и самооценката на докторантката. Получените резултати могат да са база за сравнителни популационни проучвания и планирани действия в областта на медицинското обслужване при пациенти с РГ/РЯ. Много ценни за мен са и приносите с приложен характер, касаещи изградения цялостния подход за генетично консултиране - насочване към кабинет за МГК, назначаване и интерпретиране на генетичните изследвания, определяне на риска и съставяне на индивидуален план за пациентките и родствениците им.

Публикационна активност на д-р Камбурова, свързана с дисертационния труд, като брой и качество, научни трудове са достатъчни за ОНС "доктор".

Автореферат

Авторефератът представлява добре представен самостоятелен научен труд и представлява добър атестат за докторантката. Той е изготвен според изискванията и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на д-р Зорница Камбурова съдържа научни и клинично-приложни резултати, които са принос не само в българската наука. Дисертацията отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане и Правилника за РАС на МУ - Плевен. Докторантката притежава теоретични знания и професионални умения за научната специалност “Медицинска генетика“.Тя демонстрира качества и възможности за самостоятелно провеждане на задълбочено научно изследване. Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното дисертационно проучване и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен ‘доктор’ на д-р Зорница Богомилова Камбурова-Мартинова, в докторската програма по Медицинска генетика.

05.02.2025 г.

Изготвил становище: На основание чл. 59 от ЗЗЛД

(Доц. д-р Мария Симеонова, дм)

STATEMENT
by
Assoc. Prof. Maria Nikolaeva Simeonova, PhD

dissertation for the award of PhD

Field of higher education: 7.1. Medicine,

Scientific specialty: "Medical Genetics"

Author: Dr. Zornitsa Bogomilova Kamburova-Martinova

Department of Medical Genetics, Medical University - Pleven

Topic: Study on the inheritance of genetic predispositions in women with breast and ovarian cancer in the Bulgarian population and the significance of the identified genetic variants for the development of a genetic counselling approach for these diseases

Scientific supervisor: Prof. Dr. Katya Stefanova Kovacheva-Kotseva, PhD

By Order No. 3765/17.12.2024 of the Rector of MU-Pleven, I have been elected as a member of the Scientific Jury (SJ) in connection with the dissertation of Dr. Zornitsa Kamburova-Martinova, and by the decision of the first meeting of the SJ I have been appointed as Chairperson. I declare that I have no conflict of interest with the author of the dissertation.

General presentation of the procedure and the PhD student

The submitted set of documents and materials is in accordance with the procedure for obtaining the PhD degree at MU-Pleven and the regulations of the University.

The assessment is based on the submitted abstract and the dissertation. The latter is 172 pages long and contains 20 figures and 28 tables. The bibliography contains 465 references, 5 of which are in Cyrillic and 460 in Latin

Despite the very large volume, the dissertation and the abstract are structured according to the rules for the preparation of this type of scientific work. It makes a

good impression that the Results and Discussion sections are presented as a single section, which avoids unnecessary repetition and makes it easier to perceive the logical sequence and value of the data. The final summary also contributes to this. The evidence is of very good quality and demonstrates the skills of the PhD student. A review of the dissertation leaves the overall impression of a large-scale, multi-layered research study.

Topical relevance

The topicality of the subject is undeniable. Breast cancer is the most common cancer in women, and ovarian cancer is one of the most malignant - with an aggressive course and low survival rate. This determines the medical and social significance of these two malignancies. Their aetiology is complex and involves the participation of genetic and environmental factors, which interact with each other in complex ways. The inherited forms of these two diseases are based on germline mutations in cancer predisposition genes. Until recently, deciphering the genetic nature of hereditary breast and ovarian cancer was limited to a few high-risk genes. Today, with the advent of new next-generation genome sequencing technologies, the spectrum of genes involved in hereditary predisposition is widening

For me, Zornitsa Kamburova's dissertation is relevant and contributes to our and the international scientific community for two main reasons. Firstly, for the first time in Bulgaria, a large-scale study was conducted on genetic defects in a broad spectrum of 94 predisposition genes in women with breast or ovarian cancer from the Bulgarian population - important socially significant diseases. State-of-the-art next-generation sequencing methods were used. Novel pathogenic variants were also discovered that had not previously been described for the Bulgarian population, as well as those that had never been described in global databases.

