

Lekarz Rafał Staros

**Potransplantacyjna choroba limfoproliferacyjna u
biorców przeszczepów narządowych**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Mucha

Klinika Transplantologii, Immunologii, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



Obrona rozprawy doktorskiej przed
Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2025 r.

Słowa kluczowe: chłoniak, mikrośrodowisko nowotworu, potransplantacyjna choroba limfoproliferacyjna, przeszczepienie nerki, przeszczepienie wątroby, przeszczepienie narządu mięszonego, wirus Epsteina-Barr

Keywords: Epstein-Barr virus, liver transplantation, lymphoma, post-transplant lymphoproliferative disorder, renal transplantation, solid organ transplantation, tumor microenvironment

Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską



WARSZAWSKI
UNIwersytet
MEDYCZNY

BIBLIOTEKA UCZELNIANA

Nr referencyjny
BIBG/Punktacja/ 330/2025/EW

Warszawa, 09.06.2025

Sz. Pan
Rafał Staros
Klinika Transplantologii, Immunologii,
Nefrologii i Chorób Wewnętrznych WUM

ANALIZA BIBLIOMETRYCZNA PUBLIKACJI
PANA RAFAŁA STAROSA,
WCHODZĄCYCH W SKŁAD CYKLU PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ

Lp.	Opis bibliograficzny	Impact Factor	MNiSW	Najwyższy kwartył*
Artykuły				
1.	Staros R , Foroniewicz B, Kamińska D, Dęborska-Materkowska D, Lizakowski S, Zakrocka I, Raszeja-Wyszomirska J, Stanjek-Cichoracka A, Pawłowska A, Kniola E, Poznański P, Gozdowska J, Dębska-Słizień A, Załuska W, Ochman M, Kołkowska-Leśniak A, Grąt M, Stompór T, Durlik M, Zagożdżon R, Gałązka Z, Kosieradzki M, Zieniewicz K, Pączek L, Mucha K. Does the Organ Matter in PTLN Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors. <i>Cancers</i> . 2025;17(11):1-14. <i>Rodzaj pracy: praca oryginalna</i>	4,5	140	Q1
2.	Mucha K, Staros R [równorzędny pierwszy autor], Foroniewicz B, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Kosieradzki M, Nazarewski S, Naumnik B, Raszeja-Wyszomirska J, Zieniewicz K, Pączek L. Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors between Kidney and Liver Transplant Recipients. <i>Cancers</i> . 2022;14(8):1-13. <i>Rodzaj pracy: praca oryginalna</i>	5,2	140	Q2

* Kwartył z roku publikacji, według Impact Factor.

3.	Staros R , Michalak A, Rusinek K, Mucha K, Pojda Z, Zagożdżon R. Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion. <i>Cancers</i> . 2022;14(13):1-17. <i>Rodzaj pracy: praca poglądowa</i>	5,2	140	Q2
Łącznie:		14,9	420	-
Książki				
1.	-			
Rozdziały w książkach				
1.	Mucha K, Staros R , Zaburzenia hematologiczne u biorców przeszczepów narządowych. W: <i>Transplantologia praktyczna. T. 10 : Transplantologia - medycyna przypadków czy przypadek medycyny?</i> Wydawnictwo Naukowe PWN SA, 2019, str.: 161-170.			

KIEROWNIK
Oddziału Informacji Naukowej

mgr Anna Ajdukiewicz-Tarkowska



WARSZAWSKI
UNIwersytet
MEDYCZNY

BIBLIOTEKA UCZELNIANA

Nr referencyjny
BIBG/Punktacja/ 329 /2025/EW

Warszawa, 09.06.2025

Sz. Pan
Rafał Staros
Klinika Transplantologii, Immunologii,
Nefrologii i Chorób Wewnętrznych WUM

ANALIZA BIBLIOMETRYCZNA CAŁOKSZTAŁTU DOROBKU PUBLIKACYJNEGO
PANA RAFAŁA STAROSA,
W POSTĘPOWANIU O NADANIE STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

Lp.	Opis bibliograficzny	Impact Factor	MNiSW	Najwyższy kwartył ¹
I. Artykuły opublikowane w czasopismach naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych ujętych w aktualnym wykazie MNiSW ²				
1.	Staros R , Foroniewicz B, Kamińska D, Dęborska-Materkowska D, Lizakowski S, Zakrocka I, Raszeja-Wyszomirska J, Stanjek-Cichoracka A, Pawłowska A, Kniola E, Poznański P, Gozdowska J, Dębska-Słizień A, Załuska W, Ochman M, Kołkowska-Leśniak A, Grąt M, Stompór T, Durlik M, Zagożdżon R, Gałązka Z, Kosieradzki M, Zieniewicz K, Pączek L, Mucha K. Does the Organ Matter in PTLT Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors. <i>Cancers</i> . 2025;17(11):1-14. <i>Rodzaj pracy: praca oryginalna</i>	4,5	140	Q1
2.	Mucha K, Staros R [równorzędny pierwszy autor], Foroniewicz B, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Kosieradzki M, Nazarewski S, Naumnik B, Raszeja-Wyszomirska J, Zieniewicz K, Pączek L. Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors between Kidney and Liver Transplant Recipients. <i>Cancers</i> . 2022;14(8):1-13. <i>Rodzaj pracy: praca oryginalna</i>	5,2	140	Q2

¹ Kwartył z roku publikacji, według Impact Factor.

² Wykaz sporządzony zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r., poz. 574 z późn. zm.). Wykaz stanowi załącznik do komunikatu MNiSW z 5 stycznia 2024 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych.

3.	Staros R, Michalak A, Rusinek K, Mucha K, Pojda Z, Zagożdżon R. Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion. <i>Cancers</i> . 2022;14(13):1-17. <i>Rodzaj pracy: praca poglądowa</i>	5,2	140	Q2
Łącznie:		14,9	420	-
II. Artykuły opublikowane przed 1.01.2019 r. w czasopiśmie ujętym w wykazie czasopism MNiSW z dnia 25.01.2017 r., o ile czasopismo uzyskało co najmniej 10 pkt.				
brak				
Łącznie:		-	-	-
III. Pozostałe artykuły				
brak				
Łącznie:		-	-	-
Łącznie (cz. I- III):		14,9	420	-
IV. Monografie naukowe/rozdziały w monografiach wydane przez wydawnictwa ujęte w wykazie MNiSW ³ lub jednostki organizacyjne podmiotów, których wydawnictwa są ujęte w tym wykazie				
4.	Mucha K, Staros R, Zaburzenia hematologiczne u biorców przeszczepów narządowych. W: <i>Transplantologia praktyczna. T. 10 : Transplantologia - medycyna przypadków czy przypadek medycyny?</i> Wydawnictwo Naukowe PWN SA, 2019, str.: 161-170.			
V. Pozostałe monografie lub rozdziały w monografiach				
brak				
VI. Patenty				
brak				

Katowice
Oddział Informacji Naukowej

mgr Anna Ajdukiewicz-Tarkowska

³ Wykaz sporządzony zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r., poz. 574 z późn. zm.). Wykaz ogłoszony komunikatem MEiN z dnia 22 lipca 2021 r. w sprawie wykazu wydawnictw publikujących recenzowane monografie naukowe.

ŻYCIORYS NAUKOWY

Imię i Nazwisko	RAFAŁ STAROS
Data i miejsce urodzenia	31.10.1992 Warszawa
Adres e-mail	rafaljstaros@gmail.com, rafal.staros@wum.edu.pl
Telefon kontaktowy	531 667 100

WYKSZTAŁCENIE

od 1.10.2021	Studia III-go stopnia (doktoranckie) w Szkole Doktorskiej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, w dziedzinie Nauki Medyczne, pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Krzysztofa Muchy
2012 - 2018	Studia na I Wydziale Lekarskim Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
2011 - 2012	Politechnika Warszawska, Wydział Chemiczny Studia dzienne, kierunek Technologia Chemiczna
2008 - 2011	II LO im. Stefana Batorego w Warszawie

ZATRUDNIENIE

od 01.04.2025	UCK Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Klinika Transplantologii Immunologii, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych; Młodszy Asystent Lekarz
01.2020 – 03.2025	Lekarz rezydent w Klinice Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych UCK WUM. Szkolenie specjalizacyjne w trybie rezydenckim, z zakresu Chorób Wewnętrznych
2018-2019	Staż podyplomowy w SPZZOZ im. H. Sienkiewicza w Płońsku

ZNAJOMOŚĆ JĘZYKÓW OBCYCH

Angielski	Stopień zaawansowany C2
Norweski	Stopień podstawowy A2

KONGRESY I KURSY SZKOLENIOWE

Międzynarodowe

- 2025** VI Międzynarodowa Konferencja Naukowa Zakażenia w Hematologii i Transplantologii, Warszawa – prezentacja pracy
- 2023** ERA 60th Congress, Mediolan - prezentacja pracy
- 2018** 14th Warsaw International Medical Congress (WIMC), Warszawa - prezentacja pracy
- 2018** Cell-based Therapies and Tissue Engineering, Case Western Reserve University, Cleveland, USA - szkolenie
- 2018** 4th McMaster International Review Course in Internal Medicine, Kraków - szkolenie
- 2017** 13th Warsaw International Medical Congress (WIMC), Warszawa - prezentacja pracy
- 2017** 3rd McMaster International Review Course in Internal Medicine, Kraków - szkolenie

Krajowe

- 2025** Ultrasonografia Bez Trosk – Ultrasonografia Układu Moczowego ze Szczególnym Uwzględnieniem Nerki Przeszczepionej, Warszawa - szkolenie
- 2024** Nefroonkologia 2024, Gdańsk - prezentacja pracy
- 2023** XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego, Gdańsk - prezentacja pracy
- 2017** XIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego, Warszawa - prezentacja pracy

DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA NA RZECZ UCZELNI

Zajęcia dydaktyczne:

1) Wydział Lekarski

a) propedeutyka chorób wewnętrznych, III rok (od 2020)

- b) choroby wewnętrzne, VI rok (2022-2023)
- 2) Wydział Nauk o Zdrowiu – w ramach zajęć z chorób wewnętrznych dla studentów na kierunku położnictwo (2023-2024)
- 3) English Division – propedeutika chorób wewnętrznych, III rok (od 2021)

DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA

członek Komitetu Organizacyjnego

2025	XII Kurs Transplantologii Praktycznej 21-22.03.2025, Warszawa
2023	XI Kurs Transplantologii Praktycznej, 24-25.03.2023, Warszawa
2019	X Kurs Transplantologii Praktycznej, 08-09.03.2019, Warszawa
2017	IX Kurs Transplantologii Praktycznej, 15-16.09.2017, Warszawa

DZIAŁALNOŚĆ W KOŁACH NAUKOWYCH

2015-2018	Praca naukowa pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Krzysztofa Muchy, Klinika Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych.
2014-2018	SKN Inżynierii Tkankowej przy Zakładzie Histologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego: • 2015 – Wykonawca mini-grantu studenckiego pt. <i>Badanie zdolności tlenku grafenu do adsorpcji deksametazonu w celu wykorzystania jako czynnika indukującego różnicowanie mezenchymalnych komórek macierzystych w kierunku osteoblastów</i>. Kierownik: Adam Zalewski; Opiekun: dr Ilona Kalaszczyńska • Szkolenie z zakresu zasad pracy w pomieszczeniach czystych spełniających wymogi GMP.

NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

2022 - 2023	Stypendium JM Rektora WUM dla najlepszych studentów (w ramach Szkoły Doktorskiej WUM)
2022 - 2023	Stypendium z Własnego Funduszu Stypendialnego WUM (w ramach Szkoły Doktorskiej WUM)
2016 - 2017	Stypendium JM Rektora WUM dla najlepszych studentów

CZŁONKOSTWO W TOWARZYSTWACH NAUKOWYCH

od 2025	European Society for Organ Transplantation
od 2024	Towarzystwo Internistów Polskich
od 2023	Polskie Towarzystwo Transplantacyjne
2023	European Renal Association

DOROBEK NAUKOWY

	Całkowity	Prace do Doktoratu
IF	14.9	14.9
Punktacja MEiN	420	420

CYKL PUBLIKACJI DO DOKTORATU

- 1) Zaburzenia hematologiczne u biorców przeszczepów narządowych.
Transplantologia praktyczna. T. 10 „*Transplantologia - medycyna przypadków, czy przypadek medycyny?*”. *X Kurs Transplantologii Praktycznej*.
Wydawnictwo Naukowe PWN, 2019
Mucha K, **Staros R.**
- 2) Cancers 2022; 14(8): 1-13
Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors between Kidney and Liver Transplant Recipients

Mucha K*, **Staros R***, Foroniewicz B, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Kosieradzki M, Nazarewski S, Naumnik B, Raszeja-Wyszomirska J, Zieniewicz K, Pączek L

* równorzędny pierwszy autor

IF – 5.2

Punktacja MEiN 140

3) Cancers 2022; 14(13): 1-17

Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion

Staros R, Michalak A, Rusinek K, Mucha K, Pojda Z, Zagożdżon R

IF – 5.2

Punktacja MEiN 140

4) Cancers 2025; 17(11):1770

Does the Organ Matter in PTLTD Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors

Staros R, Foroniewicz B, Kamińska D, Dęborska-Materkowska D, Lizakowski S, Zakrocka I, Raszeja-Wyszomirska J, Stanjek-Cichoracka A, Pawłowska A, Kniola E, Poznański P, Gozdowska J, Dębska-Ślizień A, Załuska W, Ochman M, Kołkowska-Leśniak A, Grąt M, Stompór T, Durlik M, Zagożdżon R, Gałązka Z, Kosieradzki M, Zieniewicz K, Pączek L, Mucha K

IF – 4.5

Punktacja MEiN 140

**PREZENTACJE PRAC NA KONFERENCJACH ZAGRANICZNYCH,
MIĘDZYNARODOWYCH LUB OGÓLNOPOLSKICH**

Prezentacje ustne (6)

2025

Staros R, Mucha K.

PTLD po transplantacjach narządowych.

VI Międzynarodowa Konferencja Naukowa Zakażenia w Hematologii i Transplantologii, Warszawa

2023

Staros R, Foroniewicz B, Kamińska D, Ochman M, Raszeja-Wyszomirska J, Nazaruk P, Tkaczyk I, Poznański P, Stanjek-Cichoracka A, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Kosieradzki M, Zieniewicz K, Pączek L, Mucha K.

Post-transplantation lymphoproliferative disorder: comparison of risk and prognostic factors between kidney and other organ transplant recipients.

European Renal Association 60th Congress

- 2023** **Staros R**, Foronczewicz B, Lizakowski S, Kamińska D, Zakrocka I, Raszeja-Wyszomirska J, Stanjek-Cichoracka A, Dębska-Ślizień A, Poznański P, Załuska W, Ochman M, Kosieradzki M, Grąt M, Zieniewicz K, Pączek L, Mucha K.
Risk and prognostic factors for post-transplantation lymphoproliferative disease in solid organ transplant recipients – a multicenter analysis.
XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego
- 2023** **Staros R**, Foronczewicz B, Kołkowska-Leśniak A, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Kniola E, Nazaruk P, Tańska J, Pączek L, Mucha K.
The clinical relevance of bone marrow biopsy in solid organ transplant recipients.
XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego
- 2018** **Staros R**, Foronczewicz B, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Zieniewicz K, Kosieradzki M, Nazarewski S, Raszeja-Wyszomirska J, Pączek L, Mucha K.
Post transplant lymphoproliferative disorder risk and prognostic factors for kidney transplant recipients which set them apart from liver transplant recipients.
14th Warsaw International Medical Congress
- 2017** **Staros R**, Foronczewicz B, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Zieniewicz K, Kosieradzki M, Nazarewski S, Sańko-Resmer J, Ciszek M, Chmura A, Krawczyk M, Pączek L, Mucha K.
Post transplant lymphoproliferative disorder (PTLD) - a series of 28 cases in solid organ transplant recipients.
13th Warsaw International Medical Congress

PREZENTACJE PRAC NA KONFERENCJACH ZAGRANICZNYCH, MIĘDZYNARODOWYCH LUB OGÓLNOPOLSKICH

Prezentacje plakatowe (4)

- 2023** **Staros R**, Foronczewicz B, Kamińska D, Ochman M, Raszeja-Wyszomirska J, Poznański P, Stanjek-Cichoracka A, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Kosieradzki M, Zieniewicz K, Pączek L, Mucha K.
Risk and prognostic factors for post-transplantation lymphoproliferative disease in solid organ transplant recipients – a Polish multicenter study.
21st Congress of the European Society for Organ Transplantation

- 2023** **Staros R**, Foroniewicz B, Kołkowska-Leśniak A, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Knioła E, Nazaruk P, Tkaczyk I, Pączek L, Mucha K.
The clinical relevance of bone marrow biopsy in solid organ transplant recipients.
21st Congress of the European Society for Organ Transplantation
- 2020** **Staros R**, Foroniewicz B, Zieniewicz K, Kosieradzki M, Nazarewski S, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Raszeja-Wyszomirska J, Jędrzejczak A, Pączek L, Mucha K.
Post-transplantation lymphoproliferative disorder (PTLD) risk and prognostic factors in kidney and liver transplant recipients.
European Renal Association – European Dialysis and Transplantation Association 57th Congress
- 2017** Mucha K, **Staros R**, Foroniewicz B, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Zieniewicz K, Kosieradzki M, Nazarewski S, Sańko-Resmer J, Cisek M, Cieciora T, Moszczuk B, Chmura A, Krawczyk M, Pączek L.
Post transplant lymphoproliferative disorder - a series of 33 cases in solid organ transplant recipients.
XIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego

PREZENTACJE PRAC NA KONFERENCJACH ZAGRANICZNYCH, MIĘDZYNARODOWYCH LUB OGÓLNOPOLSKICH

Współautorstwo (5)

- 2024** Mucha K, **Staros R**
Chłoniakopochodne choroby limfoproliferacyjne po przeszczepieniu u biorców przeszczepów narządowych — wyniki wielośrodkowego obserwacyjnego badania
Nefroonkologia 2024
- 2024** Mucha K, **Staros R**, Foroniewicz B, Kamińska D, Raszeja-Wyszomirska J, Dębska-Ślizień A, Nazaruk P, Załuska W, Ochman M, Kosieradzki M, Grąt M, Durlak M.
Risk and prognostic factors for post-transplantation lymphoproliferative disease in solid organ transplant recipients—a multicenter analysis.
European Renal Association 61st Congress
- 2020** Jędrzejczak A, Szczurek W, Zakliczyński M, Foroniewicz B, **Staros R**, Pączek L, Mucha K.
Comparison of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and/or painkillers use by kidney (KTRs) and heart transplant recipients (HTRs).

- 2019** Mucha K, **Staros R**, Foroniewicz B, Ziarkiewicz-Wroblewska B, Zieniewicz K, Kosieradzki M, Sanko-Resmer J, Ciszek M, Nazarewski S, Raszeja-Wyszomirska J, Pączek L.
Comparison of post-transplantation lymphoproliferative disorder risk and prognostic factors between kidney and liver transplant recipient populations.
19th Congress of the European Society for Organ Transplantation
- 2016** Zalewski A, **Staros R**, Rumiński S.
Osteogenic Differentiation of human adipose-derived stem cells (hASCs) cultured on graphene derivative costed surfaces pre-conditioned with dexamethasone (DEX).
12th Warsaw International Medical Congress

*Serdeczne podziękowania za opiekę merytoryczną
i wsparcie kieruję do mojego Promotora,
Pana prof. dr hab. n. med. Krzysztofa Muchy,
bez którego niniejsza praca by nie powstała*

*Dedykuję swoją rozprawę
Moim Rodzicom, którzy podarowali mi ciekawość
świata i nadali mojej drodze kierunku
oraz
Mojej siostrze Dorocie i żonie Marzenie, za ich
wiarę i wsparcie w trudnych momentach.*

*Serdeczne podziękowania kieruję
Do moich mentorów – prof. Krzysztofa Muchy oraz
prof. Bartosza Foroncowicza, za wytyczanie szlaków
i bycie najlepszymi przewodnikami.*

Spis treści

1. Wykaz stosowanych skrótów	1
2. Streszczenie w języku polskim	3
3. Streszczenie w języku angielskim	6
4. Wstęp	
4.1 Choroby nowotworowe u biorców przeszczepów narządów mięsaszowych	9
4.2 Klasyfikacja PTLTD	10
4.3 Czynniki ryzyka rozwoju PTLTD	11
4.4 Metody leczenia PTLTD	12
4.5 Uzasadnienie połączenia prac w cykl publikacji	14
5. Założenia i cel pracy	
5.1 Założenia pracy	23
5.2 Cel pracy	24
6. Kopie opublikowanych prac	
6.1 Zaburzenia hematologiczne u biorców przeszczepów narządowych.	25
6.2 Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors between Kidney and Liver Transplant Recipients	35
6.3 Does the Organ Matter in PTLTD Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors	49
6.4 Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion	65
7. Podsumowanie i wnioski	83
8. Bibliografia	84
9. Spis rycin i tabel	88
10. Opinie Komisji Bioetycznej	89
11. Oświadczenia współautorów publikacji	91

1. Wykaz stosowanych skrótów

CAR - chimeric antigen receptor / chimeryczny receptor antygenowy

CHOP - cyklofosfamid, doksorubicyna, winkrystyna i prednizon

CR - complete remission / całkowita remisja

CTL - limfocyty cytotoksyczne

EBV - Epstein-Barr virus / wirus Epsteina-Barr

HCT - hematopoietic cell transplantation / przeszczepienie komórek
krwiotwórczych

HL - Hodgkin's lymphoma / chłoniak Hodgkina

KTR - kidney transplant recipient / biorca przeszczepu nerki

KTx - kidney transplantation / przeszczepienie nerki

LngTR - lung transplant recipient / biorca przeszczepu płuc

LTR - liver transplant recipient / biorca przeszczepu wątroby

LTx - liver transplantation / przeszczepienie wątroby

NHL - non-Hodgkin lymphoma / chłoniak nie-Hodgkinowski

PTLD - post-transplantation lymphoproliferative disease / potransplantacyjna
choroba limfoproliferacyjna

R-CHOP - rytuksymab, cyklofosfamid, doksorubicyna, winkrystyna i prednizon

RTX - rytuksymab

SOT - solid organ transplantation / przeszczepienie narządu miąższowego

SOTR - solid organ transplant recipient / biorca przeszczepu narządu miąższowego

TAC - takrolimus

TLI - tumor infiltrating lymphocytes / limfocyty naciekające nowotwór

TME - tumor microenvironment / mikrośrodowisko nowotworu

2 . Streszczenie w języku polskim

Wstęp

Potransplantacyjna choroba limfoproliferacyjna (PTLD) dotyczy osób po transplantacji narządów mięszowych (SOT) lub komórek krwiotwórczych (HCT). Częstość PTLD jest największa wśród biorców przeszczepów wielonarządowych i fragmentów jelita, następnie płuc, trzustki, wątroby, serca, a najniższa wśród biorców przeszczepu nerki. Powszechnie uważa się, że jednymi z głównych czynników ryzyka są kumulatywna dawka immunosupresji, rozumiana jako intensywność, ale przede wszystkim długość leczenia immunosupresyjnego oraz infekcja wirusem Epsteina-Barr (EBV). Należy podkreślić, że pomimo stosowania nowych terapii hematologicznych, śmiertelność w tej grupie pacjentów jest nadal bardzo wysoka. Wynika to z niespecyficznych objawów i trudności diagnostycznych jak oraz szybkiego przebiegu tej choroby u osób po przeszczepieniu, którzy otrzymują leczenie immunosupresyjne.

