

UNIVERZITA KARLOVA

2. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



Zpřesnění tkáňové diagnostiky v transplantačním programu

Refinement of tissue diagnostics in the transplant program

Jan Balko

Praha, 2023

Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia doktorského studijního programu Experimentální chirurgie na Ústavu patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol.

Školitel: prof. MUDr. Josef Zámečník, Ph.D.,
Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN
Motol, V Úvalu 84, 150 05 Praha 5

Oponenti:

Obhajoba se bude konat před komisí pro obhajoby oborové rady Experimentální chirurgie dne v odhod.
Předsedou komise pro obhajobu disertační práce byl jmenován:

Předseda oborové rady a garant doktorského studijního programu:
prof. MUDr. Zdeněk Krška, DrSc.,
I. chirurgická klinika – břišní, hrudní a úrazové chirurgie 1. LF UK a VFN, U
Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Děkan fakulty: prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

S disertační prací je možno se seznámit na Oddělení Ph.D. studia děkanátu
2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 (tel.
224 435 836).

Obsah

Abstrakt	4
Abstract	5
1 Úvod do problematiky	6
2 Hypotézy a cíle disertační práce	8
3 Materiál a metodika	10
4 Výsledky	14
5 Diskuze	18
6 Závěr	22
7 Souhrn	23
8 Summary	24
9 Literatura	25
10 Publikační činnost autora	31

Zpřesnění tkáňové diagnostiky v transplantačním programu

Abstrakt

V této práci se zabýváme tkáňovou diagnostikou transplantovaných orgánů pocházejících od dárců i příjemců. U darovaných orgánů (graftů) jsme se zaměřili na upřesnění dosud provizorního skórovacího systému rejekčních změn v programu transplantace dělohy. Pomocí histopatologické diagnostiky, včetně imunohistochemických metod, jsme porovnali nálezy lymfocytárních infiltrátů uváděných ve zmíněném skórovacím systému s nálezy v resekatétech děloh žen po hysterektomii provedené z důvodů nesouvisejících s děložním hrdlem. Cílem naší práce bylo ověřit platnost tzv. kategorie borderline změn – morfologický obraz těchto změn se však ukázal být překryvným s fyziologickým nálezem ve zdravém děložním hrdle a tudíž nevyžadujícím imunopresivní terapii. U orgánů příjemců jsme se zaměřili na roli plicních megakaryocytů v explantátech po transplantaci plic. Cílem bylo přispět k ozřejmění patogeneze chorob vedoucích k nutnosti této transplantace. Plicní megakaryocyty jsme histopatologicky a imunohistochemicky mapovali ve vzorcích plicních explantátů příjemců s různými základními plicními chorobami a objevili jejich výrazně zvýšenou účast u vaskulárních plicních lézí. U idiopatické plicní hypertenze by tento nález mohl pomoci vysvětlit dosud kryptogenní cévní přestavbu. Tato práce ukazuje, že v obou oblastech transplantační medicíny má histopatologické vyšetření stále důležitou úlohu a poskytuje transplantačnímu týmu cenné a jiným způsobem nezjistitelné informace.

Refinement of tissue diagnostics in the transplant program

Abstract

The thesis describes tissue diagnostics of organ transplants of the donor as well as recipient. In case of donated organs (grafts), it aims to improve the provisional scoring system of graft rejection after uterine transplantation. Using histopathological methods including immunohistochemistry, it compares lymphocytic population classified in the scoring system with histopathological findings within the resected uteri of women who underwent hysterectomy for benign reasons. The aim was to validate the necessity of the category of so called borderline changes, whose morphology was proven to overlap with physiological finding within healthy uterine cervix. Therefore, there is no need for immunosuppressive therapy in such cases. In case of recipients, the thesis investigates the role of pulmonary megakaryocytes in explanted lungs after transplantation. The idea was to elucidate pathogenesis of the diseases leading to the need of transplantation itself. Pulmonary megakaryocytes within explanted lungs of various recipients were mapped using histopathological methods and immunohistochemistry. The strikingly increased number of such cells was detected among vascular disorders, especially idiopathic pulmonary hypertension. This finding could contribute to the explanation of vascular remodelling in this so far cryptogenic disease. In both cases, this thesis shows the importance of histopathological examination, which provides valuable information to the transplant team, undetectable via another method.

1 Úvod do problematiky

1.1 Transplantace dělohy (UTx) – tkáňová diagnostika dělohy dárkyně

Role patologa je v rámci UTx nezastupitelná zejména v bioptickém hodnocení hrozících známek rejekce. Kontrolní bioptický odběr z ektocervixu se opakuje v pravidelných intervalech po transplantaci, před otěhotněním, ale i v průběhu gravidity (Brännström et al., 2015, 2014; Brucker et al., 2020; Chmel et al., 2019; Ejzenberg et al., 2019). Pokud je rejekce histopatologicky potvrzena, provádí se po podání či úpravě udržovací imunosupresivní antirejekční léčby opakovaná biopsie k vyloučení perzistujících známek rejekce. Opakování biopsie může oddálit následující embryotransfery čekáním na zhojení místa odběru tkáně z ektocervixu a zároveň i prodlužovat dobu užívání imunosupresiv. Stanovení stupně rejekce je založeno na provizorním skórovacím systému švédských autorů, které hodnotí zánětlivý infiltrát v ektocervixu (Mölne et al., 2017).

Rejekční změny uterinních graftů jsou definovány následujícími rysy: *Grade 0* značí absenci rejekce (normální nález). *Grade 1* (mírná rejekce) je charakterizován mírným smíšeným zánětlivým infiltrátem s dominancí lymfocytů, které se nacházejí zejména na epitelo-stromální juncce ektocervixu. Zánětlivá infiltrace bývá ložisková a epitel nevykazuje regresivní změny s výjimkou ojedinělých apoptóz keratinocytů. *Grade 2* (střední stupeň rejekce) obsahuje v oblasti epitelo-stromální juncce středně intenzivní smíšený zánět s vyjádřeným intraepiteliálním influxem leukocytů a edémem stromatu. Kromě převažujících lymfocytů lze pozorovat účast četnějších neutrofilních granulocytů. Dlaždicový epitel může být fokálně ztenčený, edematózně prosáklý a obsahovat disperzní apoptotická tělíska. *Grade 3* (těžkou rejekci) definuje přítomnost nápadného difuzního smíšeného zánětlivého infiltrátu s převahou lymfocytů a účastí hojných neutrofilních a eozinofilních granulocytů. V dlaždicovém epitelu lze kromě apoptotických tělísek po zaniklých keratinocytech pozorovat eroze až

ulcerace s nekrotizací výstelky i přilehlého stromatu. Provizorní skórovací systém děložních alograftů dále uvádí *kategorii tzv. hraničních (borderline) změn*. Tu představují minimálně dva malé nesplyvající aglomeráty lymfocytů, jež lze nalézt zejména v epitelo-stromální junkci.

1.2 Transplantace plic (LTx) – tkáňová diagnostika plic příjemce

Podstatou vyšetření explantovaných plic příjemce v rámci LTx je potvrzení základní plicní choroby, která byla indikací k transplantaci. Nejčastěji se jedná o plicní choroby v terminálním stádiu, které mohou být rozděleny do několika kategorií na základě dominantního klinického nálezu. První kategorii představují zástupci obstrukčních poruch – CHOPN a postižení plic u deficitu α -1-antitrypsinu či cystické fibrózy (CF) (Chadimová et al., 2015). Časté jsou též choroby z heterogenní skupiny restričních plicních nemocí – exogenní alergická alveolitida (EAA), idiopatická plicní fibróza (IPF), nespecifická intersticiální pneumonie (NSIP), kryptogenní organizující pneumonie (COP), pleuroparenchymální fibroelastóza (PPFE) a další vzácnější léze. Třetí skupinu představují choroby charakterizované dominantním postižením plicních cév. Jedná se hlavně o primární/idiopatickou plicní arteriální hypertenzi (IPAH), plicní veno-okluzivní nemoc (VON) a vzácně i plicní kapilární hemangiomatózu (PKH). Řada těchto plicních nemocí nemusí být snadno diagnostikovatelná pomocí klinických a zobrazovacích metod a vyžaduje histopatologickou analýzu, která před resekci plíce bývá možná pouze prostřednictvím limitovaného odběru s omezenou výpovědní hodnotou. Plicní explantát po LTx tedy představuje cenný materiál s bohatým množstvím tkáně, která může být vyšetřena k přesnějšímu stanovení diagnózy. Většina zmíněných plicních postižení je idiopatického původu s nejistou etiopatogenezí a množství patologicky změněné tkáně získané resekci po LTx je nedoceněným materiálem k výzkumným účelům, které by mohly pomoci ozřejmit obecnou podstatu těchto poruch.

2 Hypotézy a cíle disertační práce

Předkládaná práce je zaměřena na méně probádané oblasti tkáňové diagnostiky výše popsaných orgánových transplantací: transplantace dělohy – UTx (stran orgánu dárce) a transplantace plic – LTx (stran orgánu příjemce).

2.1 Experiment 1: Histopatologická analýza ektocervikálních biopsií netransplantovaných děloh a korelace nálezů s provizorním skórovacím systémem rejekčních změn transplantovaných děloh

Protože UTx představuje relativně novou metodu, je současný skórovací systém rejekčních změn provizorní a zahrnuje zvláštní kategorii tzv. borderline změn, u níž dodnes není zcela jisté, zda představuje skutečné rejekční změny, či fyziologický nález. Hypotézou práce bylo, že histopatologický a imunohistochemický nález lymfocytárních infiltrátů v ektocervixu netransplantovaných (vlastních) děloh premenopauzálních žen se bude lišit od morfologického obrazu rejekce a borderline kategorie provizorního skórovacího systému rejekčních změn po transplantaci dělohy. Cílem bylo charakterizovat morfologický obraz a imunohistochemický profil lymfocytární infiltrace ve fyziologickém ektocervixu a korelovat získané nálezy se zmíněným skórovacím systémem, zejména ve vztahu k tzv. borderline změnám a menstruačnímu cyklu. Dále jsme chtěli ověřit využití imunohistochemie při histopatologické diagnostice rejekce transplantovaných děloh a sestavit panel vhodných protilátek.