On the other hand, the results of the study provide a real opportunity for more comprehensive genetic counselling of these patients and their families. In addition, the responsibilities and role of the genetic counsellor as an integral part of a multidisciplinary team caring for patients with BC or OC are confirmed. The established comprehensive approach to genetic counselling of patients with hereditary BC/OC and their at-risk relatives, depending on the identified carrier status of the P/LP variant, is very important. This is important for early diagnosis, more effective treatment and prevention of these diseases.

Knowledge of the problem and appropriateness of the objectives

The overview is very thorough and even excessively detailed. It is divided into 4 main sections with corresponding subsections based on the intended research phases. The focus is on genetic counselling for different types of breast and ovarian cancer. The systematisation of the literature data shows that the PhD student is very familiar with the problem and can analyse the cited literature. It is obvious that in the course of writing her dissertation she has enriched and expanded her knowledge and skills in the field of human oncogenetics and especially in the application of the latest genomic technologies and diagnostic methods. The self-prepared summary of the literature review makes a good impression. Here the aim and objectives of the work are logically justified. For the Bulgarian population, there are no published data on the proportion of moderate-penetrant genes in the aetiology of BC and OC and on the spectrum of mutations in high-penetrant genes other than BRCA1 and 2. Studies on the genetic aetiology of BC/OC in the Bulgarian population have been conducted mainly in selected families. All this aroused the interest of the PhD student in a more in-depth study of the genetic basis of the hereditary forms of BC and OC using new genomic technologies and became the subject of the growing scientific work.

Aim and tasks

The aim is very well formulated. There are 5 main tasks with many subtasks to achieve it. They are presented specifically and are appropriate to the objective set.

Research methodology

The study included 203 breast cancer patients correctly categorised by age (5 groups), familial criteria (6 groups) and immunohistochemical status (4 groups), and 67 women with ovarian cancer over a period of 11 years. Patients were prospectively recruited. They visited the genetic counselor at the Georgi Stranski University Hospital - Pleven. They were also retrospectively recruited from the registry of the Oncology Centre of the same hospital. Women with ovarian cancer

were mainly prospectively included in the study as they were undergoing treatment at the Georgi Stranski Pleven University Hospital.

The methods used are briefly and clearly presented, namely - Interview method; Genealogical method, DNA analysis with DNA isolation, Massive Parallel Sequencing and sequencing data analysis; Genetic counselling and Statistical data processing

The methodology used in this work is the most modern. It makes it possible to achieve the objective set and provide an appropriate response to the tasks. The main methodological stages of the research and the methods used are presented in detail. Undoubtedly, the doctoral student has a very good theoretical and practical training and professional experience. I highly appreciate the personal work she has put into learning and applying the high-tech methods in her dissertation.

Results and discussion

I support the author's approach of presenting the results together with her discussion in a general section. The results are described in the order in which the study itself was logically conducted at the key stages of development. The summaries of the individual sections and subsections of the results make a good impression. This confirms the PhD student's ability to summarise and analyse. The illustration of the results is of very good quality. The figures and tables are informative. They are not repeated in detail in the text, but it would have been good to reproduce data from the statistical analysis, especially in some that would contribute to a better understanding of the results obtained. The research is organised as follows

The first part is "age, reproductive, familial and clinical characteristics of women with BC and histological and molecular characteristics of their tumours".

The dissertation states: The most commonly affected age group is between 40 and 49 years; the most common tumor localization is the left breast; 16% of all BC cases are familial; the most common histologic type is NST, and the most common surrogate subtype is luminal A.

The second part of the study looked at the frequency of occurrence and profile of pathogenic/likely pathogenic (P/LP) variants in cancer predisposition genes in the study group of women with BC. The author found:

The prevalence of PV carriers in genes predisposing to BC in the overall group of women was 22%. The proportion of TNBC was higher than reported in the literature. I agree with the author's statement. Genes with high and moderate penetrance are equally affected. The highest prevalence of PV carrier was seen in patients diagnosed early and up to 39 years of age. BRCA1/2 genes were most frequently affected, while in the group of women after 40 years of age, PV was most frequently found in genes with medium penetrance.