Z punktu widzenia częstości występowania na tle populacji ogólnej, PTLD można zaklasyfikować *de facto* jako chorobę rzadką. Obecnie nie dysponujemy satysfakcjonującymi danymi epidemiologicznymi, bowiem stosunkowo mała częstość choroby a z drugiej strony duża liczba ośrodków transplantacyjnych na świecie, utrudniają zebranie i analizę odpowiednio istotnej statystycznie grupy pacjentów. Dlatego, każdy projekt dotyczący badań nad tą chorobą jest tak ważny.

Metodologia

Do retrospektywnego badania obserwacyjnego włączono biorców przeszczepów narządów mięszowych, zarówno pediatrycznych, jak i dorosłych, z histopatologicznie potwierdzonym rozpoznaniem PTLD. Z badania wyłączono biorców przeszczepów komórek hematopoetycznych oraz pacjentów z rozrostami nie spełniającymi kryteriów rozpoznania PTLD.

Wszystkie dane pacjentów w tym dane przesyłane z innych ośrodków były zanonimizowane. Uzyskaliśmy stosowne zgody Komisji Bioetycznej WUM (numery AKBE/90/2022 oraz KB/75/2023).

Projekt został podzielony na etapy. **Pierwsza część badania** została przeprowadzona wśród biorców przeszczepu nerki lub wątroby pozostających w okresie 2002-2017 pod opieką Kliniki Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

(KITiChW) WUM. Uzyskane wyniki zostały opublikowane – patrz publikacja No 2 (str. 50).

Celem weryfikacji oraz poszukiwania ewentualnych kolejnych zależności, przeprowadzono **część drugą badania**, w ramach której poza pacjentami KITiChW WUM do współpracy zaproszono pięć ośrodków transplantacyjnych w Polsce, tj.:

- a) Klinikę Nefrologii Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (prof. dr hab. n. med. Alicja Dębska-Ślizień, dr hab. n. med Sławomir Lizakowski)
- b) Klinikę Nefrologii i Transplantologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (prof. dr hab. n. med. Dorota Kamińska, dr n. med. Paweł Poznański)
- c) Klinikę Nefrologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie (prof. dr hab. n. med. Wojciech Załuska, dr n. med. Izabela Zakrocka)
- d) Klinikę Hepatologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (prof. dr hab. n. med. Joanna Raszeja-Wyszomirska)
- e) Śląskie Centrum Chorób Serca (dr hab. n. med. Marek Ochman, dr hab. n. med. Anita Stanjek-Cichoracka)

Do etapu drugiego włączono biorców przeszczepów nerki, wątroby lub płuc, którym w latach 2000-2023 rozpoznano PTLD. Istotność narządowo-specyficznych czynników ryzyka została zbadana za pomocą analizy jedno- (dr Magdalena Zielenkiewicz) i wieloczynnikowej (dr Wojciech Lesiński) - patrz publikacja No 3.

Zamieszczony w cyklu publikacji rozdział monografii opisuje problematykę zaburzeń hematologicznych u SOTR, ze szczególnym uwzględnieniem PTLD.

Publikacja poglądowa będąca w cyklu prac do doktoratu, miała na celu poszukiwanie metod nowoczesnej diagnostyki a w następnym kroku leczenia chorób nowotworowych, w tym PTLD. Dlatego oceniona została przydatność biodruku 3D jako narzędzia pozwalającego badać mikrośrodowisko nowotworów, w tym również PTLD (publikacja 4).

Dzięki temu projektowi stworzona została baza danych obejmująca do września 2024 (tj. momentu wysłania do publikacji pracy nr 3) 103 pacjentów z potwierdzonym PTLD spośród około 13 263 pacjentów po przeszczepieniu nerki, wątroby lub płuc, którzy w badanym okresie otrzymali przeszczep w 6 ośrodkach biorących udział w badaniu. Baza jest cały czas uzupełniana zarówno, jeśli chodzi o liczbę pacjentów (obecnie 128) jak i dane.

Wyniki

1. Dynamika rozwoju PTLD, różni się między biorcami nerki, wątroby i płuc. LngTRs rozwijają PTLD najwcześniej (mediana 5 miesięcy po LngTx), KTRs najpóźniej (mediana 117 miesięcy po KTx, $p < 0.001$).
2. Stwierdzono, że wśród KTRs najważniejszym czynnikiem ryzyka jest wiek w momencie przeszczepienia (HR = 1.04, 95% CI 1.01 - 1.07, $p = 0.003$). Jest to również czynnik niekorzystny rokowniczo (HR = 1.03, 95% CI 1.00 - 1.07, $p = 0.045$). W publikacji No. 2 istotnymi czynnikami ryzyka dla KTRs były płeć męska ($p = 0.029$), stosowanie takrolimusu (TAC, $p = 0.002$) i wiek > 45 lat w momencie KTx ($p = 0.004$).
3. Wśród LTRs, pacjenci przyjmujący TAC rozwijali PTLD później (HR = 0.21, 95% CI 0.05 - 0.95, $p = 0.042$), natomiast przeżycie było gorsze u pacjentów z rozpoznaniem PTLD o typie hiperplazji plazmocytovej (HR = 10.2, 95% CI 2.2 – 47.48, $p = 0.003$).
4. Wśród SOTR stwierdzono niekorzystny wpływ ATG, na przeżycie pacjentów (zarówno jako indukcji, jak i w leczeniu ostrego odrzucania, odpowiednio $p < 0.001$ i $p = 0.004$), korzystna natomiast była ograniczona postać choroby (Lugano I, $p = 0.005$) i leczenie operacyjne ($p = 0.014$).
5. Biodruk 3D wydaje się być technologią, która pozwala na badania mikrośrodowiska nowotworów, ocenę nowych metod leczenia oraz może mieć potencjalne zastosowanie w PTLD.

Wnioski

Czynniki ryzyka oraz dynamika rozwoju PTLD różnią się w zależności od rodzaju przeszczepionego narządu. Na podstawie naszych badań, największe ryzyko rozwoju PTLD dotyczy LngTRs, następnie pośrednie LTRs, a najniższe KTRs. Wśród KTRs największe ryzyko dotyczy pacjentów starszych w momencie przeszczepienia, płci męskiej, stosujących TAC. Wśród LTRs największe ryzyko dotyczy pacjentów leczonych cyklosporyną. Pozytywnymi czynnikami istotnymi rokowniczo wśród SOTR była ograniczona postać choroby (Lugano I) i operacyjne usunięcie ograniczonych zmian, negatywny efekt miało stosowanie ATG. Badania prowadzone w przyszłości powinny uwzględniać narządowo-specyficzne analizy. Utworzona na potrzeby tego projektu baza danych pacjentów z PTLD po transplantacji na terenie Polski, jest dobrym punktem wyjścia do dalszych badań naukowych nad chorobą. Biodruk 3D wydaje się być technologią, która posłuży do badań nad PTLD i skutecznością nowych metod leczenia.

3. Streszczenie w języku angielskim

Introduction

Post-transplantation lymphoproliferative disease (PTLD) affects solid organ and hematopoietic cell transplant recipients. PTLD is most frequent in multiorgan and intestinal transplant recipients, through lung, pancreas, liver, and heart transplant recipients and the lowest in kidney transplant recipients. It is widely accepted, that the intensity and duration of immunosuppressive treatment otherwise known as the cumulative dose of immunosuppression as well as EBV infection are the most important risk factors. Despite novel treatment modalities, the disease still possesses high mortality rates, owing to non-specific symptoms, difficult diagnostics and rapid progression in immunosuppressed patients.

Through the scope of its overall frequency in the general population, we can recognize PTLD as a rare disease. Currently we do not possess satisfactory epidemiological data, as the low frequency of the disease combined with the high number of transplantation centers worldwide make it difficult to assemble large cohorts suitable for analysis. Thus each research project focusing on PTLD is so valuable.

Methodology

Solid organ transplant recipients (SOTRs), both paediatric and adult, with histologically confirmed PTLD were included in this retrospective observational research. Hematopoietic cell transplant recipients as well as patients with lesions not meeting the diagnosis criteria of PTLD were excluded from this study.

All patient data were anonymized, including the data received from other participating transplantation centers. The required approvals of the Bioethics Committee of the Medical University of Warsaw were collected (No. AKBE/90/2022 and No. KB/75/2023).

The project was divided into two stages. The first stage was conducted on kidney (KTRs) and liver transplant recipients (LTRs) who were under observation at the Department of Immunology, Transplantation and Internal Medicine MUW in a time period between 2002 and 2017. The results were published (publication No. 2, page 50).

In order to verify the results of the first stage of the project and to possibly discover new insights, the second stage of the project was conducted. Five additional Polish transplantation centers were invited to participate in this stage:

- a) Department of Nephrology, Transplantation, and Internal Medicine, Medical University of Gdańsk (prof. dr hab. n. med. Alicja Dębska-Ślizień, dr hab. n. med. Sławomir Lizakowski)
- b) Department of Nephrology and Transplantation Medicine, Wrocław Medical University (prof. dr hab. n. med. Dorota Kamińska, dr n. med. Paweł Poznański)
- c) Department of Nephrology, Medical University of Lublin (prof. dr hab. n. med. Wojciech Załuska, dr n. med. Izabela Zakrocka)
- d) Department of Hepatology, Transplantation and Internal Medicine, Medical University of Warsaw (prof. dr hab. n. med. Joanna Raszeja-Wyszomirska)
- e) Silesian Center for Heart Diseases (dr hab. n. med. Marek Ochman, dr hab. n. med. Anita Stanjek-Cichoracka)

Kidney, liver and lung transplant recipients with histologically verified PTLTLD diagnosed between 2000 and 2023 were included in this stage. The significance of organ-specific risk and prognostic factors was analyzed using univariate (dr Magdalena Zielenkiewicz) and multivariate analysis (dr Wojciech Lesiński) (publication No. 3).

The monograph chapter included in this dissertation describes the clinical landscape of hematological disorders in solid organ transplant recipients, with a particular focus on PTLTLD. The review paper included in this dissertation aimed at researching novel diagnostic and treatment modalities in neoplasms, and particularly PTLTLD. Thus, the viability of 3D bioprinting in tumor microenvironment research (including PTLTLD) was assessed.

During this project we established a multicentre database, which as of September 2024 (the month paper No. 3 was submitted for review) contained the data of 103 patients with confirmed PTLTLD out of a total of 13 263 kidney, liver or lung transplant recipients from six participating transplantation centres. The database is continuously updated in terms of the number of patients (currently 128) and data.

Results

1. The dynamics of PTLTLD development differ between kidney, liver and lung transplant recipients. LngTRs were earliest to develop PTLTLD (median of 5 months post-LngTx), KTRs developed PTLTLD latest (median of 117 months post-KTx, $p < 0.001$)

2. Age at transplantation was the most important risk factor for KTRs (HR = 1.04, 95% CI 1.01 – 1.07, $p = 0.003$). Additionally, age at transplantation was also determined to be a negative prognostic factor (HR = 1.03, 95% CI 1.00 – 1.07, $p = 0.045$). In paper No. 2 male sex ($p = 0.029$), use of tacrolimus (TAC, $p = 0.002$) and age > 45 years at KTx ($p = 0.004$) were found to be significant risk factors among KTRs
3. Among LTRs patients receiving TAC were later to develop PTLT (HR = 0.21, 95% CI 0.05 - 0.95, $p = 0.042$) and patient survival was inferior in patients diagnosed with plasmacytic hyperplasia PTLT (HR = 10.2, 95% CI 2.2 – 47.48, $p = 0.003$).
4. Anti-thymocyte globulin (administered either as induction or as acute rejection treatment, $p < 0.001$ and $p = 0.004$, respectively) was found to negatively impact SOTR survival. Focal disease (Lugano I, $p = 0.005$) and surgical treatment ($p = 0.014$) were found to be positive prognostic factors.
5. 3D bioprinting seems to be a technology that allows for research on tumor microenvironment, evaluation of novel treatment modalities, with potential applications in PTLT.

Conclusions

The dynamics and risk factors of PTLT development differ in relation to solid organ transplant type. Based on our research, the LngTRs are at the highest risk of PTLT development, LTRs at intermediate risk and KTRs at lowest risk. Among KTRs patients who are of older age at transplantation, males, and those treated with TAC are at the highest risk. Among LTRs the highest risk concerns patients treated with cyclosporin. Focal disease (Lugano I) and surgical treatment were found to be positive prognostic factors in SOTR, whereas ATG use had a negative impact on patient survival. Future research of the epidemiology of PTLT should include organ specific analyses. The multicenter database of Polish patients with PTLT created for the purpose of this project is a starting point for future research. 3D bioprinting is a technology that seems to allow for future research of PTLT and novel methods of its treatment.

4. Wstęp

4.1 Choroby nowotworowe w populacji biorców przeszczepów narządów mięsnych

Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), zawartych w raporcie *Global Observatory on Donation and Transplantation*, w 2023 roku, na świecie 172 409 osób otrzymało przeszczep narządu mięsnego (SOT) [1]. Na podstawie danych POLTRANSPLANT wiemy, że w Polsce w roku 2023 przeprowadzono 2003 SOT u 1897 pacjentów, a w 2024 roku 2199 SOT u 2151 pacjentów. Od początku ery transplantacji w Polsce tj. od 1966 roku do końca 2024, całkowita populacja biorców przeszczepów narządów mięsnych (SOTR), którym przeszczepienie narządu przeprowadzono w Polsce wyniosła 42 429 osób [2]. Uważa się, że głównymi grupami powikłań po transplantacji narządów są: choroby sercowo-naczyniowe, infekcje, cukrzyca i choroby nowotworowe.

Immunosupresja, konieczna celem zapobiegania i hamowania procesom ostrego oraz przewlekłego odrzucania przeszczepionego narządu, niestety zwiększa ryzyko występowania infekcji oraz nowotworów [3]. Wiemy, że karcynogeneza u pacjentów leczonych immunosupresyjnie promowana jest w kilku mechanizmach. Między innymi poprzez upośledzoną odpowiedź układu immunologicznego nie tylko na same komórki nowotworowe, ale również na infekcje wirusami onkogennymi lub uszkodzenia związane z działaniem czynników środowiskowych i procesów replikacyjnych. Odzwierciedleniem tego jest zwiększona zapadalność biorców przeszczepów narządowych np. na związanego z infekcją ludzkim wirusem brodawczaka (HPV) raka szyjki macicy, [4] lub związane z ekspozycją na promieniowanie UV nowotwory skóry [5]. Istotnym problemem w populacji SOTR są nie tylko infekcje *de novo*, ale również reaktywacja latentnych infekcji wirusami obecnymi wśród znaczącej większości osób dorosłych. Takim wirusem jest między innymi onkogenny wirus Epsteina-Barr (EBV), którego reaktywacja w zakażonych limfocytach w kontekście immunosupresji pełni kluczową rolę w rozwoju potransplantacyjnej choroby limfoproliferacyjnej (PTLD). Spośród chorób nowotworowych występujących u SOTRs, choroba ta zasługuje na szczególną uwagę i dlatego jest ona przedmiotem mojej rozprawy doktorskiej.

PTLD jest istotnym powikłaniem występującym u biorców przeszczepów narządowych lub komórek hematopoetycznych i wiąże się z wysokim odsetkiem śmiertelności. Choroba ta w swoim spektrum obejmuje między innymi agresywne

nowotwory: chłoniaki z limfocytów B, T i komórek NK. Jej patogenezą jest klasycznie wiązana z immunosupresją i wspomnianą wcześniej infekcją EBV.

W metaanalizie z 2007 roku opartej na pięciu publikacjach opisujących ryzyko wystąpienia nowotworów w populacji SOTRs oraz siedmiu publikacjach dotyczących tego samego zagadnienia u pacjentów z HIV/AIDS, Grulich et al. wykazali, że ryzyko wystąpienia chłoniaków niehodgkinowskich (NHL) jest około ośmiokrotnie wyższe u SOTRs niż w populacji ogólnej, a w przypadku chłoniaka Hodgkina (HL) około 4-krotnie wyższe [6]. Dla porównania całkowite ryzyko wystąpienia nowotworu u osób po transplantacji narządów mięsnych jest 2.6-krotnie wyższe niż w populacji ogólnej [7], a np. ryzyko raka jelita grubego 1.12-razy wyższe [8].

W ostatnich latach zaczęto rozpatrywać mikrośrodowisko nowotworu (TME) jako czynnik powodujący lokalną, funkcjonalną immunosupresję w jego obrębie, skutkującą zjawiskiem określanym jako *Tumor Immune Evasion*, czyli unikaniem odpowiedzi immunologicznej przez guz [9]. Dziś wiemy, że TME jest czynnikiem, który istotnie wpływa na skuteczność stosowanego leczenia onkologicznego [10]. Dotychczas niewiele prac koncentrowało się na analizie tego zjawiska wśród SOTRs, dotyczyły one głównie nowotworów skóry [11] lub raka jelita grubego [12]. Opisują one istotne różnice w TME nowotworów występujących u SOTR w porównaniu do populacji ogólnej – mniej nasilone naciekanie guza limfocytami (*tumor infiltrating lymphocytes*, TLI), niższą ilość trzeciorzędowych struktur limfatycznych w obrębie tych nacieków, niższą ilość limfocytów T w obrębie guza, obniżoną ekspresję PD-L1, HLA-I w komórkach nowotworowych [13]. W jednym z nielicznych badań poświęconych TME w PTLD wykazano, że pacjenci, u których zmiany były nacieczone przez mniejszą liczbę limfocytów, charakteryzowali się gorszym dwuletnim przeżyciem od pacjentów z wyższymi ilościami TLI [14].

4.2 Klasyfikacja PTLD

Odkąd PTLD zostało opisane po raz pierwszy w roku 1969 [15], zrozumienie choroby oraz jej klasyfikacja histopatologiczna ulegały wielokrotnym modyfikacjom. Opierając się na aktualnej klasyfikacji International Consensus Classification z roku 2022 [16], możemy opisać PTLD jako spektrum rozrostów z układu limfoidalnego, obejmujące postaci od poliklonalnych, do agresywnych monoklonalnych chłoniaków niehodgkinowskich lub chłoniaka Hodgkina. Klasyfikacja ta wygląda następująco:

- 1) zmiany „*niedestruktywne*” (obejmujące poliklonalne rozrosty takie jak hiperplazja plazmocytoza, zmiany podobne do mononukleozy zakaźnej oraz kwitnący rozrost grudkowy);
- 2) typ polimorficzny;
- 3) typ monomorficzny (obejmujący NHL z limfocytów B, limfocytów T lub komórek NK);
- 4) typ klasycznego HL.

Alternatywnym systemem jest piąta edycja klasyfikacji nowotworów limfoidalnych WHO [17], w ramach której PTLD klasyfikowane jest w szerszej grupie rozrostów i chłoniaków związanych z niedoborem lub dysregulacją odporności, które dzielone są następująco:

- 1) hiperplazje powstające na tle niedoboru lub dysregulacji odporności
- 2) limfoprolifernacje polimorficzne powstające na tle niedoboru lub dysregulacji odporności
- 3) chłoniaki powstające na tle niedoboru lub dysregulacji odporności

Najczęściej występującym typem PTLD jest typ monomorficzny z limfocytów B, a w jego obrębie najczęstszym chłoniakiem jest chłoniak rozlany z dużych limfocytów B [18]. Chłoniaki indolentne nie są zaliczane do spektrum PTLD.

4.3 Czynniki ryzyka rozwoju PTLD

Do powszechnie uznanych czynników ryzyka rozwoju PTLD należy rodzaj przeszczepionego narządu. Ryzyko względne jest najwyższe u biorców przeszczepów wielonarządowych oraz fragmentów jelita (RR = 239.5), następnie u biorców przeszczepu płuc (RR = 58.6), trzustki (RR = 34.9), wątroby (RR = 29.9), serca (RR = 27.6) a najniższe u biorców nerek (RR = 12.6) [19].

Kolejnym uznanym czynnikiem ryzyka jest transplantacja narządu od EBV-seropozytywnego dawcy do EBV-seronegatywnemu biorcy, skutkująca pierwotną infekcją onkogennym wirusem EBV w momencie najsilniejszego leczenia immunosupresyjnego, kiedy to hamowana farmakologicznie odpowiedź T-komórkowa nie jest w stanie kontrolować proliferacji zakażonych limfocytów B [20]. Biorąc pod uwagę fakt, że około 90% osób dorosłych posiada cechy przeszłego kontaktu z EBV [21] oraz znaczącą przewagę dorosłych wśród dawców narządów, taki scenariusz dotyczy głównie biorców pediatrycznych i około 10% biorców dorosłych [22].

Ostatnim z uznanych czynników ryzyka jest intensywność i czas stosowania immunosupresji, czyli tzw. jej kumulatywna dawka. Ważnym aspektem w kontekście

ryzyka rozwoju PTLD jest również rola poszczególnych leków immunosupresyjnych. W literaturze znajdujemy niejednoznaczne dane dotyczące znaczenia poszczególnych leków [23]. Najwięcej dowodów potwierdza negatywną rolę stosowania cząsteczek powodujących deplecję lub upośledzenie funkcji limfocytów T, takich jak globulina anty-thymocytna (ATG) lub kiedyś stosowane przeciwciała OKT3. Na kolejnych miejscach znajdują się belatacept i inhibitory kalcyneuryny, wśród których wyższe ryzyko związane jest ze stosowaniem takrolimusu (TAC) aniżeli cyklosporyny (CsA) [19]. Znaczenie innych leków immunosupresyjnych takich jak: azatiopryna, mykofenolan mofetylu, bazyliksymab, alemtuzumab lub daklizumab oceniane jest niejednoznacznie, przy czym raczej uważa się je za niezwiększające ryzyko wystąpienia PTLD.