2.2 Experiment 2: Mapování plicních megakaryocytů v explantovaných plicích po transplantaci

V případě transplantace plic jsme se zaměřili na bioptické hodnocení plicních explantátů příjemců. Hypotézou této studie bylo využití explantátů plic po transplantaci coby unikátního bioptického materiálu k charakterizaci plicních megakaryocytů mezi různými příjemci, jejichž plíce byly terminálně poškozeny

variabilními plicními chorobami. Jako kontrolní skupina jsme vyšetřili i relativně zdravé plíce kadaverózních dárců, jejichž části nebyly využity z důvodů přílišné velikosti. Předpokládali jsme, že počet, charakter či distribuce plicních megakaryocytů se může mezi jednotlivými skupinami plicích chorob lišit a že tyto znaky by mohly být dalším cenným střípkem při skládání mozaiky jejich etiopatogeneze, případně diagnostickým znakem při histopatologické evaluaci daných procesů. Stimulem pro naši hypotézu byl náznak spojitosti mezi abnormální funkcí plicních megakaryocytů a vaskulárními chorobami ve starších studiích (Brown and Martin, 1994; Mandal et al., 2007; Martin et al., 1983).

3 Materiál a metodika

3.1 Experiment 1: Histopatologická analýza ektocervikálních biopsií netransplantovaných děloh a korelace nálezů s provizorním skórovacím systémem rejekčních změn transplantovaných děloh

Do naší studie bylo celkem zařazeno 54 premenopauzálních žen indikovaných k hysterektomii z důvodů nesouvisejících s děložním hrdlem. Konkrétně se jednalo o leiomyomy děložního těla ($n = 25$) a abnormální uterinní krvácení ($n = 29$). Před samotnou operací byla v celkové anestezii provedena ektocervikální biopsie bez kolposkopické kontroly. Biopsie byla odebírána z přední části ektocervixu, v oblasti poblíž transformační zóny a endocervikálního kanálu děložního hrdla. Mezi indikační kritéria k zařazení do studie byl zahrnut věk pacientek, benigní extracervikální léze vedoucí k hysterektomii a fyziologický preoperační nález na Papanicolaouově testu. Mezi kontraindikace patřila vaginální či cervikální infekce v době biopsie, přítomnost perioperačního děložního krvácení, anamnéza imunitního či autoimunitního onemocnění a užívání jakýchkoli léků ovlivňujících imunitní stav jejich uživatele. Průměrný věk pacientek zahrnutých do studie představoval 45,1 let (rozmezí 36–54 let) a u všech se jednalo o premenopauzální období.

Bioptické vzorky byly ihned po odběru fixovány v neutrálním pufrovaném 4% formaldehydu a transportovány do histopatologické laboratoře, kde byla provedena jejich post-fixace a zalití do parafínových bločků. Parafínové bločky byly následně krájeny mikrotomem na tkáňové řezy tloušťky 4 μm a nabarveny přehledovým barvením hematoxylinem-eozinem (H&E) a speciálním barvením Massonovým trichromem. Nabarvené řezy byly zamontovány krycími sklíčky. Bioptické vzorky jsme vyšetřili také imunohistochemicky s průkazem exprese molekul CD45RO, CD8, CD4, CD20 a C4d, pro základní charakterizaci celulárních zánětlivých infiltrátů. Během histopatologického vyšetření jsme

cíleně pátrali po známkách zánětlivých změn, včetně tzv. interface celulizace. Hodnotili jsme i stav cév a epitelu. Pro charakterizaci lymfocytární populace v barvení H&E i v IHC jsme stanovili semikvantitativní skórovací systém, který oproti absolutním počtům buněk usnadňuje reprodukovatelnost a lépe odráží situaci při hodnocení rejekčních infiltrátů v praxi při rutinním odečítání biopsií graftu. Systém se zakládá na pětistupňovém skóre, které je definováno následujícími rysy: *Kategorie 1* zahrnují případy, které obsahují maximálně 20 izolovaných lymfocytů v celém bioptickém materiálu (v provizorním skórovacím systému rejekčních změn po UTx by odpovídala normálnímu nálezu – grade 0). *Kategorie 2* představuje nález nad 20 lymfocytů v odběru, které se však stále nacházejí pouze disperzně (také odpovídá normálnímu nálezu ve zmíněném systému). *Kategorie 3* je definována přítomností shlukujících se lymfocytů v drobné klastry, nacházející se především v oblasti epitelu-stromální junkce (koresponduje s tzv. borderline změnami transplantovaných děloh). *Kategorie 4* charakterizuje nález ložiskových lymfocytárních infiltrátů, tj. různě velkých skupin lymfocytů až s obrazem lymfatických folikulů a možnou účastí leukocytů jiných typů (dané rysy se v rámci UTx vyskytují u rejekce grade 1 až 2 – oba stupně obsahují nepřesně rozlišené ložiskové zánětlivé změny a spolehlivěji se odlišují přítomností regrese stromatu či epitelu u grade 2 rejekce). *Kategorie 5* určuje přítomnost difuzních splývajících infiltrátů lymfocytů s možnou účastí zánětlivých buněk dalších typů (odpovídá grade 3 rejekci v transplantovaných dělohách).

3.2 Experiment 2: Mapování plicních megakaryocytů v explantovaných plicích po transplantaci

Do naší studie jsme vybrali 50 pacientů zařazených do plicního transplantačního programu Fakultní nemocnice Motol mezi lety 2015 až 2021. Výběr se v případě příjemců (n = 30) odvíjel od jejich základní indikační klinicko-patologické diagnózy. Plíce kadaverózních dárců (n = 20) jsme zvolili na základě dostupnosti

částí jejich nevyužitého parenchymu. Zahrnutí pacienti byli následně rozděleni do čtyř skupin: a) *Kadaverózní dárce* (n = 20). Získaný plicní parenchym byl před samotným odběrem makroskopicky vyšetřen a uznán vhodným pro transplantační účely, což jsme následně potvrdili i histopatologicky. I přes kadaverózní původ dárcovských plic bylo zabráněno jejich autolýze okamžitou aplikací prezervačního roztoku (Perfadex) po odběru s krátkou dobou studené ischemie (pod osm hodin) a okamžitou formolovou fixací po transplantaci. Tato skupina tak sloužila jako kontrolní relativně zdravá kohorta. Průměrný věk kadaverózních dárců zahrnutých do studie představoval 55 let (rozmezí 30–76 let). Poměr pohlaví muži/ženy byl 6/14. U každého dárce příčinu smrti představovala mozková smrt. b) *Příjemci s vaskulárními plicními chorobami* (n = 10) zahrnující plicní explantáty osmi pacientů s IPAH, jednoho pacienta s plicní veno-okluzivní nemocí a jednoho pacienta s plicní kapilární hemangiomatózou. Průměrný věk příjemců s vaskulárními plicními chorobami představoval 26,7 let (rozmezí 18–36 let). Poměr pohlaví muži/ženy byl 1/9. K objektivnímu vyjádření tíže postižení byla u všech pacientů zaznamenána předoperačně naměřená hodnota plicní hypertenze. c) *Příjemci s restričními plicními chorobami* (n = 10) zahrnovali šest pacientů s diagnózou EAA, dva případy PPFE, jeden případ IPF a pacienta trpícího revmatoidním postižením plic (RPP). Průměrný věk příjemců s restričními plicními chorobami byl 50,9 let (rozmezí 45–61 let). Poměr pohlaví muži/ženy byl 6/4. K objektivnímu vyjádření tíže postižení byla pacientům naměřena FVC, jejíž předoperačně naměřená hodnota byla zaznamenána spolu s hodnotou plicní hypertenze. d) *Příjemci s obstrukčními plicními chorobami* (n = 10) představovali devět pacientů s CHOPN a jednoho s panacinárním plicním emfyzémem v rámci deficitu α -1-antitrypsinu. Průměrný věk příjemců s restričními plicními chorobami představoval 60,4 let (rozmezí 56–66 let). Poměr pohlaví muži/ženy byl 6/4. K objektivnímu vyjádření tíže postižení bylo pacientům naměřeno FEV₁, jehož předoperační naměřená hodnota byla zaznamenána spolu s hodnotou plicní hypertenze.

Ke stanovení uvedených diagnóz vedl klinický follow-up, CT vyšetření plic a histopatologická analýza. Zároveň jsme při sestavení kohorty zajistili rovnoměrnou distribuci laterality plicních křídel. Obdobně jsme ověřili, že žádný pacient neměl diagnostikovanou chorobu kostní dřeně, která by mohla zasáhnout do vyzrávání megakaryocytární řady. V souvislosti s diferenciací destiček byla zaznamenána i hladina trombocytů v krvi, vyšetřená u každého příjemce jeden den před transplantací v rámci předoperačního vyšetření.

Všechny plicní explantáty byly ihned po odběru fixovány v neutrálním pufovaném 4% formaldehydu a transportovány do histopatologické laboratoře, kde byla provedena jejich post-fixace. Vzorky plicního parenchymu jsme vybírali náhodně, aby se zabránilo zkreslení cíleným náběrem patologicky změněných/nezměněných oblastí. Všechny vzorky měly plochu řezu min. velikosti 1 cm² a byly zality do parafínových bločků, které byly následně krájeny mikrotomem na tkáňové řezy tloušťky 4 μm a nabarveny přehledovým barvením H&E. Nabarvené řezy byly zamontovány krycími sklíčky. Hodnocení plicních megakaryocytů se opíralo o nález jaderných buněk, pozitivních v imunohistochemickém markeru CD61. Při charakterizaci a mapování plicních megakaryocytů jsme zaznamenali lokalizaci jejich výskytu a největší zastiženou velikost v každém vzorku. Dle poměru velikosti k erytrocytům jsme stanovili tři základní velikostní kategorie plicních megakaryocytů: velké (50–100 μm), střední (20–49 μm) a malé (19 μm).

