

РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Юлиан Руменов Ананиев, дм
Декан на Медицински Факултет, Тракийски Университет
Ръководител на Катедра по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология,
и дерматовенерология

Относно: дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен

„ДОКТОР“

На д-р Васил Димитров Нанев

Катедра "Сестрински и хирургични грижи" – МУ – Плевен, Факултет „Здравни грижи“, за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ в област на висшето образование 7. „Здравеопазване и спорт“, професионално направление 7.1 „Медицина“, научна специалност „Обща хирургия“

С тема на дисертационния труд: **„Проучване честотата и ролята на морфологичния и биологичен туморен хетерогенитет при карцином на млечната жлеза“**

Научен ръководител:

Доц. д-р Страхил Асенов Страшилов, дм
Доц. д-р Иван Недков Иванов, дм

Кратки данни за докторанта

Д-р Васил Димитров Нанев е роден на 6 март 1978 г. Завършва медицинското си образование в МУ-Плевен през 2005 г, а от 2006 до 2011 г специализира „Хирургия“ в МУ Плевен. През 2011 г придобива специалност, като от 2009 г работи в Клиниката по онкологична хирургия на УМБАЛ „Георги Странски“ Плевен и е асистент във Факултета по Здравни грижи на МУ-Плевен. От месец септември 2022 г до днес работи в Отделение по гръда хирургия на УМБАЛ „Георги Странски“ Плевен. Владее на добро ниво английски език.

Описание, актуалност и значимост на темата

Дисертационният труд на д-р Нанев представлява задълбочено клинично-морфологично проучване с акцент върху изследването на морфологичния и биологичен туморен хетерогенитет при пациенти с карцином на млечната жлеза подходящи за неoadjuвантна химиотерапия. Дисертационният труд е представен на 145 страници, съдържа 2 диаграми, 16 фигури, 36 таблици, както и 4 приложения. Трудът се състои от: списък на използваните съкращения, литературен обзор, цел, задачи, материали и методи, резултати, дискусия, изводи, приноси, референции, публикации и участия в научни прояви във връзка с дисертационния труд и приложения.

В началото след използваните съкращения, дисертацията започва с „Литературен обзор“, в който авторът представя кратка справка относно разпространението на рака на млечната жлеза в ЕС и България. Следва преглед на значението на туморната биология на заболяването, връзката на експресирани от него рецептори, изборът на терапия и значение за прогресията. В по-широк обем е представен терминът „туморен хетерогенитет“, като тук д-р Нанев описва историческото развитие на терминологията, видовете хетерогенитет, генетичните и епигенетични негови характеристики, значението на туморната микросреда. Особено внимание е обърнато на различните популации тумор-инфилтриращи и съпътстващи клетки, както и на значението на стромата и метаболитната му активност. Следва стратифициране на хетерогенността със задълбочено описание на морфологичния и молекулярен хетерогенитет, молекулното и генно субтипизиране, както и еволюцията на туморния растеж и значението на някои молекулни фактори имащи отношение към нея.

Освен морфологичните и молекулярни описание е представен и изборът на метод за диагностика – тънкоиглена срещу дебелоглена биопсия, като са сравнени техните предимства и недостатъци. В края е представена кратка част, отнесена към терапевтичните опции при пациенти с рак на млечната жлеза, базирайки се именно върху морфологичните и молекулярни профили определени на база тъканния материал изследван чрез биопсия или резекция.

Следва главата „Цел“, в която д-р Нанев планира да установи ролята на морфологичния и биологичен туморен хетерогенитет при диагностика на пациенти с

карцином на млечната жлеза подходящи за неoadювантна химиотерапия и значението върху последващия терапевтичен подход. За реализирането на тази цел, в главата „**Задачи**“ са представени пет такива, пряко обвързани с целта на проучването и целящи да предоставят сигнификантна информация по отношение връзката на особеностите на тези тумори, терапията и прогресията им.

В главата „**Материали и методи**“ е описано проучване обхващащо период от 5 години /2016 г – 2021 г/ сред 110 пълнолетни пациенти с клинични и образни данни (категоризирани с BIRADS 4-5) за формация в млечните жлези подлежащи на хистологична верификация, след която отговарят на критериите за неoadювантна химиотерапия - пациенти с авансирало заболяване подходящи за предоперативна системна терапия. Описани са критерии за включване и изключващи такива, като са описани детайлно множество клинични и лабораторни характеристики. Авторът представя и подробно описва четири метода използвани в изследването: хирургични, патологоанатомични, документални и статистически методи.