Jeszcze mniej dowodów wskazuje na możliwy udział innych czynników, takich jak choroba podstawowa (np. choroby autoimmunologiczne [24] i potencjalne ich leczenie immunosupresyjne w okresie przed przeszczepieniem), infekcje wirusami innymi niż EBV (takimi jak na przykład HBV i HCV), które również mogą wykazywać tropizm w kierunku limfocytów [25, 26].

Na podstawie danych z amerykańskich [27] wykazano, że wśród biorców przeszczepów nerki, krzywa zachorowalności PTLD wyróżnia się dwoma szczytami. Pierwszy występuje w trakcie pierwszego roku po przeszczepieniu i jest klasycznie wiązany z pierwotną infekcją EBV, drugi zaś występuje około 8-10 lat później, w około 50% jest u pacjentów EBV-dodatnich i uważa się, że jest zależny od kumulatywnej dawki immunosupresji [23].

4.4 Metody leczenia PTLD

Na wstępie należy podkreślić, że podstawowe znaczenie dla skuteczności leczenia PTLD ma szybka i precyzyjna diagnoza. Jakkolwiek te dwa aspekty są istotne w całej medycynie, to w przypadku opisywanej choroby szybkość postawienia diagnozy jest szczególnie ważna.

Powszechnie przyjęto, że w leczeniu PTLD pierwszym krokiem powinna być redukcja immunosupresji. Co prawda rzadko, ale nie mniej pozwala to na uzyskanie dobrej odpowiedzi klinicznej w niektórych postaciach choroby [28]. W bardziej zaawansowanych postaciach choroby tj. polimorficznej, monomorficznej lub klasycznym HL, stosowane są zwykle metody leczenia odpowiadające histopatologicznemu rodzajowi chłoniaka wśród osób immunokompetentnych. Ponieważ najczęstszym typem PTLD jest typ monomorficzny, a w jego obrębie dominują NHL z limfocytów B, najczęściej stosowaną

metodą leczenia w tej grupie jest immunoterapia przeciwciałami anti-CD20 (RTX) w monoterapii lub w połączeniu z systemową chemioterapią cyklofosfamidem, doksorubicyną, winkrystyną i prednizonem (R-CHOP). Na podstawie wieloośrodkowego randomizowanego badania klinicznego PTLID-1, przyjęto schemat leczenia opierający się na 4 cyklach indukcji RTX, następnie 4 cyklach konsolidacji CHOP. W tym schemacie leczenia, 90% pacjentów uzyskiwało co najmniej częściową odpowiedź, a 68% odpowiedź całkowitą (CR) [29]. W opublikowanym w 2017 roku badaniu klinicznym II-fazy, Trappe et al. wykazali skuteczność i bezpieczeństwo zastosowania konsolidacji RTX u pacjentów, którzy osiągnęli całkowitą remisję po czterech cyklach indukcji, lub konsolidacji R-CHOP u pozostałych, uzyskując u 88% co najmniej częściową odpowiedź a u 70% CR [30].

W przypadku choroby EBV(+) odpornej na leczenie oraz nawrotowej, można rozważyć zastosowanie terapii komórkowej cytotoksycznymi limfocytami T skierowanymi przeciwko EBV (EBV CTLs, lub jako produkt *off-the-shelf* tablecleucel), lub brentuksymabem wedotyny u pacjentów z monomorficznym PTLID z limfocytów CD30 dodatnich [31]. W przypadku dalszych niezadowolających odpowiedzi na leczenie lub u pacjentów z nawrotowym/opornym na leczenie PTLID EBV(-), proponowane jest stosowanie immunoterapii adoptywnej limfocytami T z chimerycznym receptorem antygenowym (CAR-T cells) skierowanym przeciwko CD19. W tym przypadku oczywistym warunkiem jest PTLID rozwijające się z komórek CD19+. W literaturze terapia EBV CTLs opisana na grupie 13 biorców przeszczepu, którzy nie odpowiedzieli na leczenie rituximabem, poskutkowało osiągnięciem odpowiedzi u 54.8% pacjentów, a CR u 2 kolejnych [32]. W przypadku terapii CAR-T, w badaniu przeprowadzonym na 22 SOTRs z nawrotową lub oporną na leczenie chorobą uzyskano CR u 55% pacjentów, a dwuletnie przeżycie u 58%. [33]

Obecnie istnieje niewiele modeli laboratoryjnych pozwalających na badania interakcji zachodzących w TME oraz skuteczności leczenia chłoniaków *in vitro* [34]. Jednym z takich modeli był opracowany przez Foxall et al. model wykorzystujący współhodowlę pierwotnych komórek DLBCL z komórkami określanymi jako fibroblasty *lymphoid-like* (preróżnicowanymi z komórek macierzystych pochodzących z tkanki tłuszczowej - ADSC) oraz makrofagami pozyskanymi z komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (*monocyte derived macrophages* – MDM) [35]. W tym samym badaniu autorzy, na przykładzie RTX, wykazali zasadność użycia tego modelu do testów skuteczności leczenia.

Podsumowując, obecnie podstawowym schematem leczenia u SOTR z monomorficznym PTLD z limfocytów B (najczęstszym) jest indukcja RTX, następnie w zależności od odpowiedzi na leczenie, konsolidacja RTX lub R-CHOP. Kolejne opisane dotyczą nielicznych pacjentów. Wydaje się, że terapia CAR-T może być zmianą jakościową leczenia a badania nad TME PTLD powinny przynieść nam kompletnie nowe metody terapii.

4.5 Uzasadnienie połączenia prac w cykl publikacji

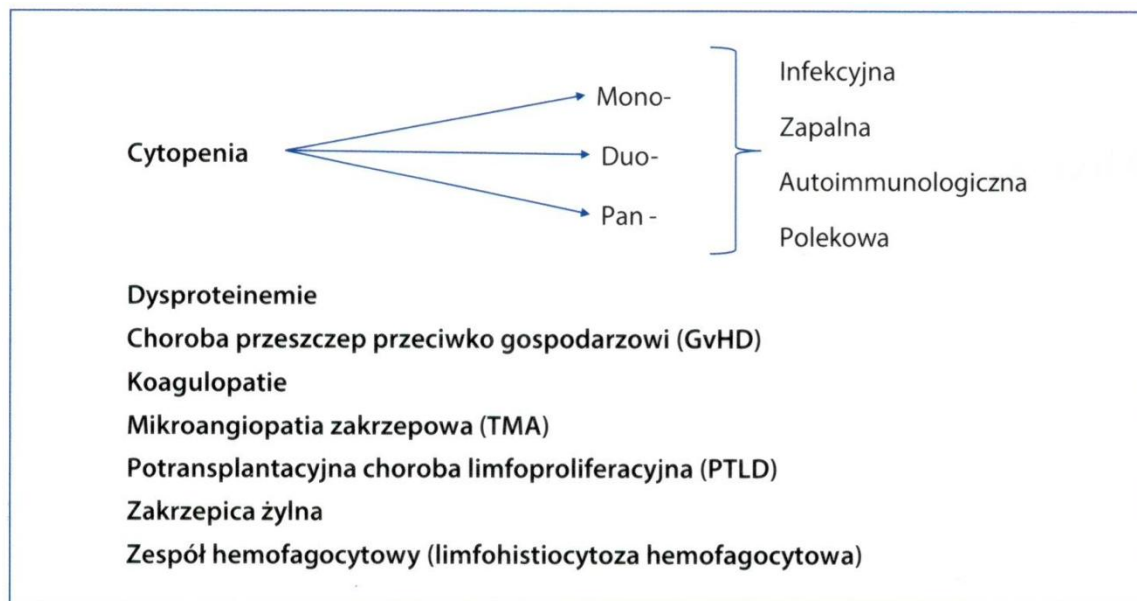
Przedstawiony przeze mnie cykl 4 publikacji stanowi pionierskie opracowanie dotyczące epidemiologii PTLD w populacji polskich biorców narządów unaczynionych. Poza znaczeniem naukowym, prace oryginalne No. 2 i 3 mają wartość kliniczną, wynikającą np. z możliwości porównania naszych polskich danych z doniesieniami opracowanymi w innych ośrodkach transplantacyjnych na świecie. Wszystkie cztery prace zawarte w cyklu, wskazują dalsze potrzebne kierunki badań nad PTLD zarówno u nas w kraju, jak i w szerszym światowym kontekście. W mojej ocenie powinny nimi być m.in.:

- a) wieloośrodkowe badania pozwalające na maksymalizację liczby pacjentów po transplantacji poszczególnych narządów czego efektem będzie zwiększenie czułości i specyficzności analiz statystycznych;
- b) stosowanie narządowo-specyficznych analiz czynników ryzyka rozwoju PTLD i czynników prognostycznych tej choroby, wśród SOTR;
- c) wprowadzenie nowych technologii (np. biodruk 3-D), pozwalających na badanie TME i skuteczności nowych metod leczenia najpierw w warunkach *in vitro*.

Pierwszą pracą prezentowaną w cyklu jest rozdział w monografii opublikowanej w 2019 roku, który jest poświęcony zaburzeniom hematologicznym występującym u SOTR. Rozdział ten został napisany z myślą o transplantologach opiekujących się na co dzień biorcami SOT jako zwięzłe wprowadzenie do problematyki zaburzeń hematologicznych i miał na celu zwrócenie uwagi na wybrane jednostki chorobowe, w tym PTLD.

Rozdział zawiera opis potencjalnych przyczyn cytopenii, od wykrycia których często rozpoczyna się proces diagnostyki hematologicznej u SOTR. Wśród nich opisywane są zarówno działania niepożądane leków immunosupresyjnych (takich jak cyklosporyna, TAC czy mykofenolan mofetylu) czy leków przeciwinfekcyjnych (takich jak trimetoprim/sulfametoksazol, gancyklowir lub walgancyklowir). Do przyczyn

niefarmakologicznych zaliczono m.in. infekcje wirusowe powodowane przez wirusy z rodziny *Herpesviridae* (w tym EBV) oraz przez Parvovirus B19.



Rycina 1. Wybrane jednostki chorobowe należące do spektrum zaburzeń hematologicznych u pacjentów po transplantacjach (publikacja No. 1)

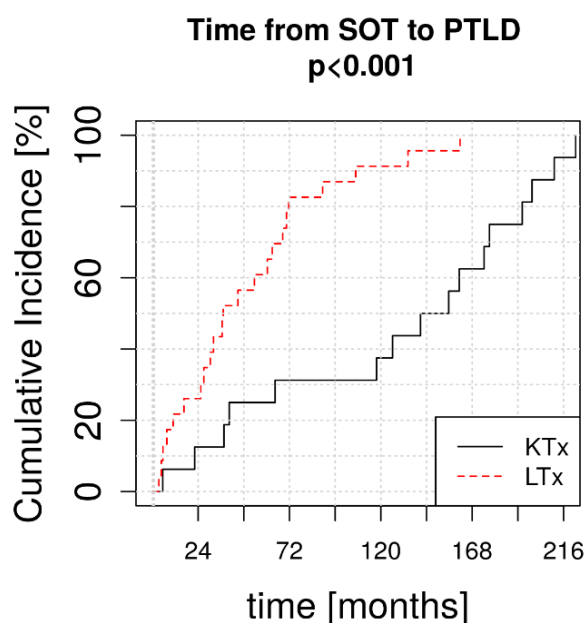
Opisaliśmy uznane w literaturze czynniki ryzyka PTLD, takie jak rodzaj przeszczepionego narządu, pierwotna infekcja EBV czy kumulatywna dawka immunosupresji. Przedstawiona jest w nim również ówczesna klasyfikacja PTLD (WHO 2016). Podkreślony został niespecyficzny obraz kliniczny choroby, często zależny od lokalizacji zmian, w szczególności pozawęzłowych, zlokalizowanych np. w obrębie ośrodkowego układu nerwowego, jelita, czy samego narządu przeszczepionego.

Zwrócona została również uwaga na istotność redukcji immunosupresji jako pierwszego kroku w leczeniu PTLD.

W drugiej pracy prezentowanej w cyklu, opublikowanej w roku 2022, zawarty został opis największej wówczas kohorty pacjentów z PTLD pochodzącej z jednego ośrodka w Polsce. W piętnastoletniej obserwacji, 16 osób spośród 2598 biorców przeszczepu nerek (KTRs) oraz 23 osoby spośród 1378 biorców przeszczepu wątroby (LTRs) rozwinęło PTLD. Porównując grupy KTRs i LTRs wykazaliśmy różnice dotyczące czynników wpływających na dynamikę choroby oraz przeżycie pacjentów.

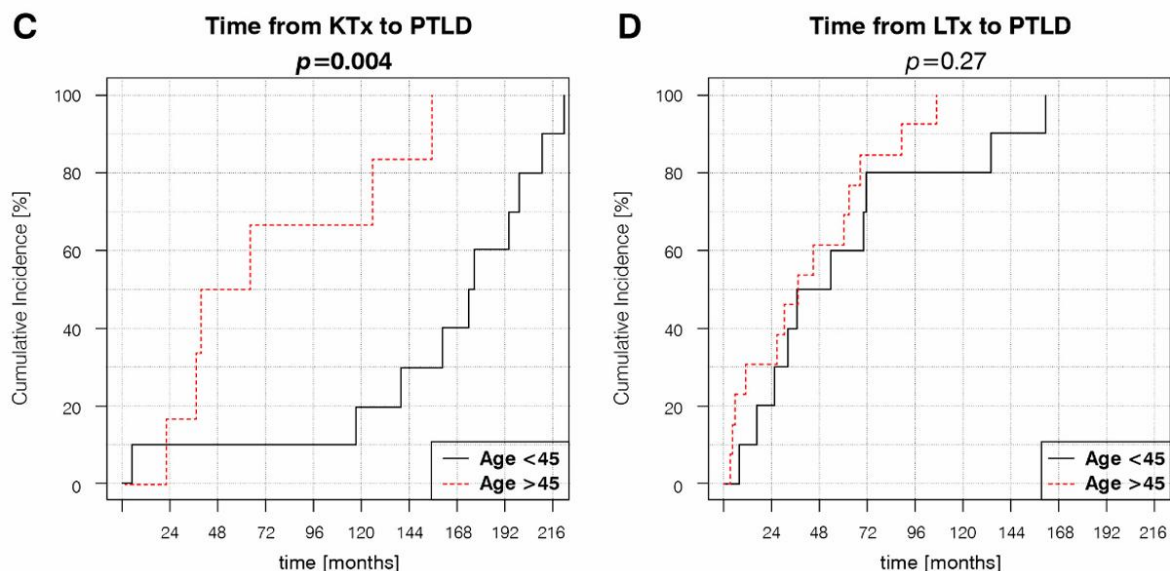
W grupie biorców przeszczepu nerki zidentyfikowano: a) płeć męską, b) wiek > 45 lat w momencie przeszczepienia oraz c) stosowanie TAC, jako czynniki związane z wcześniejszym wystąpieniem PTLD. Natomiast w grupie LTRs wiek i płeć pacjentów nie miały istotnego znaczenia, a stosowanie TAC było związane z późniejszym wystąpieniem PTLD. Dodatkowo wykazano rozbieżności pomiędzy wynikami pochodzącymi z analizy łącznej grupy SOTR a analizami narządowo-specyficznymi. Należy podkreślić, że publikacja nr 2 była w literaturze najprawdopodobniej pierwszą lub jedną z pierwszych w świecie prac bezpośrednio porównującą czynniki ryzyka między grupami pacjentów po transplantacji różnych narządów.

Spośród wszystkich przedstawionych wyników chcę zwrócić uwagę na różnicę w czasie wystąpienia PTLD pomiędzy KTRs a LTRs, którą przedstawia Rycina 1.



Rycina 2. Przedstawione w pracy No. 2 różnice w czasie od SOT do rozpoznania PTLD pomiędzy grupami pacjentów po KTx lub LTx.

Kolejnym wynikiem, na który chcę zwrócić uwagę jest różnica w istotności wpływu wieku pacjentów na czas wystąpienia PTLD – czynnik ten okazał się istotny dla KTRs, ale nie dla LTRs.



Rycina 3. Przedstawione w pracy No. 2 różnice w czasie od SOT do rozpoznania PTLD w zależności od wieku, pomiędzy grupami pacjentów po KTx lub LTx.

W pracy numer 3 zawartej w cyklu - chronologicznie czwartej, bo opublikowanej w 2025 roku - przedstawione zostały wyniki pochodzące w sumie z 6 ośrodków transplantacyjnych w Polsce tzn. z:

1. Kliniki Transplantologii, Immunologii, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
2. Kliniki Nefrologii Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
3. Kliniki Nefrologii i Transplantologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
4. Kliniki Nefrologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
5. Kliniki Hepatologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
6. Śląskiego Centrum Chorób Serca

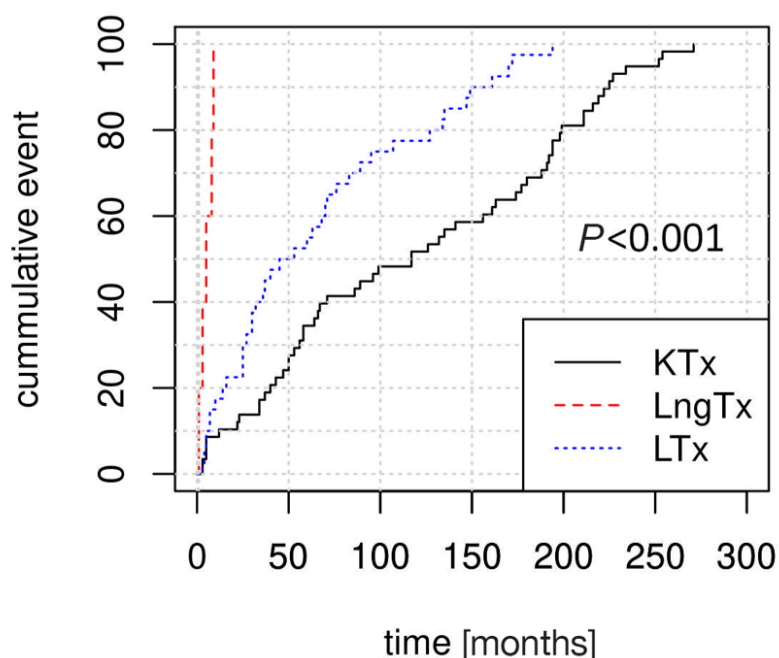
Celem tej wielośrodkowej współpracy była weryfikacja wyników z publikacji nr 2 na większej grupie pacjentów oraz przedstawienie epidemiologii PTLD w szerszym, ogólnopolskim kontekście.

W okresie obserwacji obejmującym od roku 2000 do 2023, PTLD rozpoznano u 58 spośród 9432 KTRs, 40 spośród 3500 LTRs i 5 spośród 331 LngTRs.

LngTRs rozwijali PTLD najwcześniej (mediana 5 miesięcy po LngTx), byli oni istotnie młodszy od LTRs i KTRs (odpowiednio: mediana w momencie SOT 24 lata vs. 40 i 45 lat $p < 0.001$), u 80% spośród nich wykrywalna była wirusmia CMV i EBV. Niestety niska liczebność uniemożliwiła wiarygodną analizę statystyczną czynników ryzyka i prognostycznych w tej grupie pacjentów.

PTLD rozpoznawano najpóźniej wśród KTRs (mediana 117 miesięcy po KTx) a na dynamikę rozwoju choroby miał wpływ starszy wiek pacjentów w momencie KTx (HR 1.04, 95% CI 1.01 - 1.07, $p = 0.003$). Czynnikiem istotnym rokowniczo w tej grupie pacjentów również był wiek w momencie KTx (HR = 1.03, 95% CI 1.00 - 1.07, $p = 0.045$).

Wśród LTRs natomiast zidentyfikowano stosowanie cyklosporyny jako czynnik ryzyka rozwoju PTLD (HR = 4.8, 95% CI 1.06 – 21.78, $p = 0.042$).



Rycina 4. Przedstawione w pracy No. 3 różnice w czasie od SOT do rozpoznania PTLD pomiędzy grupami pacjentów po KTx, LTx, lub LngTx.

Parameter	HR	95% CI	<i>p</i> -Value
Total SOTRs			
Age at 1st Tx	1.02	1.00–1.04	0.01
Tacrolimus	1.96	1.3–2.95	0.001
Cyclosporin A	0.63	0.42–0.94	0.025
KTRs			
Age at 1st Tx	1.03	1.00–1.05	0.01
LTRs			
Tacrolimus	0.21	0.05–0.95	0.042
Cyclosporin A	4.8	1.06–21.78	0.042

PTLD, post-transplantation lymphoproliferative disorder; HR, hazard ratio; CI, confidence interval; SOTR, solid organ transplant recipient; Tx, transplantation. *p*-values for univariate Cox regression.

Tabela 1. Wyniki analizy jednoczynnikowej wpływu czynników na czas od SOT do rozpoznania PTLD, pokazujące różnice pomiędzy KTRs i LTRs.

Parameter	HR	95% CI	<i>p</i> -Value
Total SOTRs			
Lugano stage I	0.36	0.17–0.73	0.005
Lugano stages II–IV	2.89	1.42–5.88	0.004
Surgery	0.33	0.14–0.80	0.014
Anti-CD20	0.43	0.19–0.98	0.045
R-CHOP	0.39	0.15–0.99	0.047
ATG induction	12.53	3.53–44.45	<0.001
AR ATG	28.83	3.0–277.17	0.004
KTRs			
ATG induction	11.93	3.04–46.83	<0.001
Lugano stage I	0.41	0.17–1.0	0.049
Lugano stages II–IV	2.51	1.04–6.02	0.04
Reduction of IS	0.34	0.14–0.82	0.017
LTRs			
AR ATG	34.5	2.16–551.55	0.012
PH PTLD	4.24	1.23–14.6	0.022

AR, acute rejection; ATG, anti-thymocyte globulin; PH, plasmacytic hyperplasia; R-CHOP, anti-CD20 + cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *p*-values for univariate Cox regression.