Výsledky každé skupiny příjemců jsme porovnali se skupinou kadaverózních dárců a statisticky vyhodnotili. Ke statistické analýze jsme použili t-test s výpočtem hodnoty p. Rozdíly byly považovány za významné při $p < 0,05$. Naměřené hodnoty byly vyobrazeny v boxplotech, které ukazují skupinový průměr + střední chybu průměru a ve kterých symbol * označuje statistickou signifikanci, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

4 Výsledky

4.1 Experiment 1: Histopatologická analýza ektocervikálních biopsií netransplantovaných děloh a korelace nálezů s provizorním skórovacím systémem rejekčních změn transplantovaných děloh

Z celkového počtu 54 bioptických odběrů jsme 52 vzorků vyhodnotili jako adekvátní se zastiženou oblastí ektocervixu. Všechny biopsie obsahovaly v alespoň malé míře vyjádřenou lymfocytární celulizaci stromatu, která v každém případě přesahovala 20 buněk. V pěti případech (9,6 %) se T-lymfocyty vyskytovaly izolovaně bez tvorby shluků v počtu nad 20 buněk ve vzorku a odpovídaly tedy *Kategorii 2* navrženého semikvantitativního skórovacího systému. Většina vzorků nicméně vykazovala shlukující se T-lymfocyty zejména v oblasti epitelu-stromální junkce a ve 43 případech (82,7 %) tak korelovala s *Kategorií 3*. Další čtyři případy (7,7 %) obsahovaly fokální lymfocytární infiltráty, odpovídající *Kategorii 4*. Ve zbývajících dvou případech se jednalo o neadekvátní odběry se zastižením izolovaných struktur endocervixu. Žádný ektocervikální vzorek nekoreloval s *Kategoriemi 1 a 5* daného systému.

Pomocí imunohistochemické analýzy lymfocytárních populací ektocervixu jsme zjistili, že většinu zánětlivých elementů tvoří aktivované T-lymfocyty pozitivní v imunohistochemickém markeru CD45RO. Ve 24 případech (46,2 %) byly dominantní subpopulací T-lymfocytů CD8 pozitivní cytotoxické buňky. V šesti případech (11,5 %) představovaly příměs. V 17 vzorcích (32,7 %) se nacházely pouze izolovaně a v pěti případech (9,6 %) byl imunohistochemický marker CD8 zcela negativní. 49 vzorků bylo negativní v imunohistochemickém průkazu markeru CD4 a ve 3 případech (5,7 %) byly detekovány izolované helpery coby příměs T-lymfocytární populace.

Ve srovnání s T-lymfocyty představovaly v ektocervixu B-lymfocyty minoritní část lymfocytárních infiltrátů. Zcela chyběly ve 41 vzorcích (78,8 %) a v devíti

případech (17,3 %) jejich počet nepřesahoval 20 buněk, čímž dohromady v 96,2 % odpovídaly *Kategorii 1*. S *Kategorií 2* koreloval jediný vzorek (1,9 %), kde se nacházely roztroušené lymfocyty přesahující počet 20 buněk v materiálu. Ve zbývajícím ektocervikálním odběru (1,9 %) byl patrný ložiskový infiltrát B-lymfocytů spadající do *Kategorie 4* navrženého systému. Přesvědčivé morfologické obrazy *Kategorie 3* ani *5* nebyly v populaci B-lymfocytů ektocervixu zastiženy.

Ve všech případech se v endocervikální porci biopsie nacházely zánětlivé aglomeráty T-lymfocytů, které byly v porovnání s ektocervixem intenzivnější. V 11 případech (73,3 %) byly patrné fokální infiltráty, odpovídající *Kategorii 4*. Další tři případy (20 %) vykazovaly difuzní T-lymfocytární infiltráty, korelující s *Kategorií 5* navrženého systému, která v ektocervixu nebyla přítomná. Zbývajícím případem (6,7 %) spadal do *Kategorie 3*. Většinu T-lymfocytů zastupovaly CD8 pozitivní cytotoxické T-buňky, které v 11 případech (73,3 %) představovaly dominantní subpopulaci. Tři vzorky (20 %) obsahovaly pouze izolované Tc-lymfocyty a jeden byl zcela negativní v průkazu markeru CD8. Žádné CD4 pozitivní helpery nebyly v endocervixu detekovány.

Mezi imunofenotypy lymfocytárních populací ektocervixu a endocervixu jsme identifikovali podstatný rozdíl v přítomnosti hojných CD20 pozitivních B-lymfocytů v endocervixu. Ve čtyřech případech (26,6 %) endocervikálních biopsiích byly patrné shlukující se B-lymfocyty s obrazem *Kategorie 3* navrženého semikvantitativního systému, které v dalších deseti vzorcích (66,7 %) formovaly dokonce ložiskové infiltráty typické pro *Kategorii 4*. Zbývajícím případem (6,7 %) obsahoval pouze izolované CD20 pozitivní lymfocyty pod hranicí 20 buněk a tudíž odpovídající *Kategorii 1*. Vyšetřovaný imunohistochemický marker C4d byl negativní ve všech případech ektocervikálních i endocervikálních odběrů.

Z celkového počtu 54 biopsií bylo 26 nabráno v proliferační a 28 v sekreční fázi menstruačního cyklu. Meziskupinové srovnání nepotvrdilo vliv fáze menstruačního cyklu na celulární zánětlivé infiltráty v ektocervixu.

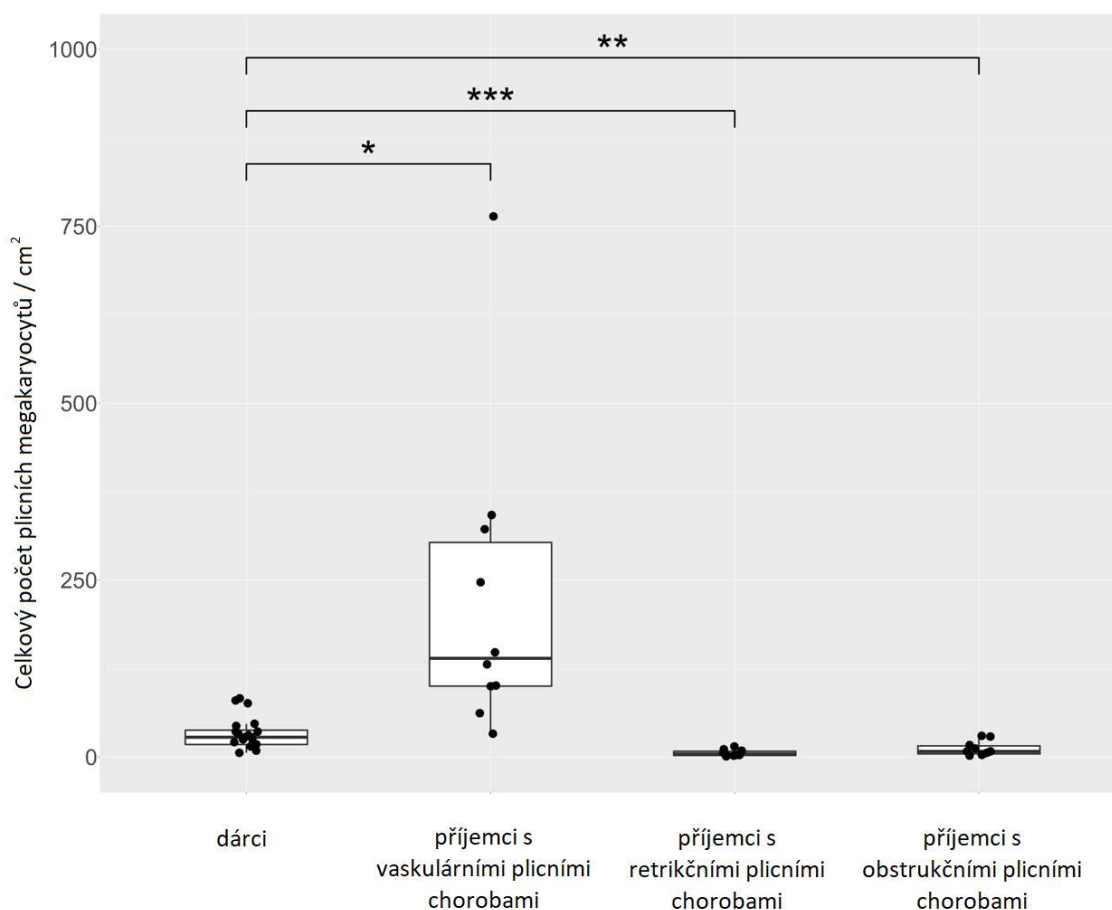
4.2 Experiment 2: Mapování plicních megakaryocytů v explantovaných plicích po transplantaci

Ve skupině kadaverózních dárců ($n = 20$) jsme pozorovali interindividuální rozdíly v počtech plicních megakaryocytů. Průměrný počet megakaryocytů na $1 \text{ cm}^2 \pm \text{SD}$ odpovídal hodnotě $33,55 \pm 22,56$ buněk/ cm^2 (rozmezí 6–83 megakaryocytů/ cm^2). Ve všech případech se tyto buňky nacházely izolovaně v lumen kapilár interalveolárních sept plicního parenchymu. Cytomorfologie megakaryocytů zahrnovala zejména střední velikost.

Mezi příjemci ($n = 30$) se charakter plicních megakaryocytů velmi lišil v závislosti na konkrétní skupině, ve které se nacházeli. Největší zastoupení jsme pozorovali ve skupině příjemců s vaskulárními plicními chorobami ($n = 10$). Průměrný počet megakaryocytů na $1 \text{ cm}^2 \pm \text{SD}$ odpovídal hodnotě $225 \pm 216,87$ buněk/ cm^2 (rozmezí 33–764 megakaryocytů/ cm^2). Tento nález představuje statisticky významný rozdíl v porovnání s kadaverózními dárci ($p = 0,021$). Pokud jsme zahrnuli pouze příjemce s diagnózou IPA, zvýšil se průměrný počet plicních megakaryocytů na $264,5 \pm 226,3$ buněk/ cm^2 (rozmezí 62–764 megakaryocytů/ cm^2). Tato skupina také jako jediná ve všech vzorcích vykazovala shlukování megakaryocytů v kapilárním lumen interalveolárních sept. Navíc ve většině případů (70 %) obsahovala velké formy vyšetřovaných buněk, které byly v jiných kohortách zastíženy jen vzácně.

Nejnižší denzitu plicních megakaryocytů jsme detekovali ve skupině příjemců s restriktivními plicními chorobami ($n = 10$). Průměrný počet megakaryocytů na $1 \text{ cm}^2 \pm \text{SD}$ odpovídal hodnotě $5,8 \pm 4,6$ buněk/ cm^2 (rozmezí 1–15

megakaryocytů/cm²). Opět jde o statisticky významný rozdíl vůči kadaverózním dárčům (p = 0,0001). Plicní parenchym příjemců s obstrukčními plicními chorobami (n = 10) vykazoval nižší počty plicních megakaryocytů proti dárčům (p = 0,001), ale ne v takové míře jako u příjemců s restrikčními plicními chorobami. Průměrný počet megakaryocytů na 1 cm² ± SD odpovídal hodnotě 11,9 ± 10,3 buněk/cm² (rozmezí 2–30 megakaryocytů/cm²). Ve všech případech se plicní megakaryocyty opět nacházely pouze izolovaně v lumen kapilár interalveolárních sept a u obou skupin byly patrné převážně středně velké plicní megakaryocyty.