The frequency of detected PV in BRCA genes increases and reaches 44% when relatives with OC are included in the genealogical analysis. The dissertation confirms the similar genetic etiology (involvement of BRCA1/2 genes) in both diseases - breast cancer and ovarian cancer. Among women with TNBC, the prevalence of PV was 43.2%, with approximately two-thirds involving the BRCA1 gene.

The third part looks at the age, reproductive, familial, histologic and clinical characteristics of the women with OC studied:

It is confirmed that the most affected age group is between 50 and 69 years, with an average age at diagnosis of 57.54 years. Obesity is involved in the etiology of OC. In the study, familial RA accounted for about 12% of all cases. The most common histologic type was SOC.

The fourth part: frequency of carriers and profile (type and molecular characteristics) of P/LP variants in cancer predisposition genes in the study group of women with BC and OC:

The prevalence of PV variants in susceptibility genes in the overall group of women with OC was 27%. In the overall study group of women with BC and OC, 45 PVs (in 22 genes) were found. Six of these were in the genes FANCM, FANCG, BRIP1 (FANCI), RAD51C, TP53 and ERCC5) and have not been previously reported. The author found a hereditary multilocus neoplasia syndrome in 2% of all women with BC and OC studied, and in 40% of these cases one of the variants was in the BRCA genes. I agree with the assessment that the peculiarities of the genetic profile of the Bulgarian population confirm the need for more comprehensive genetic screening using new genomic NGS technologies.

The fifth part: Development of an approach for genetic counseling depending on the carrier status of the P/LP variant in the susceptibility genes in patients with

In the genetic counselling of women with hereditary forms of BC/OC due to PV in the high - penetrant genes, the PhD student mainly followed the generally accepted recommendations. However, in women with PV in moderate-penetrant genes, the role of the genetic counselor is crucial to personalize the risk and develop the most appropriate prophylaxis strategy for other possible sites.

I agree with the conclusion that genetic counselling in BC and OC is a fundamental approach to detect inherited forms of these diseases and it allows the genetic counselor to more accurately assess the risk of the individual patient and her relatives, providing guidance for more effective early diagnosis, treatment and prevention.

Conclusions

I accept the conclusions. They are well thought out and concise. There are 5 main conclusions with some sub-conclusions that accurately reflect the stages and sub-stages of the study. They are an accurate response to the tasks set.

Contributions

I accept the contributions and self-evaluation of the dissertation. The results obtained can be the basis for comparative population studies and planned interventions in the field of medical care for patients with BC/OC. Also very valuable are the contributions of an applied nature related to the established comprehensive approach to genetic counseling - referral to an office for medical genetic counselling, ordering and interpretation of genetic tests, determination of risk, and development of an individualized plan for patients and their families.

Dr. Kamburova's publication activity related to the dissertation, in terms of number and quality, scientific papers are sufficient for the PhD.

Abstract

The abstract is a well-presented independent scientific work and is a good testimonial for the PhD student. It has been prepared as required and reflects the main findings of the dissertation.

CONCLUSION

The dissertation work of Dr. Zornitsa Kamburova contains scientific and clinical-analytical results that are not only a contribution to Bulgarian science. The dissertation fulfills all the requirements of the Law on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the regulations for its implementation and the regulations of the RAS of MU - Pleven. The PhD candidate has theoretical knowledge and professional skills for the scientific specialty "Medical Genetics". Based on the above, I confidently submit my positive evaluation for the dissertation research conducted and propose to the honorable scientific jury to award the educational and scientific degree 'Doctor' to Dr. Zornitsa Bogomilova Kamburova-Martinova within the PhD program in Medical Genetics.

05.02.2025

Prepared statement: На основание чл. 59 от ЗЗЛД
.....
(Assoc. Prof. Maria Simeonova, PhD)