Tabela 2. Wyniki analizy jednoczynnikowej wpływu czynników na przeżycie pacjentów, pokazujące różnice pomiędzy KTRs i LTRs.

Zidentyfikowano również różnice w czynnikach wpływających na przeżycie pacjentów pomiędzy różnymi typami SOTR. W analizie wieloczynnikowej dla KTRs istotnym był wiek (HR = 1.03, 95% CI 1.00 - 1.07, $p = 0.045$), natomiast dla LTRs PTLD o typie hiperplazji plazmocytovej (HR = 10.2, 95% CI 2.2 – 47.48, $p = 0.003$). Wśród SOTR niekorzystny wpływ na przeżycie pacjentów miało stosowanie ATG (zarówno jako indukcji, jak i w leczeniu ostrego odrzucania, odpowiednio $p < 0.001$ i $p = 0.004$), korzystna rokowniczo była ograniczona postać choroby (Lugano I, $p = 0.005$) i leczenie operacyjne ($p = 0.014$)

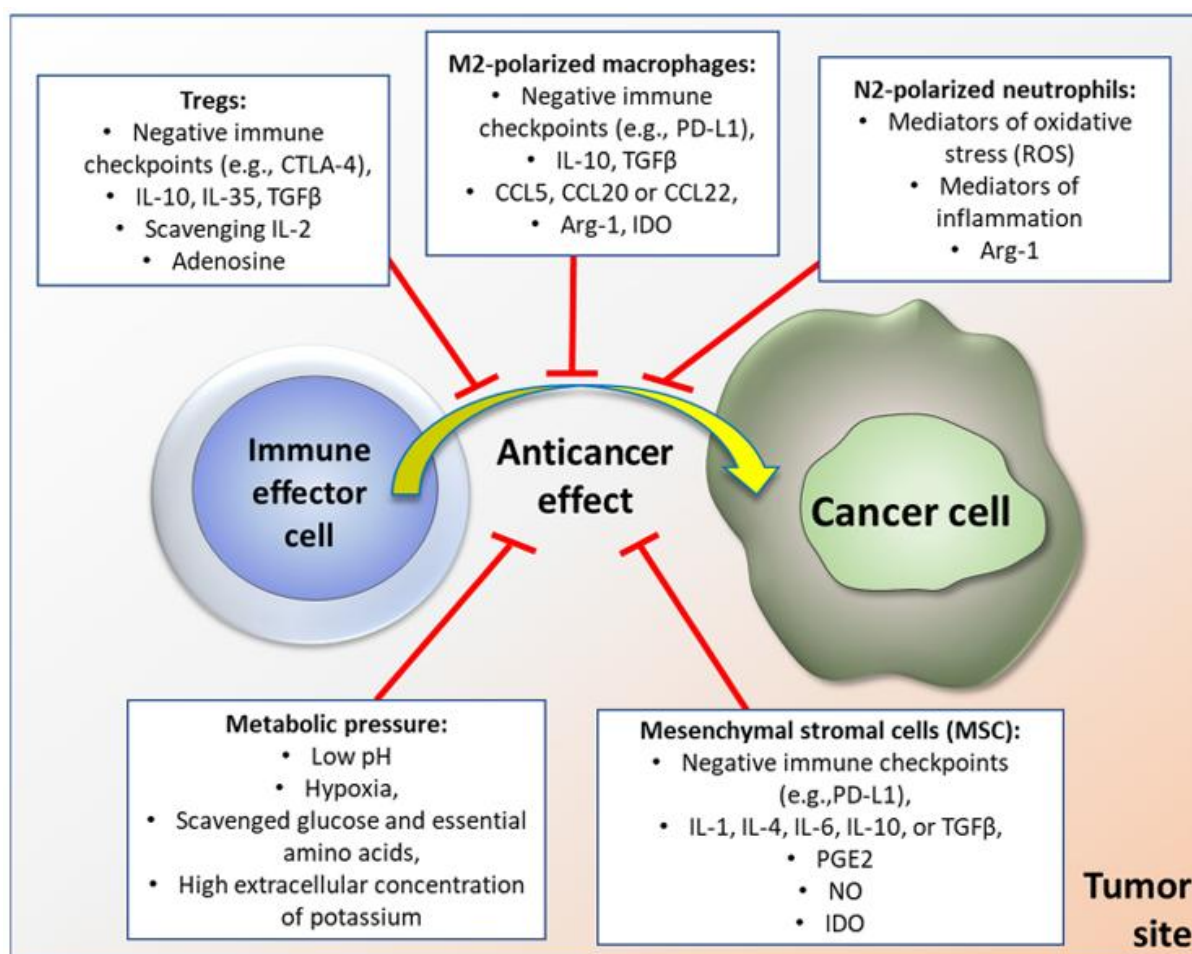
W mojej opinii najistotniejszymi klinicznie wynikami tej pracy są:

- 1) określenie mediany czasu od SOT do rozpoznania PTLD dla poszczególnych typów SOT;
- 2) określenie wpływu wieku KTRs na ryzyko PTLD i przeżycie pacjentów;
- 3) określenie wpływu cyklosporyny i TAC na czas wystąpienia PTLD u LTRs.

Podsumowując wyniki obu prac oryginalnych (publikacja 2 i 3), najważniejszymi spostrzeżeniami są: różnice pomiędzy wynikami analiz czynników ryzyka i prognostycznych pomiędzy łączną grupą SOTR, grupą KRTs i LTRs, które dowodzą konieczności stosowania narządowo-specyficznych analiz w badaniach nad epidemiologią PTLD.

Publikacja numer 4 w cyklu będąca pracą poglądową dotyczy możliwego wykorzystania nowoczesnej technologii biodruku 3D do badań nad mikrośrodowiskiem nowotworów w kontekście zjawiska *Tumor Immune Evasion*.

Załączona poniżej rycina pochodząca z tej pracy przedstawia wybrane czynniki składające się na TME i upośledzające odpowiedź komórek efektorowych układu immunologicznego na komórki nowotworowe.



Rycina 5. Przedstawione w pracy No. 4 wybrane czynniki składające się na rolę mikrośrodowiska nowotworu w zjawisku *Tumor Immune Evasion*.

Przytoczone w pracy doniesienia, potwierdzają, że trójwymiarowe systemy hodowli komórek nowotworowych odpowiadają lepiej ich natywnemu środowisku, niż klasyczne metody hodowli 2D. Praca kreśli perspektywę wykorzystania konstruktów wytworzonych za pomocą biodruku 3D jako platform do badań *in vitro* nad docelowo nowymi metodami leczenia nowotworów. Powstała z myślą o możliwym wykorzystaniu opisywanych technologii w badaniach nad PTLD.

Śledząc rozwój badań podstawowych, uważamy, że jest to narzędzie, które pozwoli na lepsze zrozumienie biologii PTLD, potencjalnie torując drogę do nowych metod leczenia. Trójwymiarowa hodowla natywnych komórek PTLD pobranych od pacjentów byłaby krokiem milowym w przedklinicznych badaniach nad farmakologicznymi metodami leczenia tej choroby, jak i być może chłoniaków w populacji ogólnej. Argumentem przemawiającym za tą hipotezą jest częstsza niż w chłoniakach u

immunokompetentnych pacjentów pozawęzłowa lokalizacja choroby, również w narządach o mniej skomplikowanym przestrzennie i biologiczne TME, niż narządy limfatyczne.

5. Założenia i cele pracy

5.1 Założenia pracy

PTLD to heterogenna choroba dotycząca SOTR oraz biorców HCT, której ryzyko wystąpienia, progresji oraz rokowanie różni się w zależności m.in. od płci, wieku, rodzaju przeszczepionego narządu, stosowanego leczenia oraz wielu innych ocenianych czynników. W związku z tym założenia pracy były następujące:

1. Rodzaj stosowanej immunosupresji, wiek w momencie przeszczepienia oraz płeć pacjentów może mieć różny wpływ na ryzyko rozwoju PTLD w zależności od rodzaju SOTR.
2. Czas przeżycia pacjentów może różnić się pomiędzy różnymi SOTR w zależności od typu choroby, jej zaawansowania oraz metod leczenia.
3. Konstelacja w/w czynników może wpływać na ryzyko wystąpienia PTLD, dynamikę rozwoju choroby oraz przeżycie u biorców różnych narządów miękkich.

Plan realizacji kolejnych etapów pracy obejmował:

- a. przegląd literatury związanej z tematyką pracy doktorskim celem przygotowania materiału do przyszłych publikacji;
- b. uzyskanie zgód Komisji Bioetycznej WUM (nr AKBE/90/2022 oraz KB/75/2023);
- c. przygotowanie bazy danych klinicznych i demograficznych pacjentów Kliniki Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych UCK WUM oraz działającej przy niej Poradni Nefrologiczno-Transplantacyjnej, z potwierdzonym histopatologicznie rozpoznaniem PTLD (publikacja No. 2);
- d. nawiązanie współpracy z kolejnymi ośrodkami transplantacyjnymi w Polsce, zebranie i analiza danych pacjentów z PTLD (publikacja No. 3);
- e. nawiązanie współpracy z Zakładem Medycyny Regeneracyjnej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie (publikacja No. 4);
- f. analizę statystyczną i interpretację wyników badań;
- g. przygotowanie i publikację dwóch prac oryginalnych, 1 pracy poglądowej oraz przygotowanie rozprawy doktorskiej.

5.2 Cele pracy

Biorąc pod uwagę opisane powyżej zagadnienia, celami pracy były:

1. Poszerzenie wiedzy na temat czynników ryzyka PTLD, przebiegu oraz rokowania tej choroby wśród pacjentów po transplantacji różnych narządów w Polsce, na podstawie analizy danych z przygotowanej bazy pacjentów;
2. Zdefiniowanie poszczególnych czynników ryzyka oraz prognostycznych dotyczących PTLD, w populacji pacjentów po transplantacji nerki, wątroby lub płuc;
3. Analiza statystyczna w tym wieloczynnikowa z wykorzystaniem danych demograficznych i klinicznych, celem nazwania najbardziej istotnych czynników;
4. Ocena teoretyczna przydatności biodruku 3D jako potencjalnego narzędzia pozwalającego na badania TME i nowych metod leczenia w PTLD.

6. Kopie opublikowanych prac

6.1 Zaburzenia hematologiczne u biorców przeszczepów narządowych.

Transplantologia praktyczna. T. 10

„Transplantologia - medycyna przypadków, czy przypadek medycyny?”

X Kurs Transplantologii Praktycznej

Wydawnictwo Naukowe PWN, 2019



ROZDZIAŁ 16

Zaburzenia hematologiczne u biorców przeszczepów narządowych

Hematological disorders in solid organ transplant recipients

Krzysztof Mucha, Rafał Staros

Abstract

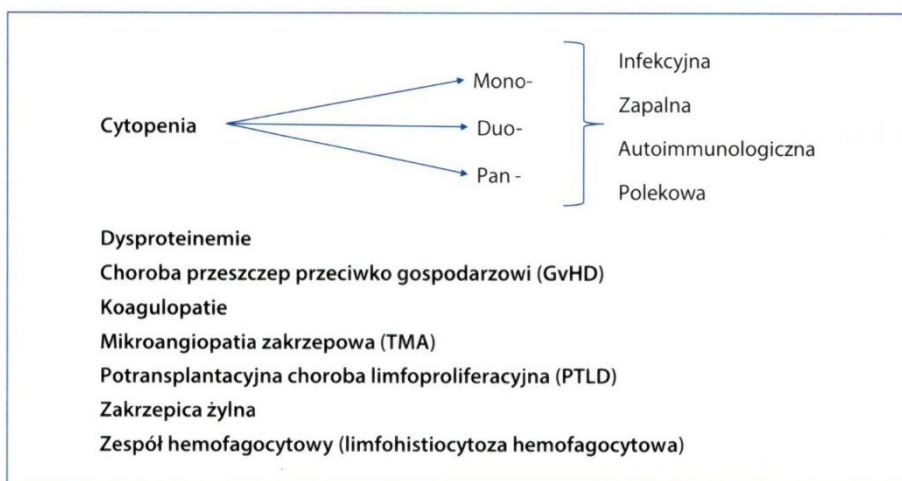
Hematological disorders are an important issue for solid organ transplant (SOT) recipients. This group of patients differs from the general population, exhibiting both an increased frequency of certain diseases – in our case hematological – as well as a broader spectrum of pathologies, which includes some uniquely associated with the use of immunosuppressive treatment and the exposure to foreign tissues. Differential diagnosis of hematological disorders is often challenging due to their non-specific symptoms. Additionally, in many cases, the severe course of the disease, well known high mortality rate, require a swift intervention that usually begun by reducing the immunosuppression.

Herein we will discuss the contemporary views of certain hematological disorders often encountered among SOT recipients such as:

- single- and multilineage cytopenias;
- thrombotic microangiopathies (TMAs);
- graft-versus-host disease (GvHD);
- post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD);
- hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH).

Wstęp

Zaburzenia hematologiczne są istotnym problemem klinicznym wśród biorców przeszczepów narządowych. Ta grupa pacjentów różni się od populacji ogólnej zarówno zwiększonym ryzykiem występowania niektórych jednostek chorobowych – w tym przypadku hematologicznych – oraz szerszym spektrum zaburzeń, które obejmują unikalne patologie związane ze stosowanym leczeniem immunosupresyjnym oraz ekspozycją na antygenowo obce tkanki. Na przykładzie opisu jedno-/wieloliniowych cytopenii, mikroangiopatii zakrzepowej, choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi, potransplantacyjnego zaburzenia limfoproliferacyjnego i limfohistiocytozy hemofagocytowej przedstawiono obecne poglądy na temat zaburzeń hematologicznych występujących wśród biorców przeszczepów narządów.



Ryc. 16.1. Przykładowe zaburzenia hematologiczne występujące wśród biorców przeszczepów narządów

16.1. Cytopenie

Etiologia izolowanych jedno-, jak i wieloliniowych cytopenii, z którymi mamy do czynienia wśród pacjentów po transplantacji narządów (solid organ transplantation, SOT), jest zróżnicowana. Zajmując się pacjentami po SOT, zawsze bierzemy pod uwagę ryzyko działań niepożądanych leków immunosupresyjnych (IS). Najczęściej stosowanymi są inhibitory kalcyneuryny (*calcineurin inhibitors*, CNi), do których należą cyklosporyna A i takrolimus. Mogą one wywoływać niedokrwistość w mechanizmie bezpośredniego supresyjnego wpływu na szpik lub też pośrednio poprzez indukcję mikroangiopatii i zmniejszenie produkcji erytropoetyny w wyniku nefrotoksycznego ich działania. Mykofenolan mofetylu (MMF), będący odwracalnym, niekompetycyjnym inhibitorem dehydrogenazy IMP, hamuje produkcję nukleotydów purynowych i w konsekwencji proliferację – przede wszystkim – limfocytów, czego efektem może być limfopenia, a rzadziej niedokrwistość. Azatiopryna (AZA) jest z kolei prolekiem przekształcanym do analogów purynowych, co – podobnie jak w przypadku MMF – może skutkować mielosupresją.

Innymi lekami mogącymi prowadzić u pacjentów po SOT do cytopenii są preparaty stosowane w profilaktyce i leczeniu zakażeń bakteryjnych, wirusowych lub grzybiczych, np. trimetoprim/sulfametoksazol, antybiotyki β -laktamowe, gancyklowir czy doustny walgancyklowir.

Spośród innych przyczyn cytopenii należy wymienić infekcje wirusami, m.in. parwowirusem B19 (PV B19) oraz wirusami z rodziny *Herpesviridae*, np. wirusem cytomegalii (CMV), wirusem Epsteina-Barr (EBV) oraz HHV-6 i HHV-8.

Parvovirus B19 wykazuje tropizm do komórek linii erytroidalnej i wśród nieimmunokompetentnych pacjentów może wywoływać **niedokrwistość z towarzyszącą retikulocytopenią** oraz zahamowanie dojrzewania na etapie pronormoblasta (proerytroblasta). Infekcję można rozpoznać, oznaczając obecność przeciwciał anti-B19, poziom PV B19 DNA, lub histopatologicznie – uwiadczniając w biopsji szpiku kostnego olbrzymie proerytroblasty, z zaznaczonymi wtrętami wewnątrzjądrowymi oraz wakuolizacjami cytoplazmatycznymi, przy jednoczesnym braku erytroblastów z późniejszych etapów rozwoju. Aplazję linii czerwonych wywołaną PV B19 leczymy, redukując IS, stosując dożylne wlewy immunoglobuliny poliwalentnej (IVIg) i/lub erytropoetynę.

Inną szczególną przyczyną cytopenii jest tzw. **zespół limfocytów pasażerskich**, występujący w przypadku niezgodności w układzie AB0 między dawcą a biorcą, rzadziej w układach Rh, Kidd i Lewis. Jest on następstwem przeszczepienia wraz z narządem limfocytów B pamięci dawcy, które w odpowiedzi na antygeny erytrocytów biorcy produkują przeciwciała, wywołując allohemolizę. **Ryzyko powstania zespołu jest proporcjonalne do objętości tkanki limfatycznej w narządzie przeszczepionym.** Początek jest gwałtowny i zwykle pojawia się między 1. a 3. tygodniem po transplantacji (Tx). W badaniach laboratoryjnych

obserwuje się niedokrwistość, wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH), wzrost stężenia niezwiązanej bilirubiny, spadek stężenia haptoglobiny, dodatni bezpośredni test antyglobulinowy. Choroba jest samoograniczająca, najczęściej ustępuje w ciągu 3 miesięcy. W leczeniu stosuje się przetoczenia składników krwi.

16.2. Mikroangiopatie zakrzepowe

Mikroangiopatie zakrzepowe (*thrombotic microangiopathies*, TMAs), powstające *de novo* u biorców przeszczepów, są rzadkim i potencjalnie śmiertelnym powikłaniem, występującym najczęściej w okresie pierwszych tygodni/miesięcy po Tx. Większość badań opisuje przeżycie pacjentów na poziomie 80% po transplantacji nerki (KTx), około 70% po transplantacji wątroby (LTx), płuc lub jelita oraz 40% wśród biorców serca. Patogeneza TMA w tej populacji łączona jest z działaniem wielu czynników, których punktem wspólnym jest uszkodzenie śródbłonna naczyniowego. Uraz typu niedokrwienie-reperfuzja, będący nieodłącznym elementem transplantacji narządów, może być czynnikiem wyzwalającym, co znajduje potwierdzenie w wyższej częstości występowania i cięższym przebiegu TMA u biorców nerek pochodzących od zmarłych dawców, w porównaniu z biorcami nerek od dawców żywych. Inhibitory kalcyneuryny multimodalnie uszkadzają śródbłonek poprzez:

- obniżenie wazodylatacyjnej aktywności NO i prostacykliny;
- promowanie wazokonstrykcyjnego działania endoteliny, tromboksanu A2 i układu renina–angiotensyna–aldosteron (RAA);
- hamowanie powstawania aktywowanego białka C;
- zwiększenie produkcji i uwalniania multimerów czynnika von Willebranda (vWF).

Inhibitory mTOR obniżają produkcję naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (*vascular endothelial growth factor*, VEGF), zwiększając ryzyko wystąpienia TMA, szczególnie gdy są stosowane w połączeniu z CNi (np. u biorców przeszczepów płuc). Innymi czynnikami wyzwalającymi mogą być: infekcje (np. CMV, wirusem zapaleniem wątroby typu C), ostre odrzucanie (*acute rejection*, AR) lub też zwiększony stosunek vWF/ADAMTS13, który jest szczególnie istotny w przypadku LTx.

Obraz kliniczny może być zróżnicowany, możliwe objawy obejmują m.in. uczucie osłabienia, błądź, żółtaczkę, krwawienie z błon śluzowych, plamicę, skąpomocz, nadciśnienie tętnicze, zaburzenia neurologiczne, zaburzenia przewodzenia oraz ból w obrębie klatki piersiowej lub jamy brzusznej. Najczęściej choroba przebiega skąpoobjawowo, a rozpoznawana jest na podstawie badań laboratoryjnych. Stwierdzenie trombocytopenii oraz nieimmunologicznej niedokrwistości hemolitycznej upoważnia do rozpoznania TMA. Obecność

schistocytów w rozmazie krwi obwodowej nie jest patognomoniczne dla TMA. Wykrywane jest z kilkudniowym opóźnieniem, w związku z czym nie należy uzależniać od tego postawienia rozpoznania i rozpoczęcia leczenia. Ponadto można zaobserwować podwyższone stężenie haptoglobiny, kreatyniny, wzrost aktywności LDH oraz retikulocytozę. W badaniach histopatologicznych obserwuje się charakterystyczne poszerzenia ściany tętniczek i naczyń włosowatych, z obecnością podśródbłonkowych depozytów oraz bogatopłytkowego materiału zakrzepowego w świetle tych naczyń.

Z uwagi na brak jednoznacznych wytycznych dotyczących zapobiegania TMA po SOT, wydaje się, że właściwą strategią jest minimalizowanie potencjalnych czynników ryzyka – należą tu: doskonalenie techniki operacyjnej, kontrola stężeń CNi, prewencja infekcji oraz AR, a w przypadku względnego niedoboru ADAMTS13 – przedłużenie wlewu świeżo mrożonego osocza (FFP) powyżej 1 tygodnia po Tx.

Leczenie polega na odstawieniu inhibitorów mTOR, konwersji z CNi na leki niezwiązane z powstawaniem TMA, tj. kortykosteroidy, MMF, AZA lub cyklofosfamid. W przypadkach, w których konwersja nie jest możliwa, wskazana jest natomiast redukcja dawki stosowanego leku lub zmiana na inny z grupy CNi. Po ustąpieniu TMA można ponownie spróbować wrócić do schematów IS z wykorzystaniem CNi u wszystkich pacjentów po transplantacji, z wyłączeniem biorców serca, wśród których obserwuje się zwiększoną częstość nawrotów choroby. W przeciwieństwie do przypadków TMA występujących w populacji ogólnej, dane nie wskazują na skuteczność stosowania plazmaferezy u pacjentów po Tx, co wynika z nieautoimmunologicznego podłoża choroby w tej grupie chorych.

Poza leczeniem czynników wyzwalających TMA, takich jak AR czy infekcje, należy pamiętać o przetaczaniu koncentratu krwinek czerwonych (KKCz), suplementacji kwasu foliowego oraz heparynie drobnocząsteczkowej, gdy poziom płytek krwi przewyższa 50 000/ μ l. Przetaczanie koncentratu krwinek płytkowych (KKP) jest niewskazane, gdyż może nasilać powstawanie zmian zakrzepowych. Ekulizumab może być stosowany w przypadkach nawrotu atypowego zespołu hemolityczno-mocznicowego po przeszczepieniu.