Obr. 1. Boxploty (krabicové grafy) s outliery, zakreslenými prostřednictvím bodů znázorňující specifické počty plicních megakaryocytů na cm² a statistické rozdíly mezi jednotlivými skupinami příjemců a kontrolní skupinou kadaverózních dárčů.

5 Diskuze

5.1 Experiment 1: Histopatologická analýza ektocervikálních biopsií netransplantovaných děloh a korelace nálezů s provizorním skórovacím systémem rejekčních změn transplantovaných děloh

V našem experimentu jsme histopatologicky a imunohistochemicky mapovali lymfocytární populace v rámci ektocervikálních biopsií netransplantovaných děloh premenopauzálních žen a nálezy korelovali s provizorním skórovacím systémem rejekčních změn transplantovaných děloh (Mölne et al., 2017). Obrazy připomínající borderline až rejekční změny z daného systému hodnocení rejekce byly zaznamenány v 90,4 % ektocervikálních biopsií premenopauzálních žen s vlastní dělohou. Nálezy se podobaly jak na morfologické, tak imunohistochemické úrovni. V případě diagnózy borderline změn uterinního graftu je obvykle indikována ektocervikální re-biopsie. Opakování bioptického odběru ale může vést k prodloužení intervalu do embryotransferu kvůli nutnosti počkat na zhojení post-bioptických defektů děložního čípku (Putman et al., 2021). Bylo by předčasné tvrdit, že borderline kategorie z provizorního skórovacího systému rejekčních změn v ektocervikálních biopsiích transplantovaných děloh odpovídá normálnímu nálezu jako grade 0, ačkoli to výsledky naší práce naznačují (Balko et al., 2022a, 2022b). Na druhé straně, morfologický obraz borderline kategorie byl kromě premenopauzálních žen s vlastní dělohou popsán i u příjemkyň uterinního graftu s klinickými známkami rejekčního poškození (Broecker et al., 2021). Je tudíž třeba tyto nálezy nejprve ověřit na větších kohortách pacientek a do té doby borderline kategorii ponechat s přihlédnutím k tomu, že se jedná pouze o „zánětlivé změny nejistého významu“, které není třeba řešit podáváním imunosupresivní antirejekční terapie.

Pro imunohistochemické mapování lymfocytárních populací v ektocervixu a endocervixu jsme sestavili podobný panel protilátek, jaký je využíván v ověřování rejekčních změn u řady jiných transplantovaných orgánů. Jednalo se o protilátky proti markerům CD45RO, CD8, CD4, CD20 a C4d. Imunohistochemická analýza lymfocytárních populací ektocervixu potvrdila, že většinu zánětlivých elementů tvoří aktivované T-lymfocyty. Obdobný nálezn byl potvrzen v normálním děložním čípku (Poppe et al., 1998) i v ektocervixu uterinních graftů (Mölne et al., 2017). Rozpoznat v ektocervixu nerejekční lymfocytární infiltráty od hraničně rejekčních je tudíž kromě histopatologické morfologie nemožné i na úrovni exprese proteinů. Část studovaných lymfoidních buněk nebyla pozitivní ani v jednom ze základních lymfocytárních markerů – tyto buňky by mohly odpovídat NK-buňkám, NK/T či Treg lymfocytům. Navržený panel vyšetřovaných imunohistochemických markerů by tedy mohl být rozšířen o další protilátky, zejména cíleným na antigen CD56 coby marker NK-buněk.

Výsledky naší práce dále ukazují, že existují významné rozdíly mezi lymfocytárními populacemi ektocervixu a endocervixu. V endocervikálním intersticiu byly u premenopauzálních žen s vlastní dělohou prokázány lymfocytární infiltráty, které v navrženém semikvantitativním skórovacím systému dosahovaly vyšších kategorií v porovnání s ektocervikálními odběry. Vzhledem k doporučenému odběru ektocervikálních biopsií z oblastí poblíž transformační zóny a endocervikálního kanálu (Mölne et al., 2017) ale mohou být v získaném materiálu snadno zastiženy i úseky endocervixu. Pak hrozí riziko nesprávné interpretace zde přítomných lymfocytárních infiltrátů za rejekční změny. Předcházet tomuto diagnostickému omylu lze především co nejpřesnějším odběrem ektocervikální biopsie. Naše práce však nabízí řešení i pro případy, kdy už k nevhodnému odběru došlo a v materiálu se nachází endocervikální stroma s hojnými lymfocyty. Ty totiž mohou být odlišeny imunohistochemicky, protože

jak patrně z výsledků naší studie, v endocervixu se nacházejí četné CD20 pozitivní B-buňky, které jsou v ektocervixu zastiženy pouze vzácně.

Meziskupinové srovnání pacientek v naší studii nepotvrdilo vliv menstruace na celulární zánětlivé infiltrátu v ektocervixu co do jejich kvality ani kvantity, obdobně jako to naznačuje i jiná studie (Poppe et al., 1998).

5.2 Experiment 2: Mapování plicních megakaryocytů v explantovaných plicích po transplantaci

V rámci tohoto experimentu jsme využívali unikátní bioptický materiál z LTx programu, který oproti jiným vzorkům skýtá řadu výhod. Primárně jsme se zaměřili na mapování plicních megakaryocytů, protože jsme ve starších studiích narazili na možnou spojitost mezi jejich abnormální funkcí a vaskulárními chorobami (Brown and Martin, 1994; Mandal et al., 2007; Martin et al., 1983). Námi naměřené hodnoty počtu plicních megakaryocytů vykazovaly značnou interindividuální variabilitu. I přesto jsme vypožorovali tendence k odlišnému průměrnému počtu plicních megakaryocytů mezi jednotlivými skupinami pacientů. Tento nálezn se následně podařilo podpořit průkazem statisticky významných rozdílů mezi všemi kohortami příjemců a kontrolní skupinou dárců. Průměrný počet daných buněk v plicích kadaverózních dárců byl mírně vyšší než v předchozích studiích využívajících nekropsie (Sharma and Talbot, 1986; Soares, 1992) – snad právě díky zábraně autolýzy využitím LTx materiálu.

Nejvyšší průměrný počet a zároveň kvalitativní změny plicních megakaryocytů jsme naměřili v kohortě příjemců s diagnózami vaskulárních plicních chorob, zejména IPAHA. Nápadné rozdíly v počtu, morfologii i distribuci plicních megakaryocytů ve vzorcích IPAHA pacientů vyvolávají podezření, že by se tyto buňky mohly podílet na etiopatogenezi zmíněné choroby, obzvláště přihlédneme-

li k jejich uvedené roli v tvorbě destiček (Lefrançais et al., 2017; Levine et al., 2009; Martin et al., 1983; Pedersen, 2009; Trowbridge et al., 1982). Tuto tezi podporují nedávné důkazy o klíčové roli destiček při vzniku plicní hypertenze (Kazimierczyk et al., 2019; Kazimierczyk and Kamiński, 2018; Zanjani, 2012). Některé nedávné studie dále ukázaly, že nejen cytokinové produkty destiček mohou zapříčinit přestavbu plicních arterií (Humbert et al., 1998; Zheng et al., 2015), ale také že trombogenezi a angiogenezi dokáží iniciovat i některé produkty megakaryocytů. Jedná se konkrétně o protrombogenní a proangiogenní faktory jakými jsou např. von Willebrandův faktor, vaskulární endoteliální růstový faktor A, fibroblastový růstový faktor 2, epidermální růstový faktor, destičkový růstový faktor a metalopeptidáza 9 (Andrae et al., 2008; Humbert et al., 1998; Italiano et al., 2008; Lee et al., 2007; Rhee et al., 2004; Salven et al., 1999; Zanjani, 2012). Hladina von Willebrandova faktoru bývá u IPAH pacientů dokonce zvýšena (Collados et al., 1999).

Případná porucha fragmentace megakaryocytů by pak možná dokázala vysvětlit častý výskyt velkých forem těchto buněk v tak vysokých počtech v plicích IPAH pacientů. Data podporující myšlenku o poruše tvorby destiček lze najít ve studii, která naznačuje, že u IPAH pacientů dochází k jejich zvýšené obměně (Kéreveur et al., 2000). Navíc podobné abnormality v počtu, morfologii a distribuci megakaryocytů lze detekovat u řady chorob kostní dřeně, která představuje primární rezervoár megakaryocytární řady. Pro potvrzení těchto hypotéz je však zapotřebí získat obsáhlejší množství dat na větších kohortách pacientů.

Nejnižší průměrný počet plicních megakaryocytů byl u pacientů s restriktivními chorobami plic a o něco vyšší u pacientů s obstrukčními chorobami plic. Tyto fenomény lze v obou případech vysvětlit ztrátou funkčního plicního parenchymu, konkrétně interalveolárních sept, ve kterých jsme ve všech případech všech kohort dané buňky prokázali.

6 Závěr

V naší práci ukazujeme důležitost histopatologického vyšetření v transplantačním programu, které dodnes nebylo zcela nahrazeno žádnou jinou metodou k diagnostice rejekce orgánových štěpů. Hodnocení rejekčních změn zpravidla vychází z mezinárodně ustanovených skórovacích systémů, které jsou průběžně aktualizovány odbornými společnostmi. V naší práci uvádíme data, která lze využít ke změně zatím provizorního skórovacího systému relativně nové metody transplantace dělohy. V rámci zpřesnění tkáňové diagnostiky uterinních graftů navíc představujeme i imunohistochemický znak použitelný k odlišení pseudorejekčních infiltrátů endocervixu.

Kromě průkazu rejekce v darovaném orgánu může patolog přispět i nálezem morfologických znaků v orgánu příjemce, které mohou pomoci osvětlit etiopatogenezi primárních onemocnění, která vedla k potřebě transplantace. V naší práci jsme odhalili potencionální etiologický faktor u idiopatické plicní hypertenze.