Представено е етично разрешение за провеждане на проучването.

Следва главата „**Резултати**“, в която същите са представени по реда на описание на задачите. По *Задача 1*, авторът първоначално представя разпределение по някои демографски показатели, сравнявайки ги с хетерогенността, като заключава, че най-чести са комбинациите включващи два морфологично отличими компонента, а комбинация от три се описват само при един от случаите. Случаите на хетерогенитет са представени и добре описани в таблица, като след нея е направен задълбочен анализ и представяне на два клинични случаи от практиката. По представените резултати от *Задача 2*, д-р Нанев определя зависимостите на честотата на туморен хетерогенитет от използвания метод за хистологична верификация, като тук са описани корелациите в зависимост от брой тъканни цилиндри. Представена е чувствителността и специфичността при отделните използвани диагностични методи, включително сравнението с резултатите от резекция след иглена биопсия. В резултатите от *Задача 3* се представя разпределението на подбрани на случаен принцип случаи с нехетерогенни тумори според морфологичен вариант, фокалност, степен на диференциация и молекулярен субтип преди и след проведена неoadювантна химиотерапия. Отчетен и съпоставен с тези данни е туморният и нодуларен статус, туморната диференциация, молекулярния статус на базата на отделните субтипове

неоплазмен процес и терапевтичният отговор. В допълнение и в тази подглава са представени множество микроскопски фотографии с висока резолюция и качество. Следват резултатите по *Задача 4*, където следва да се определят рецидиви и преживяемост при пациенти с доказан туморен хетерогенитет и неoadювантна химиотерапия и въпреки сравнително малкият брой пациенти и невъзможността да се извършват генерални заключения, със и без сигнификантност се установява по-ниска преживяемост при пациентите с хетерогенни тумори, както и различни данни по отношение на групата разделена в зависимост от туморния и нодалния статус, степен на патологичен отговор и наличие на остатъчен тумор. В последната *Задача 5*, резултатите свързани с ролята на пролиферативна и апоптотична активност преди и след неoadювантна химиотерапия при популация от тумори, съдържащи случаи и с туморен хетерогенитет се описани с голям набор от данни сравнявайки експресията на редица маркери и отношението към проведените вид терапия и прогресия на заболяването. При всички корелационни анализи са представени резултатите заедно с тяхната степен на достоверност.

Следва главата **„Дискусия“**, в която авторът в широк обем и данни от открити литературни източници в достъпните до него бази данни, сравнява своите резултати и зависимости по отношение на: морфологичен туморен хетерогенитет, молекулярен интратуморен хетерогенитет, мултифокалност, възрастово разпределение, честотата на туморен хетерогенитет от използвания метод за хистологична верификация, корелациите на находките с неoadювантната химиотерапия, преживяемостта в различните групи и пролиферативна и апоптотична активност.

В главите **„Изводи“** и **„Приноси“** са посочени 10 извода, на база предходните две глави, както и общо 2 групи приноси – 6 приноса с научен и оригинален характер и 7 с приложен характер.

Глава **„Референции“** се състои от 358 източника, в по-голямата си част от последните 10 години, а 87 от последните 5 години.

Представени са още – 3 публикации във връзка с дисертационния труд, в които д-р Нанев е първи автор, като две от тях са реферирани в Scopus, една в Web of Science, а също и една публикация, в която той е съавтор.

Авторът на дисертационния труд участва и в един научно-изследователски проект - №6/2022 г със заглавие „Оценка на експресията на апоптогичния маркер фактор Caspase 3 и пролиферативен индекс оценен чрез Ki 67 преди и след неoadювантна химиотерапия при отделни молекулярни субтипове карцином на гърда в контекста на туморен хетерогенитет и анализ на тяхното клинично значение“

Заклучение

Въз основа на по-горе изложеното считам, че дисертационният труд на д-р Васил Димитров Нанев представлява задълбочена и напълно завършена научна разработка със значими и интересни резултати, изводи и приноси.