16.3. Choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi

GvHD (*graft-versus-host disease*) jest rzadkim powikłaniem po SOT. Wynika z proliferacji „przeszczepionych” razem z narządem limfocytów dawcy, które są swoiste wobec antygenów HLA biorcy. Ryzyko wystąpienia GvHD jest zależne od stopnia zgodności antygenów HLA oraz rodzaju graftu i proporcjonalne do liczby obecnych w nim limfocytów. Największe jest przy Tx jelit lub wątroby, mniejsze dla płuc i nerek. Początek choroby zwykle występuje wcześniej po Tx

(mediana 33 dni) i objawia się występowaniem gorączki, wysypki, biegunki, wieloliniowych cytopenii bądź pancytopenii (2–8 tygodni po SOT), czego konsekwencją jest opóźnienie diagnozy GvHD przez przypisanie objawów infekcjom wirusowym lub reakcjom na stosowane leki. Rozpoznanie GvHD opiera się na histopatologicznej ocenie zajętych tkanek i **stwierdzeniu makrochimeryzmu limfocytów we krwi obwodowej, szpiku lub miejscu zmian**. Śmiertelność jest wysoka, bowiem około 100% biorców przeszczepu płuc i 75% biorców wątroby umiera w wyniku niewydolności wielonarządowej lub infekcji w przebiegu aplazji szpiku. Nie istnieją określone – tj. poparte literaturą naukową – procedury leczenia GvHD u pacjentów po SOT. Zwykle wykorzystuje się wysokie dawki steroidów lub redukcję IS.

16.4. Potransplantacyjne zaburzenia limfoproliferacyjne (PTLD)

Biorcy przeszczepów narządowych charakteryzują się zwiększoną zapadalnością na choroby nowotworowe. W zależności od rodzaju przeszczepionego narządu, różna jest częstość występowania poszczególnych nowotworów. Na przykład, w przypadku nowotworów układu białokrwinkowego ryzyko względne oceniane jest przez niektórych badaczy jako nawet 200-krotnie większe niż u immunokompetentnych osób.

Ostatnia edycja WHO z 2016 roku dotycząca klasyfikacji zmian rozrostowych układu limfoidalnego, opisuje PTLD (*post-transplant lymphoproliferative disorder*) jako heterogenną grupę zarówno poliklonalnych, jak i monoklonalnych rozrostów, wyróżniając następujące podtypy: florid follicular hyperplasia (FFH), rozrost plazmocytny (*plasmacytic hyperplasia*, PH), zmiany typu mononukleozy zakaźnej (*infectious mononucleosis*, IM), polimorficzne PTLD, zmiany typu klasycznego chłoniaka Hodgkina oraz monoklonalne PTLD, na które składają się chłoniaki z limfocytów B, limfocytów T i komórek NK (*natural killer*), z wyłączeniem chłoniaków indolentnych.

Śród udowodnionych dotychczas czynników mających wpływ na powstawanie PTLD, wydaje się, że najważniejszą rolę odgrywa rodzaj graftu. Ryzyko względne (RR) jest największe u biorców przeszczepów wielonarządowych oraz biorców fragmentów jelita (239,5), następnie płuc (58,6), trzustki (34,9), wątroby (29,9), serca (27,6), a najniższe u biorców nerek (12,6). Innymi znanymi czynnikami ryzyka są przeszczepienia od EBV-pozytywnego dawcy narządu biorcy EBV-negatywnemu oraz tzw. skumulowana dawka IS.

Pierwotnie, większość przypadków PTLD była łączona z infekcją wirusem EBV. Rozwój choroby u pacjentów EBV+ tłumaczony jest deplecją lub niewytworzeniem cytotoksycznych limfocytów T, reaktywnych wobec antygenów wirusa EBV, i w konsekwencji brakiem kontroli immunologicznej nad

TABELA 16.1. Strategie terapeutyczne w leczeniu PTLD

	ZABIEG CHIRURGICZNY	USUNIĘCIE GUZA/PRZESZCZEPU
USUNIĘCIE NEOPLASTYCZNYCH LIMFOCYTÓW B	PRZECIWCIAŁA MONOKLONALNE	ANTY-CD20Ab (RITUKSYMAB)
	INHIBITORY mTOR	EWEROLIMUS, SYROLIMUS
	CHEMIOTERAPIA	SCHEMAT CHOP
„KONTROLA” EBV	ACYKLOWIR, GANCYKLOWIR	LECZENIE?
		PROFILAKTYKA U BIORCÓW WYSOKIEGO RYZYKA
„PRZYWRÓCENIE” ODPORNOŚCI BIORCY NARZĄDU	IMMUNOTERAPIA ADOPTYWNA?	EBV SPECYFICZNE LIMFOCYTY T-CYTOTOKSYCZNE
	REDUKCJA IMMUNOSUPRESJI	ODSTAWIENIE LEKÓW IMMUNOSUPRESYJNYCH
		REDUKCJA DAWEK CNI, GKS
		ODSTAWIENIE AZA, MMF

AZA – azatiopryna; CNI – inhibitory kalcyneuryny; CTL – cytotoksyczne limfocyty T; EBV – wirus Epsteina-Barr; GKS – kortykosteroidy; MMF – mykofenolan mofetylu. Modyfikacja na podstawie [5].

zainfekowanymi limfocytami B. To z kolei otwiera drogę do ich proliferacji i klonalnej transformacji. Obecne dane wskazują, że nawet 50% przypadków nie ma związku z infekcją EBV oraz że – poza pierwszym rokiem po Tx – występuje drugi szczyt zachorowań przypadający na okres 5–15 lat po transplantacji.

Obraz kliniczny PTLD może być niespecyficzny pod postacią np. pogorszenia funkcji graftu czy występowania objawów z grupy B, tzn. gorączki, utraty masy ciała czy nocnych potów. Zależy też od miejsca lokalizacji zmian. Choroba najczęściej zajmuje węzły chłonne (10–33%), przewód pokarmowy (10–29%) i ośrodkowy układ nerwowy (9–13%). Obserwuje się również tendencję do lokalizacji zmian w narządzie przeszczepionym (w zależności od przeszczepionego narządu). Rozpoznanie PTLD opiera się na badaniu histopatologicznym, którego istotnymi – aczkolwiek niewymagany do postawienia ostatecznego rozpoznania – elementami powinno być oznaczenie obecności antygenu CD20 oraz transkryptów RNA wirusa EBV (EBER). Obecnie uważa się, że potwierdzenie aktywnej wirerii EBV, mimo częstego stosowania w praktyce klinicznej, nie reprezentuje wartości diagnostycznej. W przypadku postaci monoklonalnej

i typu klasycznego chłoniaka Hodgkina, obowiązkowy jest staging choroby, analogiczny do postępowania w chłoniakach występujących u immunokompetentnych pacjentów.

W leczeniu wszystkich podtypów PTLD pierwszym i najważniejszym krokiem jest redukcja IS, która sama w sobie może doprowadzić do wycofania się zmian wczesnych (FFH, PH, IM). W przypadku innych podtypów, z racji agresywniejszego przebiegu, zwykle używa się jej w połączeniu z innymi strategiami terapeutycznymi (Tab. 16.1):

- immunoterapią rituksymabem;
- chemioterapią – najczęściej w schemacie CHOP lub ABVD w przypadku typu klasycznego chłoniaka Hodgkina;
- chirurgicznym wycięciem ograniczonych zmian;
- radioterapią;
- konwersją CNi na inhibitory mTOR.

W opublikowanych w 2017 roku wynikach wieloośrodkowego badania klinicznego PTLID-1, oceniającego odpowiedź na terapię z użyciem rituksymabu, całkowitą remisję uzyskano w 70% przypadków, przy śmiertelności na poziomie 8% i medianą przeżycia wynoszącą 6,6 roku.

16.5. Limfohistiocytoza hemofagocytowa

HLH (hemophagocytic lymphohistiocytosis) jest bardzo rzadkim powikłaniem u pacjentów po SOT, charakteryzującym się wysoką śmiertelnością. Stanowi ona efekt nieprawidłowej odpowiedzi układu immunologicznego, a czynnikami wyzwalającymi mogą być infekcje (np. CMV, EBV, *Mycobacterium tuberculosis*) lub zmiany rozrostowe, np. PTLID. Patofizjologia polega na nadmiernej aktywacji limfocytów, skutkującej uwolnieniem cytokin prozapalnych, takich jak IL-2, prowadzącej do aktywacji makrofagów. Wynikiem tego jest proliferacja makrofagów i hemofagocytoza zachodząca w szpiku, węzłach chłonnych, wątrobie i śledzionie oraz uwalnianie cytokin stymulujących limfocyty T, tworzące pętlę dodatniego sprzężenia zwrotnego. Objawy kliniczne HLH są niespecyficzne i mogą utrudniać diagnozę, a obejmują m.in.: gorączkę, hepatosplenomegalię, limfadenopatię, wysypkę, żółtaczkę lub ogólne wyniszczenie. W badaniach laboratoryjnych obserwuje się pancytopenię, nieprawidłowe wyniki prób wątrobowych, wysokie stężenie rozpuszczalnego receptora IL-2, hipertriglicydemię, hipofibrynogenię, hiperferrytynię. Patognomoniczne, ale niewymagane do postawienia rozpoznania jest stwierdzenie hemofagocytozy w badaniu histopatologicznym. Terapia zwykle oparta jest na leczeniu choroby podstawowej oraz redukcji IS.

Podsumowanie

- Zaburzenia hematologiczne u biorców przeszczepów narządowych są często spotykane w praktyce klinicznej.
- Pamiętając o tym, że niektóre z nich (np. PTLN) cechuje gwałtowny przebieg oraz wysoka śmiertelność, wymaga to od lekarza szybkiej interwencji pod postacią przede wszystkim jak najszybszego rozpoczęcia diagnostyki wraz z redukcją dawek immunosupresji.
- Z powodu niespecyficznych objawów, licznych potencjalnie wywołujących je czynników oraz w wielu przypadkach braku jednoznacznych wytycznych, zaburzenia hematologiczne stanowią wyzwanie diagnostyczne i terapeutyczne.
- **Do zapamiętania: jeśli podejrzewasz PTLN – to najprawdopodobniej już jest.**

PIŚMIENNICTWO:

1. Annelies V., Pirenne J., Dierickx D.: De Novo Thrombotic Microangiopathy after Non-Renal Solid Organ Transplantation. *Blood Rev* 2014; 28: 269–279
2. Daan D., Habermann T.M.: Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorders in Adults. *NEJM* 2018; 378(6): 549–562
3. Dharnidharka V.R.: Comprehensive Review of Post-Organ Transplant Hematologic Cancers. *Am J Transplant* 2018; 18(3): 537–549
4. Hayden A., Park S., Giustini D. et al.: Hemophagocytic Syndromes (HPSs) including Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH) in adults: A systematic scoping review. *Blood Rev* 2016; 30(6): 411–420
5. Mucha K., Foronczewicz B., Ziarkiewicz-Wróblewska B. et al.: Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder in view of the new WHO classification: A more rational approach to a protean disease? *NDT* 2010; 25(7): 2089–2098
6. Neetika G., Rennke H.G., Pavlakis M., Zandi-Nejad K.: De Novo Thrombotic Microangiopathy after Kidney Transplantation. *Transplant Rev* 2018; 32: 58–68
7. Smith E.P.: Hematologic Disorders after Solid Organ Transplantation. *Hematology* 2010; 1: 281–286
8. Trappe R.U., Daan D., Zimmermann H. et al.: Response to Rituximab induction is a predictive marker in B-Cell Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder and allows successful stratification into Rituximab or R-CHOP consolidation in an international, prospective, multicenter Phase II trial. *J Clin Oncol* 2017; 35(5): 536–543
9. Yang Y., Yu B., Chen Y.: Blood Disorders Typically Associated with Renal Transplantation. *Front Cell Dev Biol* 2015; 3: 18.

WŁĄD AUTORSKI:

Projekt opracowania – Krzysztof Mucha
Zebranie danych – Krzysztof Mucha, Rafał Staros
Przygotowanie manuskryptu – Krzysztof Mucha, Rafał Staros

6.2 Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors between Kidney and Liver Transplant Recipients

Cancers 2022

Article

Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors between Kidney and Liver Transplant Recipients

Krzysztof Mucha ^{1,2,*}, Rafał Staros ^{1,†}, Bartosz Foroniewicz ¹, Bogna Ziarkiewicz-Wróblewska ³, Maciej Kosieradzki ⁴, Sławomir Nazarewski ⁵, Beata Naumnik ⁶, Joanna Raszeja-Wyszomirska ⁷, Krzysztof Zieniewicz ⁸ and Leszek Pączek ^{1,2}

- ¹ Department of Immunology, Transplantation and Internal Medicine, Medical University of Warsaw, 02-006 Warsaw, Poland; rafal.staros@gmail.com (R.S.); bartosz.foroniewicz@wum.edu.pl (B.F.); leszek.paczek@wum.edu.pl (L.P.)
 - ² Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences, 02-106 Warsaw, Poland
 - ³ University Clinical Center, Medical University of Warsaw, 02-091 Warsaw, Poland; wroblewska@o2.pl
 - ⁴ Department of General and Transplant Surgery, Medical University of Warsaw, 02-006 Warsaw, Poland; mkosieradzki@wum.edu.pl
 - ⁵ Department of General, Vascular and Transplant Surgery, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; slawomir.nazarewski@wum.edu.pl
 - ⁶ 1st Department of Nephrology and Transplantation with Dialysis Unit, Medical University of Białystok, 15-540 Białystok, Poland; bnaumnik@poczta.onet.pl
 - ⁷ Liver and Internal Medicine Unit, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; jorasz@gmail.com
 - ⁸ Department of General, Transplant and Liver Surgery, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; krzysztof.zieniewicz@wum.edu.pl
- * Correspondence: kmucha@wum.edu.pl or kjmucha@gmail.com
† These authors contributed equally to this work.



Citation: Mucha, K.; Staros, R.; Foroniewicz, B.; Ziarkiewicz-Wróblewska, B.; Kosieradzki, M.; Nazarewski, S.; Naumnik, B.; Raszeja-Wyszomirska, J.; Zieniewicz, K.; Pączek, L. Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors between Kidney and Liver Transplant Recipients. *Cancers* 2022, 14, 1953. <https://doi.org/10.3390/cancers14081953>

Academic Editor: Alessandro Vitale

Received: 19 February 2022

Accepted: 6 April 2022

Published: 13 April 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Simple Summary: Organ graft type is an independent risk factor for the development of PTLT. Due to small cohort sizes caused by the rarity of the disease, most studies and trials are performed on populations of recipients of various organ graft types. Our study is a first direct comparison of the effect of different risk and prognostic factors between kidney and liver transplant recipients (KTRs and LTRs, respectively). We have demonstrated that the analysis of risk factors based on the general solid organ transplant recipient population is inconsistent with the results obtained through the analysis of single organ graft type cohorts. The risk of PTLT is lower in KTRs who are female, <45 years old at transplantation, or treated with cyclosporin. Based upon our findings, we are confident that the type of organ graft is an overriding factor in PTLTs' development and course.

Abstract: Post-transplantation lymphoproliferative disorder (PTLD) is a life-threatening complication of solid organ transplantation (SOT). Its development risk varies among organ graft recipients. In this study, retrospective data were analyzed to compare PTLT's risk and prognostic factors between adult kidney and liver transplant recipients (KTRs and LTRs, respectively). Over 15 years, 2598 KTRs and 1378 LTRs were under observation at our center. Sixteen KTRs (0.62%) and twenty-three LTRs (1.67%) were diagnosed with PTLT. PTLT developed earlier in LTRs ($p < 0.001$), SOT patients > 45 years old ($p = 0.002$), and patients receiving tacrolimus ($p < 0.001$) or not receiving cyclosporin ($p = 0.03$) at diagnosis. Tacrolimus use, male sex, and age > 45 years old significantly affected the time of PTLT onset in KTRs (hazard ratio (HR) = 18.6, 7.9 and 5.2, respectively). Survival was longer in LTRs < 45 years old ($p < 0.009$). LTRs were more likely than KTRs to achieve complete remission ($p = 0.039$). Factors affecting PTLT development and outcome differ between KTRs and LTRs; thus, these populations should be separately evaluated in future studies.

Keywords: kidney transplantation; liver transplantation; post-transplant lymphoproliferative disorder; solid organ transplantation

1. Introduction

Post-transplantation lymphoproliferative disorder (PTLD) was first described as a life-threatening complication of allotransplantation in 1969 by Penn et al. [1] in a series of five kidney graft recipients diagnosed with lymphoma. Currently, it is recognized as a heterogeneous group of lymphoid neoplasms occurring in hematopoietic stem cell and solid organ transplant (SOT) recipients. These groups of patients are at increased risk of carcinogenesis, with standardized incidence ratios nearing 10 for non-Hodgkin lymphoma (NHL) and 4 for classic HL [2]. According to the 2016 revision of the World Health Organization (WHO) classification of lymphoid neoplasms [3], the following histopathological PTLD subtypes are recognized: infectious mononucleosis, plasmacytic hyperplasia, florid follicular hyperplasia, polymorphic, monomorphic (B- and T/natural killer (NK)-cell subtypes with the exclusion of indolent lymphomas), and HL. Previous research has established a clear role of Epstein-Barr virus (EBV) in the development of early-onset PTLD (<12 months after transplantation), especially in pediatric graft recipients. It has been reported that primary EBV infection combined with the effects of T-cell depleting induction and maintenance immunosuppression (IS) can drive malignant B-cell transformation [4]. However, the pathogenesis of PTLD is multifactorial and not entirely understood, as in up to 50% of all cases, the disease is EBV-negative [5], up to 10% of neoplasms stem from T/NK cells [6,7], and another peak of onset is observed at 10–15 years post-transplantation [8,9]. To date, several other risk factors have been proposed or identified based on varying degrees of evidence [10], including the cumulative dose of immunosuppressants (induction, maintenance, and acute rejection treatment), use of certain immunosuppressive agents, primary diseases [11], and viral infections such as cytomegalovirus (CMV), hepatitis B (HBV), and C (HCV) [12–15].

Assembling a large cohort of single type organ graft patients with PTLD is difficult; therefore, most researchers have investigated PTLD in combined populations of different organ graft recipients, and found that the relative risk (RR) of disease development significantly varies according to the type of transplanted organ [16–21]. Multiorgan and intestinal graft recipients have the highest RR (RR = 239.5) in contrast to lung transplant recipients (RR = 58.6), pancreas transplant recipients (RR = 34.9), liver transplant recipients (LTRs) (RR = 29.9), heart transplant recipients (RR = 27.6), and kidney transplant recipients (KTRs) (RR = 12.6) [22].

This study identified the factors contributing to the development, course, response to treatment, and outcomes of PTLD and compared their impact on KTRs and LTRs.

2. Materials and Methods

2.1. Study Participants

This retrospective cohort study included 39 patients diagnosed with PTLD out of 2598 KTRs and 1378 LTRs followed up at our center between 2002 and 2017. The KTR group was defined as KTRs and non-simultaneous KTRs and LTRs who received a kidney graft first. The LTR group was defined analogically. The SOT group consisted of 39 patients (KTRs and LTRs). Both KTRs and LTRs included one non-simultaneous KTR and LTR each. No pediatric patients were included in the study; however, three KTRs and one LTR underwent transplantation at the age of 6–14 years and developed PTLD in adulthood. Identified cases were classified into PTLD subtypes according to the 2016 revision of the WHO classification of lymphoid neoplasms. In PTLD cases confirmed posthumously, the date of first cytological or imaging results suggestive of PTLD was considered the date of PTLD diagnosis. EBV positivity was determined to be either active EBV replication or the presence of latent membrane protein 1 in histopathological samples. The analyzed data were collected from the patients' medical records. This study was approved by The Bioethics Committee of the Medical University of Warsaw, approval No. AKBE/90/2022.

2.2. Statistical Analyses

The statistical differences in clinical characteristics were assessed using the Mann–Whitney U test. The Welch’s *t*-test was performed to compare the mean parameters, and the log-rank test was used to compare Kaplan–Meier estimator curves between groups. Univariate and multivariate analyses of the effects of variables on the PTLT time of onset were calculated using the Cox proportional hazards model and Wald test. Data analyses were performed in R version 3.2.3. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Clinical Characteristics

The clinical characteristics are summarized in Table 1. The prevalence of PTLT was 0.62% (16 patients) and 1.67% (23 patients) in KTRs and LTRs, respectively. The incidence rate of PTLT was 0.8 per 1000 patient-years for KTRs and 2.1 per 1000 patient-years for LTRs. There was no significant difference in sex distribution among the PTLT patients. The median age at first transplantation was 28 years for KTRs (range 6–70 years) and 48 for LTRs (range 12–60).

Table 1. Clinical characteristics.

Patient Characteristics	LTRs	KTRs	<i>p</i> -Value
	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	
Number of patients	23 (100)	16 (100)	
PTLT incidence rate (per 1000 patient-years)	2.1	0.8	
Mean age at Tx (years) [SD]	43.7 (12.0)	36.3 (20.7)	0.21
Males	13 (56.5)	11 (68.8)	0.456
Females	10 (43.5)	5 (31.3)	0.456
KT+LTRs	1 (4.4)	1 (6.3)	1.0
Retransplantation	1 (4.4)	1 (6.3)	1.0
IS Treatment			
Induction			
Anti-CD25	12 (52.2)	3 (18.8)	0.076
ATG	0 (0)	1 (6.3)	0.853
Acute rejection			
Total	8 (34.8)	5 (31.3)	0.329
	1 (4.4) no data	2 (12.5) no data	
GCS treated	8 (34.8)	5 (31.3)	0.984
ATG treated	1 (4.4)	0 (0)	0.456
Maintenance			
Monotherapy	4 (17.4)	0 (0)	0.052
Double drug therapy	12 (52.2)	6 (37.5)	0.381
Triple drug therapy	7 (30.4)	10 (62.5)	0.052
GCS	14 (60.9)	13 (81.3)	0.428
CsA	2 (8.7)	8 (50)	0.004 *
TAC	21 (91.3)	6 (37.5)	<0.001 *
AZA	1 (4.4)	5 (31.3)	0.025 *
MMF	11 (47.8)	10 (62.5)	0.255
Viral Replication			
	LTRs	KTRs	<i>p</i> -Value
EBV DNA	10 (43.2)	10 (62.5)	0.053
	5 (21.7) no data	5 (31.3) no data	
CMV DNA	0 (0)	2 (12.5)	0.093
HBV DNA	2 (8.7)	1 (6.3)	0.805
HCV RNA	5 (21.7)	1 (6.3)	0.201

ATG—anti-thymocyte globulin, AZA—azathioprine, CMV—cytomegalovirus, CsA—cyclosporin, EBV—Epstein–Barr virus, GCS—glucocorticosteroids, HBV—hepatitis B virus, HCV—hepatitis C virus, KT+LTRs—non-simultaneous kidney and liver transplant recipients, KTRs—kidney transplant recipients, LTRs—liver transplant recipients, MMF—mycophenolate mofetil, TAC—tacrolimus (Mann–Whitney U-test for comparison between KTRs and LTRs), * $p < 0.05$.