Obě dvě části práce přesáhly očekávané cíle a naplnily stanovené hypotézy, čímž ozřejmily nové poznatky v tkáňové diagnostice dárců i příjemců, navíc hned ve dvou různých orgánových transplantačních programech. Tyto nálezy by mohly vést k přesnější histopatologické diagnostice pacientů v transplantačním programu, od které se odvíjí celá následná péče, zejména pak management rejekce graftu. Celkově jsou výsledky experimentů provedených v rámci této práce podnětem k dalším studiím na větších kohortách pacientů, které by mohly jejich výsledky jednoznačně potvrdit.

7 Souhrn

7.1 Experiment 1: Histopatologická analýza ektocervikálních biopsií netransplantovaných děloh a korelace nálezů s provizorním skórovacím systémem rejekčních změn transplantovaných děloh

V této práci jsme prokázali překryvný histopatologický a imunohistochemický obraz ektocervikálních lymfocytárních infiltrátů s borderline kategorií zmíněného provizorního skórovacího systému rejekce. Tento nález naznačuje, že podávání imunosupresivní terapie pacientkám s transplantovanou dělohou není v případě diagnózy borderline změn nutné. Také tím vyvstává otázka, zda je v těchto případech nutná re-biopsie uterinního graftu, která vede k prodloužení doby do embryotransferu. Naše studie zároveň přispívá ke zpřesnění tkáňové diagnostiky uterinních graftů nálezem užitečného diagnostického znaku, který umožňuje identifikovat neadekvátně odebrané struktury endocervixu v materiálu z ektocervikální biopsie. Ve stromatu endocervixu jsme totiž prokázali výraznější zánětlivé změny, na kterých se však oproti ektocervixu výrazněji podílí i B-lymfocyty.

7.2 Experiment 2: Mapování plicních megakaryocytů v explantovaných plicích po transplantaci

Tato studie se zaměřila na mapování plicních megakaryocytů v plicích LTx dárců bez předchozího plicního onemocnění a LTx příjemců s různými plicními chorobami. Pacienti trpící idiopatickou plicní arteriální hypertenzí (IPAH) vykazovali kvantitativní a kvalitativní odlišnosti plicních megakaryocytů, které se ukázaly být statisticky významné v porovnání se všemi ostatními skupinami. Tento nález by mohl přispět k objasnění původu vazokonstrikce, trombotizace a cévní přestavby plicního řečiště – tj. všech základních mechanismů vedoucích k rozvoji IPAH, jelikož u řady produktů destiček a megakaryocytů roste podezření, že jsou schopny tyto procesy vyvolávat.

8 Summary

8.1 Experiment 1: Histopathological analysis of the ectocervical biopsy in non-transplanted uteri and correlation of the results to the provisional scoring system of subclinical graft rejection after uterus transplantation

Our study showed similar histopathological and immunohistochemical findings of ectocervical lymphocytes to the borderline category of the scoring system of UTx rejection. This implies that there is no need to administer immunosuppressive therapy to the patients with a diagnosis of borderline changes of their uterine graft. It also raises a question whether it is necessary to perform re-biopsy in such cases, which would prolong the time before embryo-transfer.

Furthermore, due to the immunohistochemical mapping of the lymphocytic populations, this study also provides a useful diagnostic tool on how to identify inadequate endocervical samples, which could raise uncertainty during histopathological evaluation of the cervical biopsy. As it has been proven, there are striking inflammatory changes with numerous B-lymphocytes within the endocervix compared to the ectocervix.

8.2 Experiment 2: Mapping of the pulmonary megakaryocytes in explanted lungs after transplantation

This study focused on mapping of the pulmonary megakaryocytes among LTx donor lungs without any previous pulmonary disease and LTx recipients suffering from different pulmonary disorders. Patients suffering from idiopathic pulmonary arterial hypertension (IPAH) showed morphological differences and strikingly higher and statistically validated counts of the lung's megakaryocytes compared to all the other groups. Such finding could contribute to the understanding of the origin of vasoconstriction, thrombosis and vascular remodelling of the pulmonary circulation – all the basic mechanisms leading to the development of IPAH, as for there is an increasing evidence of several products of platelets and megakaryocytes to be capable of triggering such processes.

9 Literatura

- Agarwal, A., Johannesson, L., Findeis, S.K., Punar, M., Askar, M., Ma, T.-W., Pinto, K., et al. (2022). Clinicopathological analysis of uterine allografts including proposed scoring of ischemia reperfusion injury and T-cell-mediated rejection-Dallas uterus transplant study: A pilot study. *Transplantation* 106, 167–177.
- Aigner, C., Jaksch, P., Taghavi, S., Wisser, W., Marta, G., Winkler, G., Dekan, G., et al. (2005). Donor total lung capacity predicts recipient total lung capacity after size-reduced lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 24, 2098–2102.
- Andrae, J., Gallini, R., Betsholtz, C. (2008). Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev* 22, 1276–1312.
- Balko, J., Nováčková, M., Škapa, P., Pastor, Z., Chmel, R., Zámečník, J., Chmel, R. (2022a). Histopathological examination of the ectocervical biopsy in non-transplanted uteri: A study contributing to the provisional scoring system of subclinical graft rejection after uterus transplantation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 101, 37–45.
- Balko, J., Zámečník, J., Chmel, R. (2022b). Transplantace dělohy v léčbě ženské neplodnosti z pohledu patologa. *Cesk Patol* 58, 57–60.
- Brännström, M., Dahm Kähler, P., Greite, R., Mölne, J., Díaz-García, C., Tullius, S.G. (2018). Uterus transplantation: A rapidly expanding field. *Transplantation* 102, 569–577.
- Brännström, M., Johannesson, L., Bokström, H., Kvarnström, N., Mölne, J., Dahm-Kähler, P., Enskog, A., et al. (2015). Livebirth after uterus transplantation. *Lancet* 385, 607–616.
- Brännström, M., Johannesson, L., Dahm-Kähler, P., Enskog, A., Mölne, J., Kvarnström, N., Diaz-Garcia, C., et al. (2014). First clinical uterus transplantation trial: a six-month report. *Fertil Steril* 101, 1228–1236.
- Bravo, C., Roldán, J., Roman, A., Degracia, J., Majo, J., Guerra, J., Monforte, V., et al. (2005). Tuberculosis in lung transplant recipients. *Transplantation* 79, 59–64.
- Broecker, V., Brännström, M., Ekberg, J., Dahm-Kähler, P., Mölne, J. (2021). Uterus transplantation: Histological findings in explants at elective hysterectomy. *Am J Transplant* 21, 798–808.
- Brown, A.S., Martin, J.F. (1994). The megakaryocyte platelet system and vascular disease. *Eur J Clin Invest* 24, 9–15.
- Brucker, S.Y., Strowitzki, T., Taran, F.-A., Rall, K., Schöller, D., Hoopmann, M., Henes, M., et al. (2020). Living-Donor uterus transplantation: Pre-, intra-, and postoperative parameters relevant to surgical success, pregnancy, and obstetrics with live births. *J Clin Med* 9, 2485.
- Busl, K.M., Bleck, T.P. (2015). Neurogenic Pulmonary Edema. *Crit Care Med* 43, 1710–1715.
- Chadimová, M., Kodetová, D., Lischke, R., Šimonek, J., Pozniak, J., Pafko, P. (2015). Transplantace plic v České republice – z pohledu patologa. *Cesk Patol* 51, 175–180.
- Chambers, D.C., Yusen, R.D., Cherikh, W.S., Goldfarb, S.B., Kucheryavaya, A.Y., Khusch, K., Levvey, B.J., et al. (2017). The registry of the International society for heart and lung transplantation: Thirty-fourth adult lung and heart-lung transplantation report-2017; Focus theme: Allograft ischemic time. *J Heart Lung Transplant* 36, 1047–1059.
- Cheng, L., Guo, H., Qiao, X., Liu, Q., Nie, J., Li, J., Wang, J., et al. (2013). T cell immunohistochemistry refines lung transplant acute rejection diagnosis and grading. *Diagn Pathol* 8, 168.

- Chmel, R., Čekal, M., Pastor, Z., Chmel, R., Paulasová, P., Havlovicová, M., Macek, et al.** (2020a). Assisted reproductive techniques and pregnancy results in women with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome undergoing uterus transplantation: The Czech experience. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 33, 410–414.
- Chmel, R., Nováčková, M., Čekal, M., Chmel, R., Pastor, Z.** (2021). Current ethical aspects of absolute uterine factor infertility treatment using uterus transplantation. *Ceska Gynekol* 86, 40–45.
- Chmel, R., Nováčková, M., Janoušek, L., Matěcha, J., Pastor, Z., Malušková, J., Čekal, M., et al.** (2019). Reevaluation and lessons learned from the first 9 cases of a Czech uterus transplantation trial: Four deceased donor and 5 living donor uterus transplantations. *Am J Transplant* 19, 855–864.
- Chmel, R., Nováčková, M., Pastor, Z.** (2020b). Lessons learned from the Czech uterus transplant trial related to surgical technique that may affect reproductive success. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 60, 625–627.
- Chmel, R., Nováčková, M., Pastor, Z., Froněk, J.** (2018). The interest of women with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome and laparoscopic Vecchietti neovagina in uterus transplantation. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 31, 480–484.
- Collados, M.T., Sandoval, J., López, S., Massó, F.A., Páez, A., Borbolla, J.R., Montaña, L.F.** (1999). Characterization of von Willebrand factor in primary pulmonary hypertension. *Heart Vessels* 14, 246–252.
- Dahm-Kähler, P., Diaz-Garcia, C., Brännström, M.** (2016). Human uterus transplantation in focus. *Br Med Bull* 117, 69–78.
- de Blic, J., Peuchmaur, M., Carnot, F., Danel, C., Deruesne, M., Reynaud, P., Scheinmann, et al.** (1992). Rejection in lung transplantation--an immunohistochemical study of transbronchial biopsies. *Transplantation* 54, 639–644.
- de Jesus Peixoto Camargo, J., Marcantonio Camargo, S., Marcelo Schio, S., Noguchi Machuca, T., Adélia Perin, F.** (2008). Hyperacute rejection after single lung transplantation: a case report. *Transplant Proc* 40, 867–869.
- de Vito Dabbs, A., Hoffman, L.A., Iacono, A.T., Zullo, T.G., McCurry, K.R., Dauber, J.H.** (2004). Are symptom reports useful for differentiating between acute rejection and pulmonary infection after lung transplantation? *Heart Lung* 33, 372–380.
- Ejzenberg, D., Andraus, W., Baratelli Carelli Mendes, L.R., Ducatti, L., Song, A., Tanigawa, R., Rocha-Santos, V., et al.** (2019). Livebirth after uterus transplantation from a deceased donor in a recipient with uterine infertility. *Lancet* 392, 2697–2704.
- Fageeh, W., Raffa, H., Jabbad, H., Marzouki, A.** (2002). Transplantation of the human uterus. *Int J Gynaecol Obstet* 76, 245–251.
- Flyckt, R., Falcone, T., Quintini, C., Perni, U., Egtesad, B., Richards, E.G., Farrell, R.M., et al.** (2020). First birth from a deceased donor uterus in the United States: from severe graft rejection to successful cesarean delivery. *Am J Obstet Gynecol* 223, 143–151.
- Folch, M., Pigem, I., Konje, J.C.** (2000). Müllerian agenesis: etiology, diagnosis, and management. *Obstet Gynecol Surv* 55, 644–649.
- Frost, A.E., Jammal, C.T., Cagle, P.T.** (1996). Hyperacute Rejection Following Lung Transplantation. *Chest* 110, 559–562.
- Gelman, A.E., Okazaki, M., Lai, J., Kornfeld, C.G., Kreisel, F.H., Richardson, S.B., Sugimoto, S., et al.** (2008). CD4+ T lymphocytes are not necessary for the acute rejection of vascularized mouse lung transplants. *J Immunol* 180, 4754–4762.
- Glanville, A.R., Verleden, G.M., Todd, J.L., Benden, C., Calabrese, F., Gottlieb, J., Hachem, R.R., et al.** (2019). Chronic lung allograft dysfunction: Definition and update