Давам своята положителна оценка и ще гласувам „За“ присъждане на ОНС „доктор“ на д-р Васил Димитров Нанев в Област на висшето образование: 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление: 7.1. Медицина, Научна специалност: „Обща хирургия“, като призовавам и останалите членове на уважаемото Научно жури да го подкрепят.

На основание чл.59 от ЗЗЛД

гр. Стара Загора
10.10.2026 г.

Проф. д-р Юлиан Руменов Ананиев, дм

ACADEMIC REVIEW

By **prof. Dr. Julian Rumenov Ananiev, MD, PhD**

Dean of the Medical Faculty, Trakia University,

Head of the Department of General and Clinical Pathology, Forensic Medicine and Deontology,
and Dermatovenereology

Subject: PhD-thesis for the award of an educational and scientific degree

"PhD"

Dr. **Vasil Dimitrov Naney**

Department "Nursing and surgical care" - Medical University - Pleven, Faculty of Health Care,
for the acquisition of the educational and scientific degree "PhD" in the field of higher education

7. "Healthcare and Sports", professional field 7.1 "Medicine",
scientific specialty "General Surgery"

PhD thesis topic: **"Studying the incidence and role of morphological and biological tumor
heterogeneity in breast carcinoma "**

Field of higher education 7. "Health and sports"

Professional direction 7.1. Medicine

Scientific specialty "General Surgery "

Scientific supervisors:

Assoc. Prof. Strahil Asenov Strashilov, MD, PhD

Assoc. Prof. Ivan Nedkov Ivanov, MD, PhD

Brief details of the PhD student

Dr. Vasil Dimitrov Naney was born on March 6, 1978. He finished his medical education at the Medical University of Pleven in 2005 and underwent specialization training in Surgery at the same institution from 2006 to 2011. He qualified as a specialist in 2011; prior to this, in 2009, he began working at the Department of Oncological Surgery at the "Georgi Stranski" University Hospital in Pleven and as an assistant at the Faculty of Health Care at the Medical University of

Pleven. Since September 2022, he has been working in the Breast Surgery Department at the "Georgi Stranski" University Hospital in Pleven. He is fluent in English at a high level.

Description, relevance and importance of the topic.

Dr. Dr. Nanev's PhD-thesis is an in-depth clinico-morphological study focusing on the morphological and biological heterogeneity of tumors in breast cancer patients eligible for neoadjuvant chemotherapy. The PhD-thesis is present on 145 pages and includes 2 diagrams, 16 figures, 36 tables, and 4 appendices. The work comprises the following sections: a list of abbreviations, a literature review, the study aim and task, materials and methods, results, discussion, conclusions, scientific contributions, references, a list of publications and conference presentations related to the PhD-thesis, and appendices.

Following the list of abbreviations, the PhD-thesis begins with a "**Literature Review**," in which the author provides a brief overview of breast cancer prevalence in the EU and Bulgaria. This is followed by an examination of the disease's tumor biology, the significance of expressed receptors, the selection of therapy, and the implications for disease progression. The concept of "tumor heterogeneity" is discussed in greater detail; here, Dr. Nanev outlines the evolution of the terminology, the various types of heterogeneity, its genetic and epigenetic characteristics, and the role of the tumor microenvironment. Particular attention is paid to the diverse populations of tumor-infiltrating and associated cells, as well as the significance of the stroma and its metabolic activity. This is followed by a stratification of heterogeneity, featuring a detailed description of morphological and molecular heterogeneity, molecular and genetic subtyping, as well as the evolution of tumor growth and the significance of relevant molecular factors.

In addition to the morphological and molecular descriptions, the choice of diagnostic method - fine-needle versus core-needle biopsy - is presented, with a comparison of their respective advantages and disadvantages. Finally, a brief section outlines therapeutic options for breast cancer patients, based on the morphological and molecular profiles determined from tissue samples obtained via biopsy or resection.

Next is the "**Aim**" chapter, in which Dr. Nanev plans to determine the role of morphological and biological tumor heterogeneity in the diagnosis of breast cancer patients

eligible for neoadjuvant chemotherapy, as well as its significance for the subsequent therapeutic approach. To achieve this objective, the "**Task**" chapter outlines five specific tasks directly linked to the study's aim, intended to provide significant information regarding the relationship between tumor characteristics, therapy, and disease progression.