Antibody induction was used in a total of 16 SOT recipients (41.03%). Anti-cluster of differentiation 25 (CD25) antibodies were administered to 12 of 23 LTRs (52.17%) and 3 of 16 KTRs (18.75%). Anti-thymocyte globulin was used in only one KTR (6.25%). A history of acute rejection was recorded in one-third of patients in both groups. Four LTRs received tacrolimus (TAC) monotherapy as maintenance IS. The remaining patients were either on two- or three-drug regimens composed of glucocorticosteroids, calcineurin inhibitor (cyclosporin (CsA) or TAC), and an anti-proliferative agent (azathioprine (AZA) or mycophenolate mofetil (MMF)). Compared to LTRs, a significantly larger number of KTRs received regimens containing CsA and AZA, whereas TAC-based IS was used in a significantly higher proportion of LTRs than KTRs (Supplement Table S1). No significant differences in viral replication and serological status for CMV, HBV, and HCV were detected. Only a difference in EBV positivity approached statistical significance ($p = 0.053$); however, in 31.25% of KTRs and 21.74% of LTRs, the data regarding EBV were unavailable. PTLT was mostly diagnosed at >12 months after transplantation (late onset), and its type was not significantly different between LTRs and KTRs (Table 2). Data regarding the location and dissemination of PTLT are presented in Supplement Table S2.

Table 2. PTLT characteristics.

PTLT Characteristics	LTRs	KTRs	<i>p</i> -Value
	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	
Focal disease	11 (47.8)	8 (50)	0.908
Disseminated disease	12 (52.2)	8 (50)	0.908
Early onset	5 (21.7)	1 (6.3)	0.16
Late onset	18 (78.3)	15 (93.8)	0.16
Post-mortem diagnosis	3 (13)	0 (0)	0.083
WHO 2016 Type			
Florid follicular hyperplasia	1 (4.4)	0 (0)	0.434
Infectious mononucleosis	0 (0)	1 (6.3)	0.251
Plasmacytic hyperplasia	6 (26.1)	1 (6.3)	0.122
Polymorphic	4 (17.4)	1 (6.3)	0.324
Monomorphic B-cell	11 (47.8)	9 (56.3)	0.182
-DLBCL	9 (39.1)	3 (18.8)	0.168
-HGBL	1 (4.4)	1 (6.3)	0.805
-Lymphomatoid granulomatosis	0 (0)	2 (12.5)	0.164
-Plasmacytic myeloma	0 (0)	1 (6.3)	0.333
-MCL	0 (0)	1 (6.3)	0.333
-Other	1 (4.4)	1 (6.3)	0.805
Monomorphic T-cell	1 (4.4)	3 (18.8)	0.167
Classic Hodgkin lymphoma	0 (0)	1 (6.3)	0.853

Early onset is <12 months after transplantation, late onset is >12 months after transplantation, DLBCL—diffuse large B-cell lymphoma, HGBL—high-grade B-cell lymphoma, KTRs—kidney transplant recipients, LTRs—liver transplant recipients, MCL—mantle cell lymphoma. *p*-values represent the Mann-Whitney U-test comparison between KTRs and LTRs.

3.2. Factors Associated with PTLT Development

Kaplan–Meier estimator curves were plotted and compared using the log-rank test to determine the impact of different variables on the time of PTLT onset. The analyses revealed significantly different dynamics of disease development between KTRs and LTRs, with a mean time to PTLT diagnosis of 118.6 months (9.9 years) and 55.8 months (4.7 years), respectively (Figure 1A). Earlier PTLT development in the SOT population was associated with age at transplantation > 45 years, TAC-based, and non-CsA IS regimens (Figure 1B–D). Subsequent Kaplan–Meier estimator curve analyses for separate KTR and LTR groups showed that the significance of the aforementioned risk factors changed in relation to the type of transplanted organ. Age at transplantation > 45 years retained significance in KTRs, but not in LTRs (Figure 2C,D). TAC-based IS regimens retained significance in both KTRs

and LTRs (Figure 2E,F). Female sex, a factor that was not significant in the SOT group, was significantly associated with later PTLT onset in the KTRs (Figure 2A,B).

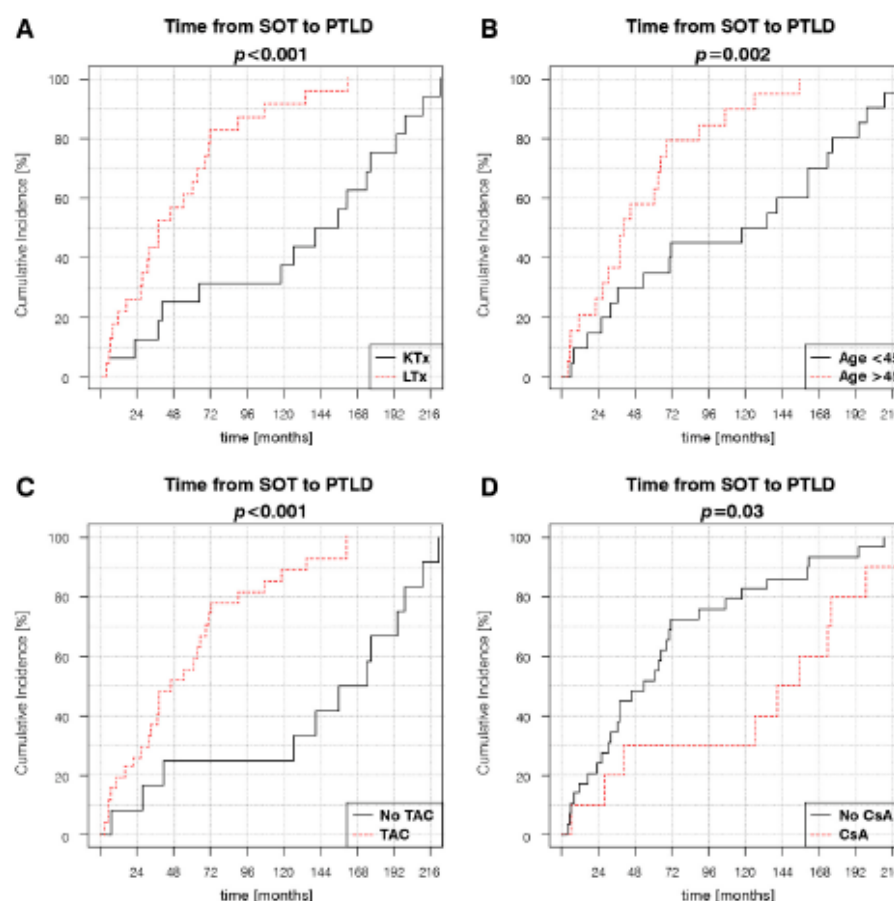


Figure 1. Factors influencing the dynamic of PTLT development in the SOT group: (A) organ type, (B) age at transplantation, (C) use of TAC in the maintenance IS regimen at the time of PTLT diagnosis, and (D) use of cyclosporin in maintenance IS at the time of PTLT diagnosis. p -values represent the log-rank analysis of the Kaplan–Meier estimator curves.

The results obtained through log-rank analyses of the Kaplan–Meier estimator curves were verified using univariate and multivariate Cox proportional hazards models (Table 3). In the SOT group, univariate analyses revealed a significantly increased hazard ratio (HR) of earlier PTLT development in patients older than 45 years at transplantation (HR = 1.03, 95% confidence interval (CI) = 1.01–1.05; $p = 0.006$), patients with TAC-based IS (HR = 5.09, 95% CI = 2.00–12.95; $p < 0.001$), and a decreased HR in patients treated with CsA-based IS regimens (HR = 0.44, 95% CI = 0.20–0.95; $p = 0.036$). In univariate analyses, significant increases in HR were detected in KTRs > 45 years old at transplantation (HR = 1.04, 95% CI = 1.00–1.07; $p = 0.044$), male KTRs (HR = 4.86, 95% CI = 1.03–22.81; $p = 0.045$), and KTRs receiving TAC (HR = 6.25, 95% CI = 1.68–23.21; $p = 0.006$).

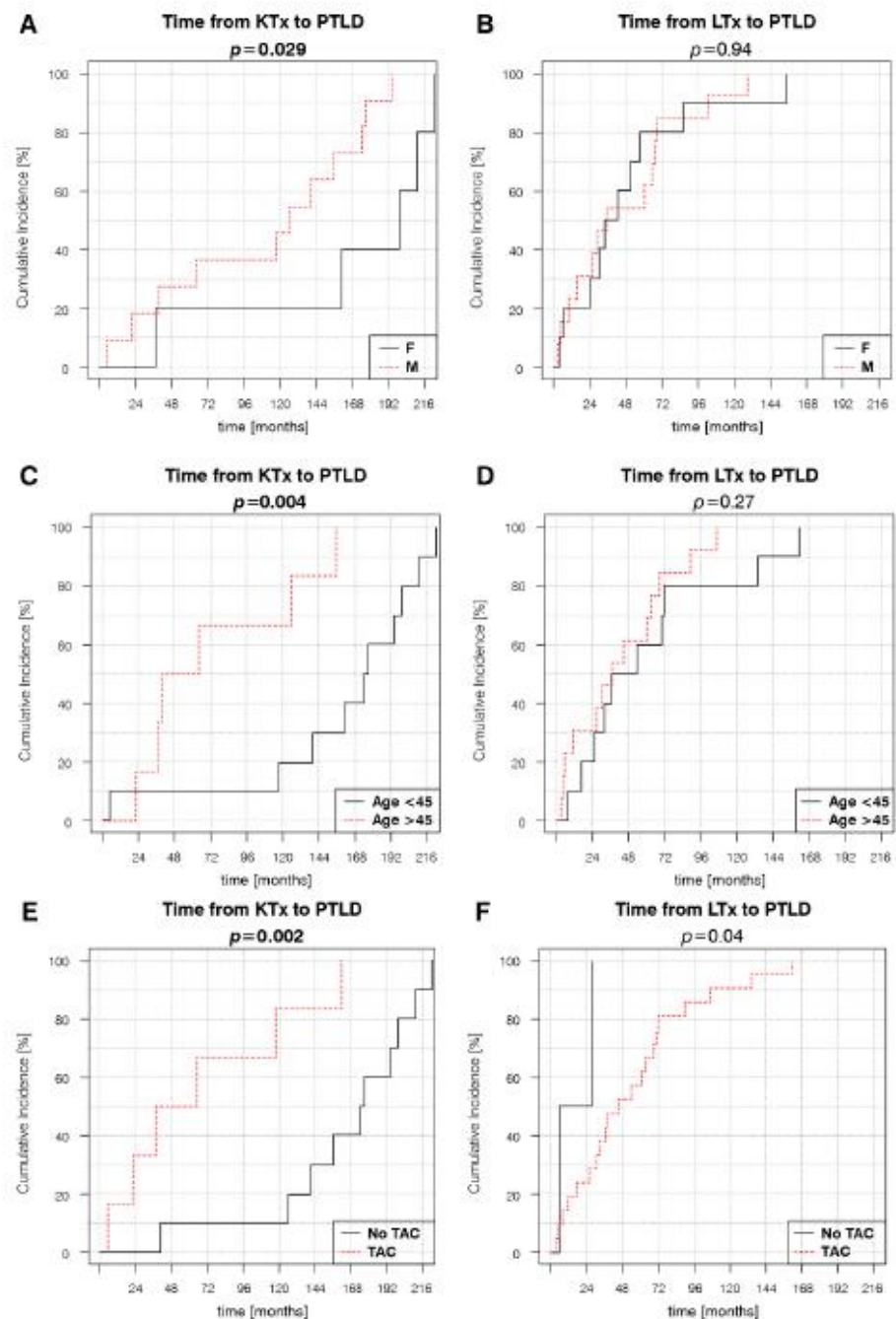


Figure 2. Transplanted organ-dependent effect of different variables on PTLD development: (A) KTR sex, (B) LTR sex, (C) KTR age at transplantation, (D) LTR age at transplantation, (E) Presence of TAC in KTR IS regimens at PTLD diagnosis, (F) Presence of TAC in LTR IS regimens at PTLD diagnosis. p -values represent the log-rank analysis of the Kaplan-Meier estimator curves.

Table 3. Univariate and multivariate Cox proportional hazards models of the effect of variables on the PTLT time of onset.

SOT—Univariate						KTR—Univariate						LTR—Univariate					
Variable	HR	95% CI	p-Value	Variable	HR	95% CI	p-Value	Variable	HR	95% CI	p-Value	Variable	HR	95% CI	p-Value	Variable	p-Value
Male sex	1.49	(0.74–3.02)	0.269	Male sex	4.86	(1.03–22.81)	0.045 *	Male sex	1.03	(0.44–2.44)	0.999	Male sex	1.03	(0.44–2.44)	0.999	Male sex	0.999
Age at Tx > 45 years	1.03	(1.01–1.05)	0.006 *	Age at Tx > 45 years	1.04	(1.00–1.07)	0.044 *	Age at Tx > 45 years	1.02	(0.98–1.05)	0.357	Age at Tx > 45 years	1.02	(0.98–1.05)	0.357	Age at Tx > 45 years	0.357
Retransplantation	0.96	(0.29–3.2)	0.95	Retransplantation	2.46	(0.29–21.12)	0.412	Retransplantation	0.46	(0.1–2.04)	0.306	Retransplantation	0.46	(0.1–2.04)	0.306	Retransplantation	0.306
Monotherapy	2.18	(0.81–5.84)	0.12	Monotherapy	NA	NA	NA	Monotherapy	1.11	(0.41–3.06)	0.835	Monotherapy	1.11	(0.41–3.06)	0.835	Monotherapy	0.835
Double drug therapy	0.88	(0.46–1.67)	0.69	Double drug therapy	0.56	(0.19–1.61)	0.282	Double drug therapy	1.18	(0.51–2.75)	0.695	Double drug therapy	1.18	(0.51–2.75)	0.695	Double drug therapy	0.695
Triple drug therapy	0.97	(0.51–1.86)	0.994	Triple drug therapy	1.79	(0.62–5.14)	0.282	Triple drug therapy	0.91	(0.35–2.26)	0.851	Triple drug therapy	0.91	(0.35–2.26)	0.851	Triple drug therapy	0.851
GCS	0.87	(0.43–1.78)	0.703	GCS	0.68	(0.18–2.59)	0.574	GCS	1.66	(0.7–3.94)	0.247	GCS	1.66	(0.7–3.94)	0.247	GCS	0.247
CsA	0.44	(0.20–0.95)	0.036 *	CsA	0.39	(0.21–1.64)	0.31	CsA	4.55	(0.91–22.8)	0.065	CsA	4.55	(0.91–22.8)	0.065	CsA	0.065
TAC	5.09	(2.00–12.95)	<0.001 *	TAC	6.25	(1.68–23.21)	0.006 *	TAC	0.22	(0.04–1.1)	0.065	TAC	0.22	(0.04–1.1)	0.065	TAC	0.065
AZA	0.68	(0.28–1.64)	0.385	AZA	1.28	(0.42–3.95)	0.664	AZA	0.58	(0.08–4.39)	0.596	AZA	0.58	(0.08–4.39)	0.596	AZA	0.596
MMF	0.78	(0.41–1.5)	0.463	MMF	1.04	(0.36–3.05)	0.956	MMF	0.68	(0.28–1.64)	0.399	MMF	0.68	(0.28–1.64)	0.399	MMF	0.399
ATG induction	0.33	(0.04–2.52)	0.288	ATG induction	0.48	(0.06–3.8)	0.488	ATG induction	NA	NA	NA	ATG induction	NA	NA	NA	ATG induction	NA
Anti-CD25 induction	1.35	(0.69–2.64)	0.376	Anti-CD25 induction	0.74	(0.2–2.67)	0.645	Anti-CD25 induction	1.07	(0.44–2.6)	0.884	Anti-CD25 induction	1.07	(0.44–2.6)	0.884	Anti-CD25 induction	0.884
AR treated with GCS	0.75	(0.37–1.51)	0.413	AR treated with GCS	0.61	(0.18–2.01)	0.413	AR treated with GCS	0.72	(0.3–1.76)	0.476	AR treated with GCS	0.72	(0.3–1.76)	0.476	AR treated with GCS	0.476
AR treated with ATG	1.38	(0.18–10.37)	0.753	AR treated with ATG	NA	NA	NA	AR treated with ATG	0.9	(0.12–6.93)	0.922	AR treated with ATG	0.9	(0.12–6.93)	0.922	AR treated with ATG	0.922
EBV DNA	0.72	(0.31–1.68)	0.447	EBV DNA	0.7	(0.08–6.03)	0.744	EBV DNA	1.66	(0.62–4.43)	0.314	EBV DNA	1.66	(0.62–4.43)	0.314	EBV DNA	0.314
CMV DNA	0.6	(0.14–2.51)	0.482	CMV DNA	1.26	(0.27–5.87)	0.767	CMV DNA	NA	NA	NA	CMV DNA	NA	NA	NA	CMV DNA	NA
HBV DNA	0.86	(0.26–2.89)	0.802	HBV DNA	0.61	(0.08–4.78)	0.638	HBV DNA	1.32	(0.3–5.85)	0.718	HBV DNA	1.32	(0.3–5.85)	0.718	HBV DNA	0.718
HCV RNA	1.08	(0.45–2.61)	0.861	HCV RNA	0.48	(0.06–3.8)	0.488	HCV RNA	0.96	(0.35–2.65)	0.942	HCV RNA	0.96	(0.35–2.65)	0.942	HCV RNA	0.942
SOT—Multivariate						KTR—Multivariate						LTR—Multivariate					
Variable	HR	95% CI	p-Value	Variable	HR	95% CI	p-Value	Variable	HR	95% CI	p-Value	Variable	HR	95% CI	p-Value	Variable	p-Value
LTx	1.75	(0.63–4.88)	0.281	Male sex	7.87	(1.25–49.26)	0.027 *	Male sex	0.872	(0.36–2.13)	0.746	Male sex	0.872	(0.36–2.13)	0.746	Male sex	0.746
Age at Tx > 45 years	3.16	(1.4–7.1)	0.005 *	Age at Tx > 45 years	5.21	(1.04–26.25)	0.045 *	Age at Tx > 45 years	1.61	(0.62–4.21)	0.332	Age at Tx > 45 years	1.61	(0.62–4.21)	0.332	Age at Tx > 45 years	0.332
TAC	5.85	(0.89–38.24)	0.065	TAC	18.57	(2.79–123.87)	0.003 *	TAC	0.24	(0.04–1.35)	0.107	TAC	0.24	(0.04–1.35)	0.107	TAC	0.107
CA	1.91	(0.39–9.31)	0.423														

AR—acute rejection, ATG—anti-thymocyte globulin, AZA—azathioprine, CMV—cytomegalovirus, CsA—cyclosporin, EBV—Epstein-Barr virus, GCS—glucocorticosteroids, HBV—hepatitis B virus, HCV—Hepatitis C virus, KT+LTRs—non-simultaneous kidney and liver transplant recipients, KTRs—kidney transplant recipients, LTRs—liver transplant recipients, LTx—liver transplantation, MMF—mycophenolate mofetil, SOT—solid organ transplantation group, TAC—tacrolimus, Tx—transplantation, Wald test's p-values * $p < 0.05$, NA—not applicable.

In multivariate analyses, only age at transplantation > 45 years remained a significant risk factor for all SOT patients (HR = 3.16, 95% CI = 1.4–7.1; $p = 0.005$). For KTRs, all three factors retained significance: age > 45 years at transplantation (HR = 5.21, 95% CI = 1.04–26.25; $p = 0.045$), male sex (HR = 7.87, 95% CI = 1.25–49.26; $p = 0.027$), and TAC-based IS (HR = 18.57, 95% CI = 2.79–123.87; $p = 0.003$).

3.3. Treatment and Outcomes

Both groups received similar PTLT treatment (Table 4). LTRs were more likely to achieve complete remission (CR) than KTRs, whereas other outcomes did not significantly differ between the groups (Table 5). Kaplan–Meier estimator curve analyses revealed that patient survival was superior in LTRs < 45 years old at transplantation (Figure 3B). In KTRs, age did not significantly affect survival (Figure 3A).

Table 4. PTLT treatment.

PTLT Treatment	LTRs	KTRs	<i>p</i> -Value
	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	
RIS	22 (95.7)	14 (87.5)	0.37
RAPA	9 (39.1)	3 (18.8)	0.186
EVR	0 (0)	1 (6.3)	0.251
Anti-CD20	6 (26.1)	4 (25)	0.955
Chemotherapy	14 (60.9)	11 (68.8)	0.631
-R-CHOP	7 (30.4)	2 (12.5)	0.204
-CHOP	4 (17.4)	2 (12.5)	0.698
-Other	3 (13)	7 (43.8)	0.02 *
Surgery	8 (34.8)	5 (31.3)	0.834
Radiotherapy	0 (0)	2 (12.5)	0.093

Chemotherapy—combined instances R-CHOP, CHOP, and other use, EVR—conversion to everolimus, KTRs—kidney transplant recipients, LTRs—liver transplant recipients, Other—chemotherapy protocols less frequently used in PTLT (e.g., doxorubicin, bleomycin, vinblastine, dacarbazine (ABVD), ifosfamide, carboplatin, etoposide (ICE), cyclophosphamide monotherapy), RAPA—conversion to sirolimus, RIS—reduction of immunosuppression, R-CHOP—anti-CD20 + CHOP. *p*-values represent the Mann-Whitney U-test comparison between KTRs and LTRs. * $p < 0.05$.