- of restrictive allograft syndrome-A consensus report from the Pulmonary Council of the ISHLT. *J Heart Lung Transplant* 38, 483–492.
- Haas, M., Sis, B., Racusen, L.C., Solez, K., Glotz, D., Colvin, R.B., Castro, M.C.R., et al.** (2014). Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 14, 272–283.
- Hachem, R.R.** (2012). Antibody-mediated lung transplant rejection. *Curr Respir Care Rep* 1, 157–161.
- Hachem, R.R.** (2011). Antibodies to human leukocyte antigens in lung transplantation. *Clin Transpl* 327–332.
- Hachem, R.R., Khalifah, A.P., Chakinala, M.M., Yusen, R.D., Aloush, A.A., Mohanakumar, T., Patterson, G.A., et al.** (2005). The significance of a single episode of minimal acute rejection after lung transplantation. *Transplantation* 80, 1406–1413.
- Hardy, J., Webb, W., Dalton, M., Walker, G.** (1963). Lung homotransplantation in man. *JAMA* 186, 1065–1074.
- Hopkins, P.M., Aboyoun, C.L., Chhajed, P.N., Malouf, M.A., Plit, M.L., Rainer, S.P., Glanville, A.R.** (2004). Association of minimal rejection in lung transplant recipients with obliterative bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 170, 1022–1026.
- Humbert, M., Monti, G., Fartoukh, M., Magnan, A., Brenot, F., Rain, B., Capron, F., et al.** (1998). Platelet-derived growth factor expression in primary pulmonary hypertension: comparison of HIV seropositive and HIV seronegative patients. *Eur Respir J* 11, 554–559.
- Husain, A.N., Siddiqui, M.T., Holmes, E.W., Chandrasekhar, A.J., McCabe, M., Radvany, R., Garrity, E.R.** (1999). Analysis of risk factors for the development of bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 159, 829–833.
- Italiano, J.E., Richardson, J.L., Patel-Hett, S., Battinelli, E., Zaslavsky, A., Short, S., Ryeom, S., et al.** (2008). Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet α granules and differentially released. *Blood* 111, 1227–1233.
- Johannesson, L., Testa, G., Putman, J.M., McKenna, G.J., Koon, E.C., York, J.R., Bayer, J., et al.** (2021). Twelve live births after uterus transplantation in the Dallas uterus transplant study. *Obstetrics and gynecology* 137, 241–249.
- Kazmierczyk, R., Blaszcak, P., Jasiewicz, M., Knapp, M., Ptaszynska-Kopczynska, K., Sobkowicz, B., Waszkiewicz, E., et al.** (2019). Increased platelet content of SDF-1 α is associated with worse prognosis in patients with pulmonary arterial hypertension. *Platelets* 30, 445–451.
- Kazmierczyk, R., Kamiński, K.** (2018). The role of platelets in the development and progression of pulmonary arterial hypertension. *Adv Med Sci* 63, 312–316.
- Kéveveur, A., Callebert, J., Humbert, M., Hervé, P., Simonneau, G., Launay, J.-M., Drouet, L.** (2000). High plasma serotonin levels in primary pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20, 2233–2239.
- Kudose, S., Ratner, L., Batal, I.** (2022). Histopathologic grading of uterine allograft rejection: The beginning of a long journey. *Transplantation* 106, 22–23.
- Lee, S., Chen, T.T., Barber, C.L., Jordan, M.C., Murdock, J., Desai, S., Ferrara, N., et al.** (2007). Autocrine VEGF Signaling Is Required for Vascular Homeostasis. *Cell* 130, 691–703.
- Lefaucheur, C., Nochy, D., Andrade, J., Verine, J., Gautreau, C., Charron, D., Hill, G.S., et al.** (2009). Comparison of combination Plasmapheresis/IVIg/anti-CD20 versus high-dose IVIg in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 9, 1099–1107.

- Lefrançois, E., Ortiz-Muñoz, G., Caudrillier, A., Mallavia, B., Liu, F., Sayah, D.M., Thornton, E.E., et al.** (2017). The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. *Nature* 544, 105–109.
- Levine, D.J., Glanville, A.R., Aboyoun, C., Belperio, J., Benden, C., Berry, G.J., Hachem, R., et al.** (2016). Antibody-mediated rejection of the lung: A consensus report of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 35, 397–406.
- Levine, R.F., Eldor, A., Shoff, P.K., Kirwin, S., Tenza, D., Cramer, E.M.** (2009). Circulating megakaryocytes: Delivery of large numbers of intact, mature megakaryocytes to the lungs. *Eur J Haematol* 51, 233–246.
- Lischke, R., Šimonek, J., Pozniak, J., Schützner, J., Pafko, P.** (2011). Transplantace plic. *Rozhl Chir* 90, 612–620.
- Lotz, M.** (2018). Uterus transplantation as radical reproduction: Taking the adoption alternative more seriously. *Bioethics* 32, 499–508.
- Mandal, R. v., Mark, E.J., Kradin, R.L.** (2007). Megakaryocytes and platelet homeostasis in diffuse alveolar damage. *Exp Mol Pathol* 83, 327–331.
- Martin, J.F., Slater, D.N., Bridge, Trowbridge, E.A.** (1983). Abnormal intrapulmonary platelet production: a possible cause of vascular and lung disease. *Lancet* 321, 793–796.
- Martinu, T., Chen, D.-F., Palmer, S.M.** (2009). Acute rejection and humoral sensitization in lung transplant recipients. *Proc Am Thorac Soc* 6, 54–65.
- Mölne, J., Broecker, V., Ekberg, J., Nilsson, O., Dahm-Kähler, P., Brännström, M.** (2017). Monitoring of human uterus transplantation with cervical biopsies: A provisional scoring system for rejection. *Am J Transplant* 17, 1628–1636.
- Morrell, M.R., Pilewski, J.M., Gries, C.J., Pipeling, M.R., Crespo, M.M., Ensor, C.R., Yousem, S.A., et al.** (2014). De novo donor-specific HLA antibodies are associated with early and high-grade bronchiolitis obliterans syndrome and death after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 33, 1288–1294.
- Ofek, E., Sato, M., Saito, T., Wagnetz, U., Roberts, H.C., Chaparro, C., Waddell, T.K., et al.** (2013). Restrictive allograft syndrome post lung transplantation is characterized by pleuroparenchymal fibroelastosis. *Mod Pathol* 26, 350–356.
- Pafko, P., Schützner, J., Lischke, R., David, I., Špatenka, J.** (1999). The first sequential transplantation of both lungs in the Czech Republic. *Rozhl Chir* 78, 235–236.
- Parulekar, A.D., Kao, C.C.** (2019). Detection, classification, and management of rejection after lung transplantation. *J Thorac Dis* 11, S1732–S1739.
- Pedersen, N.T.** (2009). Occurrence of megakaryocytes in various vessels and their retention in the pulmonary capillaries in man. *Scand J Haematol* 21, 369–375.
- Putman, J.M., Zhang, L., Gregg, A.R., Testa, G., Johannesson, L.** (2021). Clinical pregnancy rates and experience with in vitro fertilization after uterus transplantation: Dallas Uterus Transplant Study. *Am J Obstet Gynecol* 225, 155.e1-155.e11.
- Rathore, R.S., Mehta, N., Mehta, S.B., Babu, M., Bansal, D., Pillai, B.S., Sam, M.P., et al.** (2017). Can zero-hour cortical biopsy predict early graft outcomes after living donor renal transplantation? *Can Urol Assoc J* 11, E437–E440.
- Razia, D., Arjuna, A., Trahan, A., Hahn, M.F., Abdelrazek, H., Omar, A., Tokman, S., et al.** (2022). Incidentally detected malignancies in lung explants. *Prog Transplant* 32, 332–339.
- Rhee, J.-S., Black, M., Silvia, U., Fischer, S., Morgenstern, E., Hammes, H.-P., Preissner, K.** (2004). The functional role of blood platelet components in angiogenesis. *Thromb Haemost* 92, 394–402.