The "**Materials and Methods**" chapter describes a study covering a five-year period (2016–2021) involving 110 adult patients. These patients presented with clinical and imaging findings (categorized as BIRADS 4–5) of a breast lesion requiring histological verification, after which they met the criteria for neoadjuvant chemotherapy—specifically, patients with advanced disease suitable for preoperative systemic therapy. Inclusion and exclusion criteria are outlined, and a wide range of clinical and laboratory characteristics are described in detail. The author also presents and elaborates on the four methods employed in the study: surgical, pathological, documentary, and statistical methods.

Ethical approval for conducting the study is presented.

This is followed by the "**Results**" chapter, in which the findings are presented in the order corresponding to the outlined tasks. Regarding *Task 1*, the author initially presents the distribution across certain demographic indicators and compares them with heterogeneity, concluding that combinations involving two morphologically distinct components are the most frequent, while a combination of three is described in only one instance. Cases of heterogeneity are presented and well-described in a table, followed by an in-depth analysis and a presentation of two clinical cases from practice. Based on the results of *Task 2*, Dr. Nanev determines the relationship between the frequency of tumor heterogeneity and the histological verification method employed, describing correlations linked to the number of tissue cores. The sensitivity and specificity of the various diagnostic methods used are presented, including a comparison with results obtained from resection following needle biopsy. The results of *Task 3* present the distribution of randomly selected cases of non-heterogeneous tumors according to morphological variant, focality, grade of differentiation, and molecular subtype, both before and after neoadjuvant chemotherapy. Tumor and nodal status, tumor differentiation, molecular status (based on specific neoplasm subtypes), and therapeutic response are recorded and compared against these data. Additionally, this subsection features numerous high-resolution, high-quality photomicrographs. The results for *Task 4* follow; this task aimed to determine recurrence and survival rates in patients with confirmed tumor heterogeneity who underwent neoadjuvant

chemotherapy. Despite the relatively small patient cohort and the inability to draw broad generalizations, lower survival rates were observed - with varying degrees of statistical significance—in patients with heterogeneous tumors; additionally, distinct findings emerged regarding subgroups stratified by tumor and nodal status, pathological response grade, and the presence of residual tumor. In the final *Task 5*, results concerning the role of proliferative and apoptotic activity—assessed before and after neoadjuvant chemotherapy in a tumor population that included cases of heterogeneity - are presented through an extensive dataset comparing the expression of various markers in relation to the administered therapy and disease progression. For all correlation analyses, the results are presented alongside their respective levels of statistical significance.

The "**Discussion**" chapter follows, in which the author - drawing extensively on data from open literature sources and accessible databases - compares his results and observed associations regarding: morphological tumor heterogeneity, molecular intratumoral heterogeneity, multifocality, age distribution, the frequency of tumor heterogeneity in relation to the histological verification method used, correlations between findings and neoadjuvant chemotherapy, survival rates across different groups, and proliferative and apoptotic activity.

The "**Conclusions**" and "**Contributions**" chapters present 10 conclusions based on the preceding two chapters, as well as two categories of contributions: six of a scientific and original nature, and seven of an applied nature.

The "**References**" chapter includes 358 sources; the majority date from the last 10 years, with 87 from the last five years.

Author also presented three publications related to the PhD-thesis - with Dr. Nanev as the first author, two indexed in Scopus and one in Web of Science, along with one publication on which he is a co-author. The author of the dissertation also participated in a research project (No. 6/2022) titled "Evaluation of the expression of the apoptotic marker Caspase-3 and the proliferative index assessed via Ki-67 before and after neoadjuvant chemotherapy in specific molecular subtypes of breast carcinoma, in the context of tumor heterogeneity and an analysis of their clinical significance."

Conclusion

Based on the above, I believe that the PhD work of **Dr. Vasil Dimitrov Naney** represents **an in-depth and fully completed scientific study with significant and interesting results, conclusions, and contributions.**

I give my positive assessment and will vote "Positive" the awarding of the ESD "PhD" to Dr. Vasil Dimitrov Naney in the Field of Higher Education: 7. Health and Sports, Professional Area: 7.1. Medicine, Scientific specialty: "General surgery" and I also recommend the honorable members of the scientific jury to vote positively.

На основание чл.59 от ЗЗЛД

**Stara Zagora
10.10.2026**

Prof. Dr. Julian Rumenov Ananiev, MD, PhD