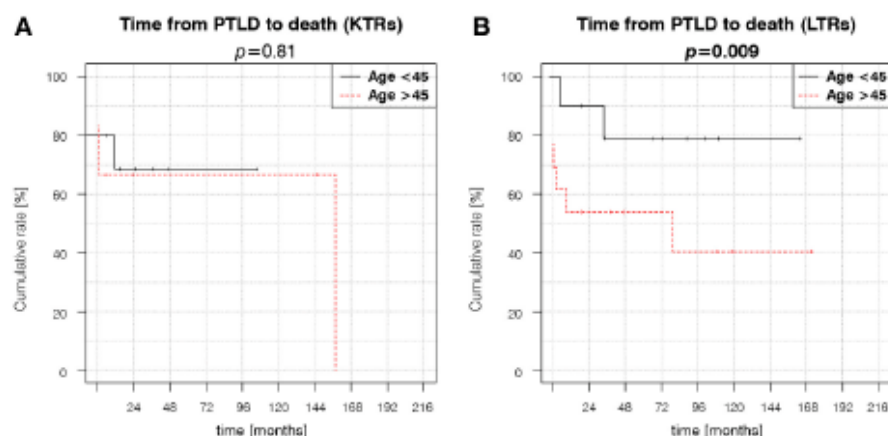


Figure 3. Factors influencing patient survival. (A) KTR age at transplantation, (B) LTR age at transplantation. *p*-values represent the log-rank analysis of the Kaplan–Meier estimator curves.

Table 5. Outcomes.

Outcomes	LTRs	KTRs	p-Value
	n (%)	n (%)	
CR	12 (52.2)	3 (18.8)	0.039 *
Mean CR duration (months) (SD)	73.7 (56.1)	89.7 (61.7)	0.711
Mean survival (months) (SD)	56.1 (53.4)	37.3 (51.9)	0.28
Total deaths	9 (39.1)	6 (37.5)	0.933
PTLD related deaths	5 (21.7)	4 (25)	0.83
Alive	12 (52.2)	9 (56.3)	0.817
Lost to follow up	2 (8.7)	1 (6.3)	0.805

CR—complete remission. KTRs—kidney transplant recipients, LTRs—liver transplant recipients. p-values represent the Mann-Whitney U-test comparison between KTRs and LTRs. * $p < 0.05$.

4. Discussion

We identified the effect of specific IS agents on PTLD development in KTR and LTR populations. Our findings that CsA use or TAC avoidance in KTRs in female patients younger than 45 years are associated with later PTLD onset support the idea of tailored maintenance IS regimens as a risk-reduction strategy. These findings contradict the current consensus that the intensity and cumulative dose of IS, rather than particular maintenance immunosuppressive agents, affect PTLD development and course. Prospective validation of these findings is warranted.

We demonstrated that the significance of risk factors is dependent on the type of transplanted organ. Thus, extrapolation of the impact of PTLD risk factors in combined SOT recipient cohorts onto graft-specific populations may produce inaccurate results. For example, none of the three significant variables affecting the time of PTLD onset in our total SOT cohort retained significance in the LTR subgroup, and only two of three remained significant in the KTR group. Transplanted organ-related differences in the time of PTLD onset were recently reported by Lau et al. [23]. The authors found that the median time from transplantation to diagnosis was 0.49 years for LTRs and 4.0 years for KTRs, whereas, in our study, the mean time to PTLD diagnosis was 4.7 and 9.9 years for LTRs and KTRs, respectively. Such a difference may be attributed to the high proportion of pediatric patients in the cohort of Lau et al., as they require more IS and have a higher incidence of primary EBV infection than adults. Furthermore, a higher PTLD incidence among LTRs compared to KTRs in our cohort is in accordance with previous reports [24].

KTRs > 50 years of age at transplantation have an increased risk of late-onset PTLD (HR = 1.28) [25]. Our results show a marked risk increase (HR = 5.21) at a younger cut-off age of 45 years at kidney transplantation. Additionally, age > 55 years was previously reported to negatively impact the survival of KTRs with PTLD [26], which is not supported by our data in the KTR group. We consider the improved survival of LTRs < 45 years at liver transplantation a novel finding, as most studies analyzing the prognostic factors for LTRs are based on pediatric or mainly pediatric cohorts and describe an inverted age-PTLD association, where adult recipients demonstrate improved survival. In a paper by Fararjeh et al. [27], age was not a significant factor in the survival of adult LTRs.

To date, data on the role of patients' sex in PTLD development in SOT recipients are limited. Moreover, sex analyses are mostly associated with patient survival [28]. The impact of different immunosuppressive agents on the PTLD time of onset and patients' survival has been a subject of debate. Large registry studies have shown contradictory effects of TAC use with PTLD development in KTRs: Bustami et al. reported an increased risk of PTLD in first-time KTRs without antibody induction [29], whereas Francis et al. described a decreased risk of PTLD [30]. Additionally, a combination of MMF and CsA use is associated with a lower PTLD risk in KTRs [31]. Despite the statistical significance of TAC use in later PTLD onset among LTRs, it must be underlined that 21 out of 23 patients in this group received TAC and only 2 received CsA. However, the p-value of this analysis was $p = 0.04$. This observation should be validated on larger cohorts of LTRs taking TAC or

CsA. Additionally, the significantly higher number of patients treated with TAC in the LTR group, who tend to develop PTLD earlier than KTRs in our cohort, might have affected the Kaplan–Meier estimator curve analysis of the effect of TAC on the time to PTLD diagnosis in the SOT group. We consider this as a possible limitation of this analysis.

The outcomes of PTLD treatment, particularly the 54% patient survival and the lack of a clear, statistically significant advantage of any treatment modality at this sample size, may be a result of the inclusion of patients treated before the rituximab era and of the high percentage of monomorphic T-cell PTLD cases. Initial reduction in IS treatment (RIS) was performed in 36 of 39 patients in our study and is concurrent with reports of withdrawal or reduction in AZA, MMF, or CN1 or even temporary cessation of maintenance IS during chemotherapy [32]. However, the clinical outcome of RIS is highly variable and depends on the type and lineage of PTLD [33]. Contemporary treatment strategies yield higher efficacy, as confirmed by the results of the PTLD-1 prospective, international, multicenter phase II clinical trial. In that study, 88% of B-cell derived PTLD patients demonstrated a complete or partial response to rituximab induction, followed by rituximab monotherapy or an immunochemotherapy consolidation regimen consisting of rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) [34]. The higher frequency of CR in the LTR than in KTR group in our study may be due to a relatively high number of non-diffuse large B-cell lymphoma monomorphic B-cell PTLD (e.g., lymphomatoid granulomatosis, plasmacytic myeloma) and monomorphic T-cell PTLD among KTRs. The observed higher rate of T-cell PTLD in KTRs is in accordance with previous studies—in their meta-analysis of 9 local and 147 reported cases of T-cell PTLD, Herremans and Dierckx found that this subtype of PTLD is most frequent in KTRs, who constituted 63% of all cases [35]. Although statistically insignificant, the higher number of PH PTLD patients in LTRs may reflect the shorter time to PTLD development in this group and lower intensity of IS treatment.

Recently, evidence emerged that the epidemiology of PTLD is evolving, and with current antiviral prophylaxis and stricter donor matching for EBV-seronegative recipients, there is an observable trend towards an increase in late-onset, EBV-negative PTLD [36–39]. Conversely, the field of oncological and immunological research in the immunocompromised population is expanding, as novel clinicopathological entities such as EBV-positive mucocutaneous ulcer [40] are still being discovered, and new modes of therapy are being proposed. Regarding PTLD patients, the most promising results are from studies investigating adoptive immunotherapy such as EBV-specific cytotoxic T cells [41] and chimeric antigen receptor T cells [42,43]. Both treatments can provide a sustained anti-PTLD response by T-cell engraftment, reducing the risk of disease relapse and serving as an end of the line intervention for rituximab or R-CHOP non-responders [44,45]. Recently, various NK-cell therapies have been suggested as possible PTLD treatment based on studies conducted on immunocompetent non-Hodgkin lymphoma patients [46]. In our study, no significant differences in the viral DNA and serological status for EBV were detected.

To the best of our understanding, this study had two main limitations. First, the sample size was relatively small, leading to wide CIs in the multivariate analyses. Second, the data regarding EBV status were missing in one-quarter of the patients, resulting in a nearly significant discrepancy in KTR and LTR group composition. However, the major advantages of our study were the 15-year follow-up period of a large cohort of 3976 SOT recipients and homogenous post-transplant medical care.

5. Conclusions

In summary, CsA use in female KTRs < 45 years at transplantation postpones PTLD development. Despite the cohort size, multivariate analyses supported this claim, as statistically significant changes in HR were found for these variables. The data suggest that graft type might be an overriding risk determinant, as the dynamics of PTLD onset and the impact of multiple other risk and prognostic factors significantly differ in relation to the type of transplanted organ. Further analyses are necessary to identify subsets of patients

who might benefit from specific maintenance treatment modalities. Such an approach seems invaluable to achieve tailored diagnostic tools and treatment modalities for SOT recipients.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/cancers14081953/s1>, Table S1: History of immunosuppressive treatment in our cohort of PTLD patients; Table S2: PTLD location and dissemination in the SOT group ($n = 39$).

Author Contributions: Conceptualization: K.M., R.S.; methodology: K.M., R.S.; data curation: K.M., R.S., B.F., B.Z.-W., M.K., S.N., B.N., J.R.-W., K.Z. and L.P.; writing—original draft preparation: R.S.; writing—review and editing: K.M., R.S., B.F. and L.P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The Institutional Review Board/Bioethics Committee was informed that the data have been collected and analyzed for the purposes of this study and that the results were submitted for publication. The IRB/BC No. AKBE/90/2022.

Informed Consent Statement: Patient consent was waived due to the retrospective nature of data collected from existing medical documentation.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available upon request by the authors.

Acknowledgments: We would like to thank Magdalena Zielenkiewicz from the Faculty of Mathematics, Informatics and Mechanics, University of Warsaw for her valuable suggestions and support for the development of the study and revision of the manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Penn, I.; Hammond, W.; Bretschneider, L.; Starzl, T.E. Malignant lymphomas in transplantation patients. *Transplant. Proc.* **1969**, *1*, 106–112.
2. Grulich, A.E.; Van Leeuwen, M.T.; Falster, M.O.; Vajdic, C.M. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: A meta-analysis. *Lancet* **2007**, *370*, 59–67. [\[CrossRef\]](#)
3. Swerdlow, S.H.; Campo, E.; Pileri, S.A.; Harris, N.L.; Stein, H.; Siebert, R.; Advani, R.; Ghielmini, M.; Salles, G.A.; Zelenetz, A.D.; et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* **2016**, *127*, 2375–2390. [\[CrossRef\]](#)
4. Mynarek, M.; Schober, T.; Behrends, U.; Maecker-Kolhoff, B. Posttransplant lymphoproliferative disease after pediatric solid organ transplantation. *Clin. Dev. Immunol.* **2013**, *2013*, 814973. [\[CrossRef\]](#)
5. Luskin, M.R.; Heil, D.S.; Tan, K.S.; Choi, S.; Stadtmayer, E.A.; Schuster, S.J.; Porter, D.L.; Vonderheide, R.H.; Bagg, A.; Heitjan, D.F.; et al. The Impact of EBV Status on Characteristics and Outcomes of Posttransplantation Lymphoproliferative Disorder. *Am. J. Transplant.* **2015**, *15*, 2665–2673. [\[CrossRef\]](#)
6. Al-Mansour, Z.; Nelson, B.P.; Evens, A.M. Post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD): Risk factors, diagnosis, and current treatment strategies. *Curr. Hematol. Malig. Rep.* **2013**, *8*, 173–183. [\[CrossRef\]](#)
7. Fang, Y.; Pinkney, K.A.; Lee, J.C.; Gindin, T.; Weiner, M.A.; Alobeid, B.; Bhagat, G. T-cell acute lymphoblastic leukaemia after liver transplantation: Post-transplant lymphoproliferative disorder or coincidental de novo leukaemia? *Hematol. Oncol.* **2013**, *31*, 49–53. [\[CrossRef\]](#)
8. Le, J.; Durand, C.M.; Agha, I.; Brennan, D.C. Epstein-Barr virus and renal transplantation. *Transplant. Rev.* **2017**, *31*, 55–60. [\[CrossRef\]](#)
9. Morton, M.; Coupes, B.; Roberts, S.A.; Klapper, P.E.; Byers, R.J.; Vallely, P.J.; Ryan, K.; Picton, M.L. Epidemiology of posttransplantation lymphoproliferative disorder in adult renal transplant recipients. *Transplantation* **2013**, *95*, 470–478. [\[CrossRef\]](#)
10. Dharnidharka, V.R. Comprehensive review of post-organ transplant hematologic cancers. *Am. J. Transplant.* **2018**, *18*, 537–549. [\[CrossRef\]](#)
11. Abu-Shanab, A.; Ged, Y.; Ullah, N.; Houlihan, D.; McCormick, A. Increased Incidence of Post-transplant Lymphoproliferative Disorder in Autoimmune Liver Disease: An Irish National Experience. *J. Clin. Exp. Hepatol.* **2018**, *8*, 42–49. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Yu, F.; Huang, Y.; Wang, Y.; Yu, Z.; Li, X.; Dong, J. Very late onset post-transplant diffuse large B cell lymphoma in a liver transplant recipient with hepatitis B: A case report. *Medicine* **2018**, *97*, e13063. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Kinch, A.; Baecklund, E.; Backlin, C.; Ekman, T.; Molin, D.; Tufveson, G.; Fernberg, P.; Sundström, C.; Pauksens, K.; Enblad, G. A population-based study of 135 lymphomas after solid organ transplantation: The role of Epstein-Barr virus, hepatitis C and diffuse large B-cell lymphoma subtype in clinical presentation and survival. *Acta Oncol.* **2014**, *53*, 669–679. [\[CrossRef\]](#)

14. Burra, P.; Buda, A.; Livi, U.; Rigotti, P.; Zanusi, G.; Calabrese, F.; Caforio, A.; Menin, C.; Canova, D.; Farinati, F.; et al. Occurrence of post-transplant lymphoproliferative disorders among over thousand adult recipients: Any role for hepatitis C infection? *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2006**, *18*, 1065–1070. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Mihaila, R.G. Hepatitis C virus-associated B cell non-Hodgkin's lymphoma. *World J. Gastroenterol.* **2016**, *22*, 6214–6223. [\[CrossRef\]](#)
16. Karuturi, M.; Shah, N.; Frank, D.; Fasan, O.; Reshef, R.; Ahya, V.N.; Bromberg, M.; Faust, T.; Goral, S.; Schuster, S.J.; et al. Plasmacytic post-transplant lymphoproliferative disorder: A case series of nine patients. *Transpl. Int.* **2013**, *26*, 616–622. [\[CrossRef\]](#)
17. Bishnoi, R.; Bajwa, R.; Franke, A.J.; Skelton, W.P., 4th; Wang, Y.; Patel, N.M.; Slayton, W.B.; Zou, F.; Dang, N.H. Post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD): Single institutional experience of 141 patients. *Exp. Hematol. Oncol.* **2017**, *6*, 26. [\[CrossRef\]](#)
18. Reshef, R.; Vardhanabhuti, S.; Luskin, M.R.; Heitjan, D.F.; Hadjiladis, D.; Goral, S.; Krok, K.L.; Goldberg, L.R.; Porter, D.L.; Stadtmauer, E.A.; et al. Reduction of immunosuppression as initial therapy for posttransplantation lymphoproliferative disorder. *Am. J. Transplant.* **2011**, *11*, 336–347. [\[CrossRef\]](#)
19. Yoon, S.O.; Yu, E.; Cho, Y.M.; Suh, C.; Kim, K.M.; Han, D.J.; Lee, S.G.; Huh, J. Post-transplant lymphoproliferative disorders: Clinicopathological analysis of 43 cases in a single center, 1990–2009. *Clin. Transplant.* **2012**, *26*, 67–73. [\[CrossRef\]](#)
20. Martinez-Calle, N.; Alfonso, A.; Rifon, J.; Herrero, I.; Errasti, P.; Rábago, G.; Merino, J.; Panizo, Á.; Pardo, J.; Prósper, F.; et al. First-line use of rituximab correlates with increased overall survival in late post-transplant lymphoproliferative disorders: Retrospective, single-centre study. *Eur. J. Haematol.* **2017**, *98*, 38–43. [\[CrossRef\]](#)
21. Montanari, F.; Radeski, D.; Seshan, V.; Alobeid, B.; Bhagat, G.; O'Connor, O.A. Recursive partitioning analysis of prognostic factors in post-transplant lymphoproliferative disorders (PTLD): A 120 case single institution series. *Br. J. Haematol.* **2015**, *171*, 491–500. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Dierickx, D.; Habermann, T.M. Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorders in Adults. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378*, 549–562. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Lau, E.; Moyers, J.T.; Wang, B.C.; Jeong, I.S.D.; Lee, J.; Liu, L.; Kim, M.; Villicana, R.; Kim, B.; Mitchell, J.; et al. Analysis of Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder (PTLD) Outcomes with Epstein-Barr Virus (EBV) Assessments—A Single Tertiary Referral Center Experience and Review of Literature. *Cancers* **2021**, *13*, 899. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Abbas, F.; El Kossi, M.; Shaheen, I.S.; Sharma, A.; Halawa, A. Post-transplantation lymphoproliferative disorders: Current concepts and future therapeutic approaches. *World J. Transplant.* **2020**, *10*, 29–46. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Quinlan, S.C.; Pfeiffer, R.M.; Morton, L.M.; Engels, E.A. Risk factors for early-onset and late-onset post-transplant lymphoproliferative disorder in kidney recipients in the United States. *Am. J. Hematol.* **2011**, *86*, 206–209. [\[CrossRef\]](#)
26. Caillard, S.; Porcher, R.; Provot, F.; Dantal, J.; Choquet, S.; Durrbach, A.; Morelon, E.; Moal, V.; Janbon, B.; Alamartine, E.; et al. Post-transplantation lymphoproliferative disorder after kidney transplantation: Report of a nationwide French registry and the development of a new prognostic score. *J. Clin. Oncol.* **2013**, *31*, 1302–1309. [\[CrossRef\]](#)
27. Fararjeh, F.A.; Mahmood, S.; Tachtatzis, P.; Yallop, D.; Devereux, S.; Patten, P.; Agrawal, K.; Suddle, A.; O'Grady, J.; Heaton, N.; et al. A retrospective analysis of post-transplant lymphoproliferative disorder following liver transplantation. *Eur. J. Haematol.* **2018**, *100*, 98–103. [\[CrossRef\]](#)
28. Bishnoi, R.; Minish, J.; Franke, A.J.; Skelton, W.P., 4th; Shah, C.P.; Wang, Y.; Dang, N.H. Single-institution Retrospective Analysis of Prognostic Factors Influencing Very Late-onset Post-transplant Lymphoproliferative Disorder. *Cureus* **2020**, *12*, e6912. [\[CrossRef\]](#)
29. Bustami, R.T.; Ojo, A.O.; Wolfe, R.A.; Merion, R.M.; Bennett, W.M.; McDiarmid, S.V.; Leichtman, A.B.; Held, P.J.; Port, F.K. Immunosuppression and the risk of post-transplant malignancy among cadaveric first kidney transplant recipients. *Am. J. Transplant.* **2004**, *4*, 87–93. [\[CrossRef\]](#)
30. Francis, A.; Johnson, D.W.; Teixeira-Pinto, A.; Craig, J.C.; Wong, G. Incidence and predictors of post-transplant lymphoproliferative disease after kidney transplantation during adulthood and childhood: A registry study. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2018**, *33*, 881–889. [\[CrossRef\]](#)
31. Sampaio, M.S.; Cho, Y.W.; Shah, T.; Bunnapradist, S.; Hutchinson, I.V. Association of immunosuppressive maintenance regimens with posttransplant lymphoproliferative disorder in kidney transplant recipients. *Transplantation* **2012**, *93*, 73–81. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Taylor, E.; Jones, M.; Hourigan, M.J.; Johnson, D.W.; Gill, D.S.; Isabel, N.; Hawley, C.M.; Marlton, P.; Gandhi, M.K.; Campbell, S.B.; et al. Cessation of immunosuppression during chemotherapy for post-transplant lymphoproliferative disorders in renal transplant patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2015**, *30*, 1774–1779. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Mucha, K.; Foronczewicz, B.; Ziarkiewicz-Wróblewska, B.; Krawczyk, M.; Lerut, J.; Paczek, L. Post-transplant lymphoproliferative disorder in view of the new WHO classification: A more rational approach to a protean disease? *Nephrol. Dial. Transplant.* **2010**, *25*, 2089–2098. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Trappe, R.U.; Dierickx, D.; Zimmermann, H.; Morschhauser, F.; Mollee, P.; Zaucha, J.M.; Dreyling, M.H.; Dührsen, U.; Reinke, P.; Verhoef, G.; et al. Response to Rituximab Induction Is a Predictive Marker in B-Cell Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder and Allows Successful Stratification into Rituximab or R-CHOP Consolidation in an International, Prospective, Multicenter Phase II Trial. *J. Clin. Oncol.* **2017**, *35*, 536–543. [\[CrossRef\]](#)
35. Herremans, A.; Dierickx, D.; Morscio, J.; Camps, J.; Bittoun, E.; Verhoef, G.; De Wolf-Peters, C.; Sagaert, X.; Tousseyn, T. Clinicopathological characteristics of posttransplant lymphoproliferative disorders of T-cell origin: Single-center series of nine cases and meta-analysis of 147 reported cases. *Leuk. Lymphoma* **2013**, *54*, 2190–2199. [\[CrossRef\]](#)