- Richards, E.G., Farrell, R.M., Ricci, S., Perni, U., Quintini, C., Tzakis, A., Falcone, T.** (2021). Uterus transplantation: state of the art in 2021. *J Assist Reprod Genet* 38, 2251–2259.
- Roux, A., Levine, D.J., Zeevi, A., Hachem, R., Halloran, K., Halloran, P.F., Gibault, L., et al.** (2019). Banff Lung Report: Current knowledge and future research perspectives for diagnosis and treatment of pulmonary antibody-mediated rejection (AMR). *Am J Transplant* 19, 21–31.
- Salvadori, M., Bertoni, E.** (2014). What’s new in clinical solid organ transplantation by 2013. *World J Transplant* 4, 243–266.
- Salven, P., Orpana, A., Joensuu, H.** (1999). Leukocytes and platelets of patients with cancer contain high levels of vascular endothelial growth factor. *Clin Cancer Res* 5, 487–91.
- Scheinin, T.M., Koivuniemi, A.P.** (1963). Megakaryocytes in the Pulmonary Circulation. *Blood* 22, 82–87.
- Sharma, G.K., Talbot, I.C.** (1986). Pulmonary megakaryocytes: “missing link” between cardiovascular and respiratory disease? *J Clin Pathol* 39, 969–976.
- Soares, F.A.** (1992). Increased numbers of pulmonary megakaryocytes in patients with arterial pulmonary tumour embolism and with lung metastases seen at necropsy. *J Clin Pathol* 45, 140–142.
- Steen, S., Sjöberg, T., Pierre, L., Liao, Q., Eriksson, L., Algotsson, L.** (2001). Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor. *Lancet* 357, 825–829.
- Stewart, S., Fishbein, M.C., Snell, G.I., Berry, G.J., Boehler, A., Burke, M.M., Glanville, A., et al.** (2007). Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant* 26, 1229–1242.
- Sundaresan, S., Mohanakumar, T., Smith, M.A., Trulock, E.P., Lynch, J., Phelan, D., Cooper, J.D., et al.** (1998). HLA-A locus mismatches and development of antibodies to HLA after lung transplantation correlate with the development of bronchiolitis obliterans syndrome. *Transplantation* 65, 648–653.
- Švorcová, M., Vachtenheim, J., Havlín, J., Jakubec, P., Rakita, D., Balko, J., Šimonek, J., et al.** (2022). Transbronchial cryobiopsy vs conventional forceps biopsy in lung transplant recipients multicenter study. *J Heart Lung Transplant* 41, S529–S530.
- Swanson, E., Wallace, W.D.** (2014). Handling and interpretation of lung transplant biopsies. *Methods Mol Biol* 1180, 293–302.
- Testa, G., Koon, E.C., Johannesson, L.** (2017). Living donor uterus transplant and surrogacy: Ethical analysis according to the principle of equipoise. *Am J Transplant* 17, 912–916.
- Toronto Lung Transplant Group.** (1986). Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 314, 1140–1145.
- Treede, H., Glanville, A.R., Klepetko, W., Aboyou, C., Vettorazzi, E., Lama, R., Bravo, C., et al.** (2012). Tacrolimus and cyclosporine have differential effects on the risk of development of bronchiolitis obliterans syndrome: results of a prospective, randomized international trial in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 31, 797–804.
- Trowbridge, E.A., Martin, J.F., Slater, D.N.** (1982). Evidence for a theory of physical fragmentation of megakaryocytes, implying that all platelets are produced in the pulmonary circulation. *Thromb Res* 28, 461–475.
- Valente, M., Calabrese, F., Angelini, A., Castiglione, A.G., Rigotti, P., Ragani, M., Torelli, R., et al.** (2006). Role of the pathologist in organ transplantation: the North Italy Transplant program experience. *Transplant Proc* 38, 983–985.

- Venuta, F., van Raemdonck, D.** (2017). History of lung transplantation. *J Thorac Dis* 9, 5458–5471.
- Verleden, G.M., Glanville, A.R., Lease, E.D., Fisher, A.J., Calabrese, F., Corris, P.A., Ensor, C.R., et al.** (2019). Chronic lung allograft dysfunction: Definition, diagnostic criteria, and approaches to treatment-A consensus report from the Pulmonary Council of the ISHLT. *J Heart Lung Transplant* 38, 493–503.
- Veta, M., van Diest, P.J., Vink, A.** (2021). Can automatic image analysis replace the pathologist in cardiac allograft rejection diagnosis? *Eur Heart J* 42, 2370–2372.
- Weill, D.** (2018). Lung transplantation: indications and contraindications. *J Thorac Dis* 10, 4574–4587.
- Witt, C.A., Puri, V., Gelman, A.E., Krupnick, A.S., Kreisel, D.** (2014). Lung transplant immunosuppression - time for a new approach? *Expert Rev Clin Immunol* 10, 1419–1421.
- Yeung, A.K., Villacorta-Martin, C., Hon, S., Rock, J.R., Murphy, G.J.** (2020). Lung megakaryocytes display distinct transcriptional and phenotypic properties. *Blood Adv* 4, 6204–6217.
- Yousem, S.A., Berry, G.J., Cagle, P.T., Chamberlain, D., Husain, A.N., Hruban, R.H., Marchevsky, A., et al.** (1996). Revision of the 1990 working formulation for the classification of pulmonary allograft rejection: Lung Rejection Study Group. *J Heart Lung Transplant* 15, 1–15.
- Zanjani, K.S.** (2012). Platelets in pulmonary hypertension: a causative role or a simple association? *Iran J Pediatr* 22, 145–157.
- Zheng, Y.-G., Yang, T., Xiong, C.-M., He, J.-G., Liu, Z.-H., Gu, Q., Zhao, Z.-H., et al.** (2015). Platelet Distribution Width and Mean Platelet Volume in Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. *Heart Lung Circ* 24, 566–572.

10 Publikační činnost autora

10.1 Původní vědecké práce in extenso, které jsou podkladem disertace:

a) s impakt faktorem

Balko, J., Nováčková, M., Škapa, P., Pastor, Z., Chmel, R., Zámečnick, J., Chmel, R. (2022). Histopathological examination of the ectocervical biopsy in non-transplanted uteri: A study contributing to the provisional scoring system of subclinical graft rejection after uterus transplantation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 101, 37–45.

IF₂₀₂₂ = 4,544 (Q1).

Balko, J., Havlín, J., CasasMendez, F., Zajacová, A., Koblížek, M., Švorcová, M., Lischke, R., Zámečnick, J. (2022). Mapping of the lung megakaryocytes: A role in pathogenesis of idiopathic pulmonary arterial hypertension? *Pathol Res Pract* 237, 154060.

IF₂₀₂₂ = 3,309 (Q2).

b) bez impakt faktoru

Balko, J., Zámečnick, J., Chmel, R. (2022). Transplantace dělohy v léčbě ženské neplodnosti z pohledu patologa. *Cesk Patol* 58, 57–60.

Časopis s recenzním řízením bez impakt faktoru.

10.2 Původní vědecké práce, které nejsou podkladem disertační práce:

a) s impakt faktorem

Balko, J., Staněk, M., Krsková, L., Zámečník, J. (2023). Unusual fusion gene rearrangements in patients with nodular fasciitis: a study of rare and novel USP6 fusion partners with a review of the literature. *J Clin Pathol* jcp-2023–208768.

IF₂₀₂₂ = 4,467 (Q1).

Fujiwara, T., Medellin, M.R., Sambri, A., Tsuda, Y., **Balko, J.**, Sumathi, V., Gregory, J., Jeys, L., Abudu, A. (2019). Preoperative surgical risk stratification in osteosarcoma based on the proximity to the major vessels. *Bone Joint J* 101 B, 1024–1031.

IF₂₀₁₉ = 4,306 (Q1).

Klocperk, A., Bloomfield, M., Paračková, Z., Zentsová, I., Vrabcová, P., **Balko, J.**, Meseznikov, G., Mendez, L.F.C., Grandcourtová, A., Šípek, J., Tulach, M., Zámečník, J., Vymazal, T., Šedivá, A. (2020). Complex immunometabolic profiling reveals the activation of cellular immunity and biliary lesions in patients with severe COVID-19. *J Clin Med* 9, 3000.

IF₂₀₂₀ = 4,242 (Q1).

Tsagozis, P., Gaston, C.L., Haglund, F., **Balko, J.**, Sumathi, V., Grimer, R., Parry, M. (2021). The importance of surgical margins in malignant triton tumour of the trunk and extremities. *Oncol Lett* 21, 120.

IF₂₀₂₁ = 3,111 (Q3).

Krsková, L., Němečková, T., **Balko, J.**, Brož, P., Vícha, A. (2021). Novel ZEB2-PLAG1 fusion gene identified by RNA sequencing in a case of lipoblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 68, e28691.

IF₂₀₂₁ = 3,838 (Q1).

Mišove, A., Vícha, A., Zápotocký, M., Mališ, J., **Balko, J.**, Němečková, T., Szabová, J., Kynčl, M., Nováková-Kodetová, D., Štolová, L., Jenčová, P., Brož, P., Krsková, L. (2021). An unusual fusion gene EML4-ALK in a patient with congenital mesoblastic nephroma. *Genes Chromosomes Cancer* 60, 837–840.

IF₂₀₂₁ = 4,263 (Q1).

Rousek, M., Whitley, A., Kachlík, D., **Balko, J.**, Záruba, P., Belbl, M., Nikov, A., Ryska, M., Gürlich, R., Pohnán, R. (2022). The dorsal pancreatic artery: A meta-analysis with clinical correlations. *Pancreatol* 22, 325–332.

IF₂₀₂₂ = 3,996 (Q1).

Fíková, A., Kuchař, M., Kalfeřt, D., Dostálová, L., **Balko, J.**, Zábrodský, M., Plzák, J. (2022). Experience with follow-up strategy in selected patients with Warthin tumour diagnosed by ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy (FNAB). *Eur Arch Otorhinolaryngol Suppl* 279, 2049–2055.

IF₂₀₂₂ = 2,503 (Q1).

Horák, P., Kreisingerová, K., Réda, J., Ondrušová, L., **Balko, J.**, Vachtenheim Jr, J., Žáková, P., Vachtenheim, J. (2023). The Hedgehog/GLI signaling pathway activates transcription of Slug (Snail2) in melanoma cells. *Oncol Rep* 49, 75.

IF₂₀₂₂ = 4,136 (Q2).

b) bez impakt faktorů

Pokorná Klímová, L., Gut, J., Tlustá, P., Zárubová, K., Bronský, J., Zeman, L., Frýbová, B., Soukup, J., **Balko, J.**, Kodetová, D. (2017). Recidivující krvácení do trávicího ústrojí. *Cesk Pediatr* 72, 45–50.

Časopis s recenzním řízením bez impakt faktorů.

Farkašová, M., Procházka, V., Kunovský, L., Eid, M., Vlažný, J., Hustý, J., **Balko, J.**, Kysela, P., Kala, Z. (2021). Multiorgánová resekce pro rozsáhlý paragangliom kazuistika. *Rozhl Chir* 100, 138–142.

Časopis s recenzním řízením bez impakt faktorů.

Krsková, L., Kalinová, M., Němečková, T., Šípalová, B., Mrhalová, M., Koblížek, M., **Balko, J.**, Háček, J., Nováková-Kodetová, D., Vícha, A., Brož, P., Zápotocký, M., Kabíčková, E., Zámečník, J. (2021). Sekvenování nové generace - nástroj vědy či rutinní patologie? *Cesk Patol* 57, 136–143.

Časopis s recenzním řízením bez impakt faktorů.

Krsková, L., Šípalová, B., Němečková, T., Strnadová, M., Kalendová, T., Kalfusová, A., Alexandra, Malkusová, Šandová, M., Koblížek, M., **Balko, J.**, Vícha, A., Brož, P., Jenčová, P., Štolová, L., Dagmar, Voříšková, Belhajová, M., Zápotocký, M., Sumerauer, D., Zámečník, J. (2022). Efektivní schéma využívané v diagnostice nádorů CNS. *Cesk Patol* 58, 135–137.

Časopis s recenzním řízením bez impakt faktorů.

10.3 Přednášky a plakátová sdělení na odborných setkáních:

Balko, J., Balaščík, I., Hornofová, L., Kodet, R. Pleuropulmonální blastom u plodu ve 31. týdnu gravidity [poster]. 18. seminář mladých patologů

s mezinárodní účastí a 42. sjezd Společnosti českých patologů, Litomyšl, Česká republika, 17.–18. 4. 2015.

Balko, J., Campr, V., Škapa, P., Kodet, R. Kalcifikující epiteliální odontogenní nádor (KEON) [poster]. 19. seminář mladých patologů s mezinárodní účastí a 43. sjezd Společnosti českých patologů, Litomyšl, Česká republika, 22.–23. 4. 2016.

Balko, J., Škapa, P., Kodet, R. „Russell bodies gastritis“ asociovaná s dysplázií. [poster]. 20. seminář mladých patologů s mezinárodní účastí a 44. sjezd Společnosti českých patologů, Litomyšl, Česká republika, 31. 3.–1. 4. 2017.

Balko, J. Humorální rejekce plic z pohledu patologa [přednáška]. 1. postgraduální symposium Společnosti pro orgánové transplantace, Mikulov, Česká republika, 8.–9. 6. 2017.

Balko, J., Fujiwara, T., Le Nail, L.R., Thomas, M., Stevenson, J., Jeys, L., Borchu, R., Parry, M., Sumathi, V. Secondary sarcomas associated with bone infarct – The Birmingham experience [poster]. 31st annual meeting of the European musculo-skeletal oncology society, Amsterdam, Nizozemsko, 10.–11. 5. 2018.

Le Nail, L.R., **Balko, J.**, Sumathi, V., Fujiwara, T., Stevensin, J., Jeys, L., Parry, M. Extra-skeletal myxoid chondrosarcoma: A monocentric retrospective study [poster]. 31st annual meeting of the European musculo-skeletal oncology society, Amsterdam, Nizozemsko, 10.–11. 5. 2018.

Thmoas, M., **Balko, J.**, Botchu, R., Parry, M., Sumathi, V. Malignant lipomatous tumours in young adults: A case series from the Royal Orthopaedic Hospital (ROH), Birmingham [poster]. 31st annual meeting of the European musculo-skeletal oncology society, Amsterdam, Nizozemsko, 10.–11. 5. 2018.

Fujiwara, T., Medellin, M.R., Sambri, A., Tsuda, Y., **Balko, J.**, Sumathi, V., Gregory, J., Jeys, L., Abudu, A. (2019). Preoperative surgical risk stratification in osteosarcoma based on the proximity to the major vessels [poster]. 31st annual

meeting of the European musculo-skeletal oncology society, Amsterdam, Nizozemsko, 10.–11. 5. 2018.

Parry, M., **Balko, J.**, Sumathi, V. Li-Fraumeni syndrome and sarcoma: 30 years of experience at a regional referral centre [poster]. 31st annual meeting of the European musculo-skeletal oncology society, Amsterdam, Nizozemsko, 10.–11. 5. 2018.

Balko, J. Memorix histology – a revolutionary compromise between a textbook, an atlas, and student's excerpts [přednáška]. 26th ISMS (International Symposium on Morphological Sciences), Praha, Česká republika, 5.–7. 7. 2018.

Balko, J., Mrhalová, M., Krsková, L., Kodet, R. Extraskelální myxoidní chondrosarkom [poster]. 21. seminář mladých patologů s mezinárodní účastí a 45. sjezd Společnosti českých patologů, Litomyšl, Česká republika, 5.–6. 4. 2019.

Zajacová, A., Švorcová, M., Šimonek, J., **Balko, J.**, Valentová-Bartáková, L., Burkert, J., Fila, L., Lischke, R., Havlín, J. Vliv poměru velikosti plic a shody pohlaví dárce a příjemce na přežití a incidenci akutní celulární rejekce po oboustranné transplantaci plic [poster]. Vědecká konference 2. LF UK, Praha, Česká republika, 10.–11. 4. 2019.

Balko, J. Paraneoplastický BOS při Castlemanově chorobě [přednáška]. 4. setkání mladých transplantologů SOT, Jezerka, Česká republika, 1.–2. 11. 2019.

Balko, J. Pitevní a histopatologický nález u onemocnění COVID-19 [přednáška]. Webcast ČLK, Praha, Česká republika, 21. 12. 2020.

Balko, J. Aktualizováno – Pitevní a histopatologický nález u onemocnění COVID-19 [přednáška]. Webcast ČLK, Praha, Česká republika, 24. 3. 2021.

Balko, J., Havlín, J., Zámečník, J. Plicní kapilární hemangiomatóza v explantovaných plicích po transplantaci [poster]. 22. seminář mladých patologů s mezinárodní účastí, Litomyšl, Česká republika, 22.–23. 10. 2021.

Balko, J. CVD a co na to patolog? [přednáška]. 46. flebologické dny, Praha, Česká republika, 12.–13. 11. 2021.

Balko, J., Havlín, J., Zámečník, J. Transplantace plic pro paraneoplastickou bronchiolitis obliterans při Castlemanově chorobě [poster]. 23. seminář mladých patologů s mezinárodní účastí, Litomyšl, Česká republika, 1.–2. 4. 2022.

Balko, J., Nováčková, M., Škapa, P., Pastor, Z., Chmel, R. Jr., Zámečník, J., Chmel, R. Histopathological comparison of the ectocervical biopsy in non-transplanted uteri to the provisional scoring system of uterine graft rejection [poster]. Vědecká konference 2. LF UK, Praha, Česká republika, 12.–13. 11. 2022.

Balko, J. Mapování plicních megakaryocytů: Role v patogenezi idiopatické plicní hypertenze? [přednáška]. 47. Sjezd českých patologů a 25. Sjezd České společnosti histologických laborantů, Praha, Česká republika, 3.–5. 11. 2022.

Balko, J. Tumory s hladkosvalovou diferenciací: Přehled novinek a diferenciální diagnostika [přednáška]. 47. Sjezd českých patologů a 25. Sjezd České společnosti histologických laborantů, Praha, Česká republika, 3.–5. 11. 2022.

Balko, J., Chmel, R., Škapa, P., Zámečník, J. Characterization of the lymphocytic population within uterine cervix and its use for evaluation of the rejection of transplanted uteri [poster]. 30th World congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology and Infertility (COGI), Amsterdam, Nizozemsko, 24.–26. 11. 2022.

10.4 Jiné vědecké aktivity:

Balko, J., Tonar, Z., Varga, I., et al. Memorix histologie. Praha: Triton, 2016. ISBN 978-80-7553-009-7.

Hlavní autorství a ilustrace monografie – celostátní učebnice histologie pro VŠ. (oceněna rektorem UK cenou Jaroslava Jirsy za nejlepší lékařskou učebnici roku 2017)

Balko, J., Tonar, Z., Varga, I., et al. Memorix histology. Prague: *Triton*, 2018. ISBN 978-80-7553-577-1.

Hlavní autorství a ilustrace monografie – mezinárodní učebnice histologie pro VŠ.

Zámečník, J., et al. Patologie. Praha: *LD Prager Publishing*, 2019. ISBN 978-80-270-6457-1.

Recenze a ilustrace monografie – celostátní učebnice histologie pro VŠ. (oceněna rektorem UK cenou Jaroslava Jirsy za nejlepší lékařskou učebnici roku 2020)

Hudák R, Kachlík D, et al. Memorix anatomie, Praha: *Triton*, 2013. ISBN 978-80-7553-420-0.

Ilustrace monografie – celostátní učebnice anatomie pro VŠ.

Hudák R, Kachlík D, Volný, O, et al. Memorix anatomy, Prague: *Triton*, 2017. ISBN 978-80-7553-415-6.

Ilustrace monografie – mezinárodní učebnice anatomie pro VŠ.

Kaiser R. Chirurgie hlavových a periferních nervů s atlasem přístupů. Praha: *Grada Publishing*, 2016. ISBN 978-80-247-5808-4.

Ilustrace monografie – celostátní učebnice neurochirurgie pro VŠ.

Roztočil K, Piřha J. Nemoci končetinových cév. Praha: *Mladá fronta*, 2017. Aeskulap. ISBN 978-80-204-4371-7.

Ilustrace monografie – celostátní učebnice angiologie pro VŠ.

Balko, J. Certifikát IFMSA, Standing committee for professional exchange (SCOPE). Hospital Central del Estado de Chihuahua, Chihuahua, Mexiko, 1. 7.–1. 8. 2012.

Zahraniční stáž na patologii.

Balko, J. Visiting fellow certificate. Department of Musculoskeletal Pathology, The Royal Orthopaedic hospital, NHS Foundation Trust, Birmingham, Velká Británie, 1. 1.–28. 2. 2018.

Zahraniční stáž na patologii.

Balko, J. Lung Transplant Pathology short course in Padova. Department of Cardiac, Thoracic, Vascular Sciences and Public Health University of Padova Medical School, Padova, Itálie, 5.–6. 10. 2018.

Zahraniční kurz plicní transplantační patologie.

Švorcová, M., Vachtenheim, J., Havlín, J., Jakubec, P., Rakita, D., **Balko, J.**, Šimonek, J., et al. (2022). Transbronchial cryobiopsy vs conventional forceps biopsy in lung transplant recipients multicenter study. *J Heart Lung Transplant* 41, S529–S530.

Abstrakt.