36. Tsai, D.E.; Bagley, S.; Reshef, R.; Shaked, A.; Bloom, R.D.; Ahya, V.; Goldberg, L.; Chung, A.; Debonera, F.; Schuster, S.J.; et al. The changing face of adult posttransplant lymphoproliferative disorder: Changes in histology between 1999 and 2013. *Am. J. Hematol.* **2018**, *93*, 874–881. [\[CrossRef\]](#)
37. Peters, A.C.; Akinwumi, M.S.; Cervera, C.; Mabilangan, C.; Ghosh, S.; Lai, R.; Iafoila, M.; Doucette, K.; Preiksaitis, J.K. The Changing Epidemiology of Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Adult Solid Organ Transplant Recipients Over 30 Years: A Single-center Experience. *Transplantation* **2018**, *102*, 1553–1562. [\[CrossRef\]](#)
38. Gwon, J.G.; Kim, Y.H.; Han, D.J. Different causes of early and late-onset post transplant lymphoproliferative disorder in kidney transplantation patients after 2000. *Asian J. Surg.* **2019**, *42*, 551–556. [\[CrossRef\]](#)
39. Ville, S.; Imbert-Marcille, B.M.; Coste-Burel, M.; Garandeau, C.; Meurette, A.; Cantarovitch, D.; Giral, M.; Hourmant, M.; Blanche, G.; Dantal, J. Impact of antiviral prophylaxis in adults Epstein-Barr Virus-seronegative kidney recipients on early and late post-transplantation lymphoproliferative disorder onset: A retrospective cohort study. *Transpl. Int.* **2018**, *31*, 484–494. [\[CrossRef\]](#)
40. Roberts, T.K.; Chen, X.; Liao, J.J. Diagnostic and therapeutic challenges of EBV-positive mucocutaneous ulcer: A case report and systematic review of the literature. *Exp. Hematol. Oncol.* **2015**, *5*, 13. [\[CrossRef\]](#)
41. Bieling, M.; Tischer, S.; Kalinke, U.; Blasczyk, R.; Buus, S.; Maecker-Kolhoff, B.; Eiz-Vesper, B. Personalized adoptive immunotherapy for patients with EBV-associated tumors and complications: Evaluation of novel naturally processed and presented EBV-derived T-cell epitopes. *Oncotarget* **2018**, *9*, 4737–4757. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Ghobadi, A. Chimeric antigen receptor T cell therapy for non-Hodgkin lymphoma. *Curr. Res. Transl. Med.* **2018**, *66*, 43–49. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Skorka, K.; Ostapinska, K.; Malesa, A.; Giannopoulos, K. The Application of CAR-T Cells in Haematological Malignancies. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **2020**, *68*, 34. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Prockop, S.; Doubrovina, E.; Suser, S.; Heller, G.; Barker, J.; Dahi, P.; Perales, M.A.; Papadopoulos, E.; Sauter, C.; Castro-Malaspina, H.; et al. Off-the-shelf EBV-specific T cell immunotherapy for rituximab-refractory EBV-associated lymphoma following transplant. *J. Clin. Investig.* **2019**, *130*, 733–747. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Schuster, S.J.; Svoboda, J.; Chong, E.A.; Nasta, S.D.; Mato, A.R.; Anak, Ö.; Brogdon, J.L.; Pruteanu-Malinici, I.; Bhoj, V.; Landsburg, D.; et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Lymphomas. *N. Engl. J. Med.* **2017**, *377*, 2545–2554. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Nakid-Cordero, C.; Baron, M.; Guihot, A.; Vieillard, V. Natural Killer Cells in Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders. *Cancers* **2021**, *13*, 1836. [\[CrossRef\]](#)

**6.3 Does the Organ Matter in PTL Development in Solid Organ
Transplant Recipients A Multicenter Observational Study of Risk and
Prognostic Factors**

Cancers 2025

Article

Does the Organ Matter in PTLT Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors

Rafał Staros ¹, Bartosz Foroniewicz ¹, Dorota Kamińska ², Dominika Dęborska-Matekowska ¹, Sławomir Lizakowski ³, Izabela Zakrocka ⁴, Joanna Raszeja-Wyszomirska ⁵, Anita Stanjek-Cichoracka ⁶, Anna Pawłowska ⁷, Emilia Kniola ¹, Paweł Poznański ², Jolanta Gozdowska ¹, Alicja Dębska-Ślizień ³, Wojciech Zaluska ⁴, Marek Ochman ⁸, Agnieszka Kołkowska-Leśniak ⁹, Michał Grąt ¹⁰, Tomasz Stompór ⁷, Magdalena Durlik ¹, Radosław Zagożdżon ¹¹, Zbigniew Gałazka ¹², Maciej Kosieradzki ¹³, Krzysztof Zieniewicz ¹⁰, Leszek Pączek ^{14,15} and Krzysztof Mucha ^{1,15,*}

- ¹ Department of Transplantology, Immunology, Nephrology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, 02-006 Warsaw, Poland
 - ² Division of Nephrology, Transplantology, and Clinical Immunology at the 4th Military Clinical Hospital, Faculty of Medicine, Wrocław University of Science and Technology, 53-114 Wrocław, Poland
 - ³ Department of Nephrology, Transplantology and Internal Medicine, Medical University of Gdańsk, 80-210 Gdańsk, Poland
 - ⁴ Department of Nephrology, Medical University of Lublin, 20-090 Lublin, Poland
 - ⁵ Department of Hepatology, Transplantology and Internal Medicine, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland
 - ⁶ Department of Biophysics, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec, Medical University of Silesia in Katowice, 41-200 Sosnowiec, Poland
 - ⁷ Department of Nephrology, Hypertension and Internal Medicine, School of Medicine, Collegium Medicum, University of Warmia and Mazury, 10-561 Olsztyn, Poland
 - ⁸ Department of Cardiac, Vascular and Endovascular Surgery and Transplantology, Medical University of Silesia, Silesian Centre for Heart Diseases, 41-800 Zabrze, Poland
 - ⁹ Department of Hematology, Institute of Hematology and Transfusion Medicine, 00-791 Warsaw, Poland
 - ¹⁰ Department of General, Transplant and Liver Surgery, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland
 - ¹¹ Laboratory of Cellular and Genetic Therapies, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland
 - ¹² Department of General, Vascular, Endocrine & Transplant Surgery, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland
 - ¹³ Department of General and Transplantation Surgery, Medical University of Warsaw, 02-006 Warsaw, Poland
 - ¹⁴ Department of Clinical Immunology, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland
 - ¹⁵ Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences, 02-106 Warsaw, Poland
- * Correspondence: krzysztof.mucha@wum.edu.pl or kjmuch@gmail.com



Academic Editor: Georgios Tsoulfas

Received: 3 April 2025

Revised: 11 May 2025

Accepted: 22 May 2025

Published: 25 May 2025

Citation: Staros, R.; Foroniewicz, B.; Kamińska, D.; Dęborska-Matekowska, D.; Lizakowski, S.; Zakrocka, I.; Raszeja-Wyszomirska, J.; Stanjek-Cichoracka, A.; Pawłowska, A.; Kniola, E.; et al. Does the Organ Matter in PTLT Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors. *Cancers* **2025**, *17*, 1770. <https://doi.org/10.3390/cancers17111770>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Simple Summary: Post-transplantation lymphoproliferative disorder is considered one of the most life-threatening complications of solid organ transplantation (SOT). Evidence suggests that PTLT risk is influenced by organ graft type. Since only a limited population is at risk of PTLT, the majority of research has been based on either small cohorts of single graft-type recipients or larger cohorts of multiple types of SOT recipients. The conclusions from such studies may not be sufficiently generalizable or may miss organ-specific risk and prognostic factors. To address these limitations, we created a multicenter registry that included 103 PTLT patients diagnosed out of 9432 kidney, 3500 liver, and 331 lung transplant recipients. We used this registry to analyze various risk and prognostic factors according to organ graft types. We found that the constellation of factors affecting the time of PTLT onset and patient survival differs between kidney and liver transplant recipients.

Abstract: Background/Objectives: The risk of post-transplantation lymphoproliferative disorder (PTLT) varies according to the type of transplanted organ. To investigate the factors contributing to PTLT development and treatment outcomes, we established a multicenter registry that included patients diagnosed with PTLT within a population of

13,263 kidney, liver, and lung transplant recipients (KTRs, LTRs, and LngTRs, respectively), observed in a period between 2000 and 2023. Methods: The chi-squared test was used to analyze differences in group composition. Univariate and multivariate Cox regression were applied to determine the impact of factors upon PTLD onset and patient survival. Results: Our registry included 58 out of 9432 KTRs, 40 out of 3500 LTRs, and 5 out of 331 LngTRs. The median time to PTLD onset was significantly longer among KTRs (117 months post-transplant) than among LTRs (49 months, $p < 0.001$) and LngTRs (5 months, $p < 0.001$). LTRs treated with tacrolimus developed PTLD later compared to LTRs treated with cyclosporin ($p = 0.042$). In multivariate analysis, older age at first transplantation correlated with earlier disease development in SOTRs (HR = 1.03, $p = 0.006$) and KTRs (HR = 1.04, $p = 0.003$). Older age at first transplantation was also associated with worse survival among KTRs ($p = 0.045$). Conclusions: We identified clear differences in the factors affecting PTLD onset and survival between KTRs and LTRs. Organ-specific analyses are needed to improve our understanding of PTLD risk factors, treatment choices, and clinical outcomes.

Keywords: post-transplantation lymphoproliferative disorder; lymphoma; kidney transplantation; liver transplantation; lung transplantation

1. Introduction

Since Penn et al. first described a series of malignant lymphoma cases among kidney transplant recipients, it has become increasingly apparent that lymphoid neoplasms pose a non-negligible threat to allograft recipients [1]. Additional reported cases, including some that are polyclonal, have led to the recognition of post-transplantation lymphoproliferative disorder (PTLD) as a new disease entity. In the 2022 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms, PTLD is defined as lymphoid proliferations and lymphomas arising in the setting of immune deficiency/dysregulation [2]. Immunodeficiency—or more specifically immunosuppression—in the setting of organ transplant reportedly increases the risk of non-Hodgkin and Hodgkin lymphoma by 10-fold and 4-fold, respectively, among organ graft recipients compared to the general population [3].

The most well-established explanation of PTLD pathogenesis involves Epstein–Barr virus (EBV) replication in an allograft recipient, where suppressed and/or depleted T-cells cannot contain the virus-driven B-cell proliferation and oncogenesis. This scenario accounts for the majority of early-onset cases (<12 months post-transplantation) [4] and is most frequent in pediatric graft recipients who carry the highest risk of a primary EBV infection [5]. PTLD shows a second incidence peak at approximately 10–15 years post-transplantation [6], which exhibits different pathogenic mechanisms since up to 50% of cases are EBV-negative [7], and the disease stems from T/NK cells in up to 10% of cases [8,9].

The available evidence suggests that PTLD risk is influenced by organ graft type, EBV donor/recipient mismatch, and the cumulative dose or duration and intensity of immunosuppression (including induction and rejection treatment), while the impact of other factors remains ambiguous [10]. Multiorgan and intestinal graft recipients exhibit the highest relative risk (RR = 239.5), followed by lung transplant recipients (LngTRs, RR = 58.6), pancreas transplant recipients (RR = 34.9), liver transplant recipients (LTRs) (RR = 29.9), heart transplant recipients (RR = 27.6), and kidney transplant recipients (KTRs) (RR = 12.6) [11,12].

Since only a limited population is at risk of PTLD, the majority of research focusing on risk and prognostic factors has been based on either small cohorts with a single graft type [13–16] or larger cohorts of solid organ transplant recipients (SOTRs) and hematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients [17–20]. Notably, these approaches may yield biased results. The conclusions from single-center studies may not be sufficiently generalizable to other transplant cohorts, while conclusions from studies that pool data across multiple types of SOTRs may lack granularity and miss organ-specific risk and prognostic factors.

To address these limitations, we created a multicenter registry of PTLD among SOTRs. In the present study, we used this registry to analyze various risk and prognostic factors according to organ graft types.

2. Patients and Methods

2.1. Study Participants

For this study, we identified patients diagnosed with PTLD from the six transplantation centers participating in this project: Department of Transplantology, Immunology, Nephrology, and Internal Diseases, Medical University of Warsaw (KTRs and LTRs); Department of Nephrology and Transplantation Medicine, Wrocław Medical University (KTRs); Department of Nephrology, Transplantology, and Internal Medicine, Medical University of Gdańsk (KTRs); Department of Nephrology, Medical University of Lublin (KTRs); Department of Hepatology, Transplantology, and Internal Medicine, Medical University of Warsaw (LTRs); Department of Cardiac, Vascular, and Endovascular Surgery and Transplantology, Medical University of Silesia, Silesian Center for Heart Diseases (LNgTRs). Each center received the same forms and data collection instructions. As the participating transplantation centers focus on adult patients, we included predominantly transplant recipients who were diagnosed with PTLD as adults (although no age criterion was set) in a time period between 2000 and 2023 with histologically confirmed PTLD. We have excluded hematopoietic stem cell transplant recipients, simultaneous kidney and liver transplant recipients, patients with a history of lymphoma prior to SOT, and patients without a histological confirmation of PTLD diagnosis. The analyzed data were collected from the patients' medical records, and no central medical databases were used. The collected data included the following: patients' sex, age at first transplantation, dates and types of SOT, use and type of induction IS therapy, maintenance IS regimen at the time of PTLD diagnosis, number of acute rejection (AR) episodes, type of AR treatment, date of PTLD diagnosis, virological status at PTLD diagnosis (for CMV, EBV, HBV, and HCV), PTLD histology, location of lesions, PTLD treatment types, and outcomes.

The included patients were classified into three groups: KTRs, LTRs, and LNgTRs. The KTR group was defined as KTRs, as well as patients who received non-simultaneous kidney and liver transplants with the kidney graft first. The LTR group was defined analogously.

The identified PTLD cases were classified into PTLD subtypes according to the 2022 International Consensus Classification (ICC) of mature lymphoid neoplasms [21]. Among posthumously confirmed PTLD cases, the date of PTLD diagnosis was defined as the date of the first cytological or imaging results suggestive of PTLD. EBV positivity was classified as either active EBV replication, the presence of latent membrane protein 1, or EBV-encoded RNA in situ hybridization (EBER ISH) in histopathological samples.

The design of this study was approved by the bioethics committee of the Medical University of Warsaw (approval no. KB/75/2023).

2.2. Statistical Analyses

The chi-squared test was used to analyze statistical differences in clinical characteristics. Univariate and Multivariate Cox regression were applied to assess the effects of variables on the time of PTLD onset and patient survival. Data analysis was performed using R version 3.2.3. *p*-values of <0.05 were considered statistically significant.

3. Results

3.1. Clinical Characteristics

Among the patients of the six transplantation centers participating in this project, we identified 103 patients diagnosed with PTLD, including 58 KTRs, 40 LTRs, and 5 LngTRs. Based on the data collected from the participating centers and in case of their unavailability, the data from the annual POLTRANSPLANT Bulletin (years 2001–2024) [22], the screened population was estimated to include 9432 KTRs, 3500 LTRs, and 331 LngTRs, (estimated total *n* = 13,263 patients) resulting in an estimated PTLD incidence of 0.6% among KTRs, 1.1% among LTRs, and 1.51% among LngTRs. The earliest year of first transplantation was 1987, and the earliest year of PLTD diagnosis was 1999 (one patient, diagnosed in December); the latest were 2021 and 2023, respectively. The KTR and LTR groups each included one case of non-simultaneous KTR and LTR. The LngTR group included one pediatric patient. Six KTRs, one LTR, and one LngTR underwent transplantation as minors. Among these patients, two KTRs and one LngTR developed PTLD before reaching adulthood.

The groups did not significantly differ in sex distribution. Three KTRs, three LTRs, and one LngTR underwent re-transplantation prior to PTLD diagnosis. Compared to the other groups, the LTR group had a significantly higher median age at first transplantation (45 years, *p* = 0.009) and median age at PTLD diagnosis (50 years, *p* = 0.005).

With regards to immunosuppressive (IS) treatment, our analysis revealed that KTRs exhibited significantly more frequent use of triple-drug regimens (84.5%, *p* < 0.001), cyclosporin (CsA) (60.3%, *p* < 0.001), and mycophenolate (63.8%, *p* = 0.022). Compared to the other groups, LTRs more commonly used monotherapy (17.5%, *p* = 0.003) and tacrolimus (TAC) (95%, *p* = 0.001), while LngTRs more commonly used sirolimus (40%, *p* = 0.001). Anti-CD25 induction was most frequent among LTRs (60%, *p* < 0.001), and anti-thymocyte globulin (ATG) induction was used only among KTRs. One-third of KTRs and LTRs and one-fifth of LngTRs had a history of glucocorticoid-treated (GCS) AR episodes prior to PTLD diagnosis.

Data regarding prior AR episodes were missing for nine KTRs and four LTRs. Data regarding viral infections were missing or insufficient for a number of KTRs and LTRs. Among the patients with sufficient data, EBV infection was confirmed in 59.4% of LTRs, 45.2% of KTRs, and 80% of LngTRs. Cytomegalovirus (CMV) infection was significantly more frequent in LngTRs (80%, *p* < 0.001). Table 1 summarizes the patient's clinical characteristics, IS, and viral infections.

Table 1. Patient characteristics.

	KTRs	LTRs	LngTRs	
PATIENT CHARACTERISTICS	n (%)			<i>p</i> -Value
Female	20 (34.5)	13 (32.5)	3 (60.0)	0.474
Male	38 (65.5)	27 (67.5)	2 (40.0)	0.474
Median age at PTLD Dx, years	49	50	25	0.005
Median age at first Tx, years	40	45	24	0.009
Median time from Tx to PTLD Dx, months	117	49	5	<0.001
Re-transplantation	3 (5.2)	3 (7.5)	1 (20.0)	0.438

Table 1. *Cont.*

	KTRs	LTRs	LngTRs	
IS TREATMENT				
Induction treatment				
ATG induction	3 (7.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.31
Anti-CD25 induction	8 (14.5)	21 (60.0)	1 (20.0)	<0.001
Acute rejection treatment				
ATG-treated AR	0 (0.0)	1 (2.8)	0 (0.0)	0.468
Glucocorticoid-treated AR	15 (31.2)	13 (33.3)	1 (20.0)	0.832
Maintenance IS				
Monotherapy	0 (0.0)	7 (17.5)	0 (0.0)	0.003
Double-drug IS	9 (15.5)	14 (40.0)	2 (40.0)	0.02
Triple-drug IS	49 (84.5)	17 (42.5)	3 (60.0)	<0.001
Glucocorticoids	54 (93.1)	24 (60.0)	5 (100.0)	<0.001
Cyclosporin A	35 (60.3)	2 (5.0)	2 (40.0)	<0.001
Tacrolimus	20 (34.5)	38 (95.0)	3 (60.0)	<0.001
Azathioprine	18 (31.0)	6 (15.0)	0 (0.0)	0.082
Mycophenolate	37 (63.8)	16 (40.0)	1 (20.0)	0.022
Sirolimus	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (40.0)	<0.001
Everolimus	3 (5.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.302
VIRAL INFECTIONS				
EBV positivity	19 (45.2)	19 (59.4)	4 (80.0)	0.223
CMV DNA	4 (8.7)	2 (5.7)	4 (80.0)	<0.001
HBV DNA	5 (10.4)	3 (8.1)	0 (0.0)	0.721
HCV RNA	6 (13.0)	8 (21.1)	0 (0.0)	0.369

AR, acute rejection; ATG, anti-thymocyte globulin; Dx, diagnosis; EBV positivity, as described in the Materials and Methods section (Epstein–Barr virus DNA, LMP1, or EBER ISH); Tx, transplantation. *p*-values represent the chi-squared and Kruskal–Wallis (for median time parameters) test comparison between KTRs, LTRs, and LngTRs.

3.2. Factors Associated with PTLN Development

Kaplan–Meier curves revealed significant differences in the dynamics of PTLN development, according to the type of transplanted organ (Figure 1). PTLN was diagnosed earliest after transplantation in LngTRs (median time to diagnosis: 5 months, IQR: 3–8 months), followed by in LTRs (median: 49 months, IQR: 25–98 months) and in KTRs (median: 117 months, IQR: 50–193.5 months).

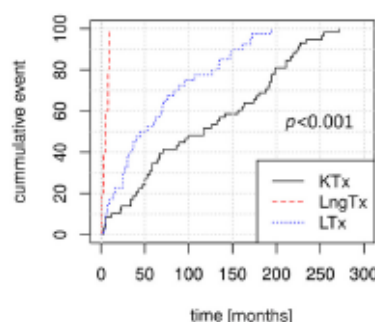


Figure 1. Kaplan–Meier estimator curves depicting differences in the time of PTLN onset between kidney transplant recipients (KTRs, *n* = 58), liver transplant recipients (LTRs, *n* = 40), and lung transplant recipients (LngTRs, *n* = 5). *p*-value for Kruskal–Wallis test comparison of median time to PTLN diagnosis. PTLN, post-transplantation lymphoproliferative disorder.

Univariate Cox regression was performed to identify factors affecting the time of PTLN onset (Table 2). The LngTR cohort size was insufficient for informative analysis. In

the pooled SOTR group, disease onset was later among patients who received CsA-based IS regimens (median time to PTLD onset 99 months vs. 57 months for non-CsA regimens, HR = 0.63, 95% CI: 0.42–0.94, $p = 0.025$) and was earlier in older patients (HR = 1.02, 95% CI: 1.00–1.04, $p = 0.01$) and in patients receiving TAC-based (HR = 1.96, 95% CI: 1.3–2.95, $p = 0.001$) or sirolimus-based IS regimens ($p < 0.001$). LTRs developed PTLD later following treatment with TAC (HR = 0.21, 95% CI: 0.05–0.95, $p = 0.042$) compared to treatment with CsA (HR = 4.8, 95% CI: 1.06–21.78, $p = 0.042$). Among KTRs, older age was the only factor that significantly influenced PTLD onset (HR = 1.03, 95% CI: 1.00–1.05, $p = 0.01$). Figure 2 depicts the variable impacts of TAC and CsA treatment at the time of PTLD onset among SOTRs, KTRs, and LTRs. Multivariate Cox regression was used to further verify these findings (Table 3) and determined the patients' age at first transplantation to be the sole factor affecting PTLD onset among SOTRs and KTRs.

Table 2. Factors affecting the time of PTLD onset—univariate analysis.

Parameter	HR	95% CI	<i>p</i> -Value
Total SOTRs			
Age at 1st Tx	1.02	1.00–1.04	0.01
Tacrolimus	1.96	1.3–2.95	0.001
Cyclosporin A	0.63	0.42–0.94	0.025
KTRs			
Age at 1st Tx	1.03	1.00–1.05	0.01
LTRs			
Tacrolimus	0.21	0.05–0.95	0.042
Cyclosporin A	4.8	1.06–21.78	0.042

PTLD, post-transplantation lymphoproliferative disorder; HR, hazard ratio; CI, confidence interval; SOTR, solid organ transplant recipient; Tx, transplantation. *p*-values for univariate Cox regression.

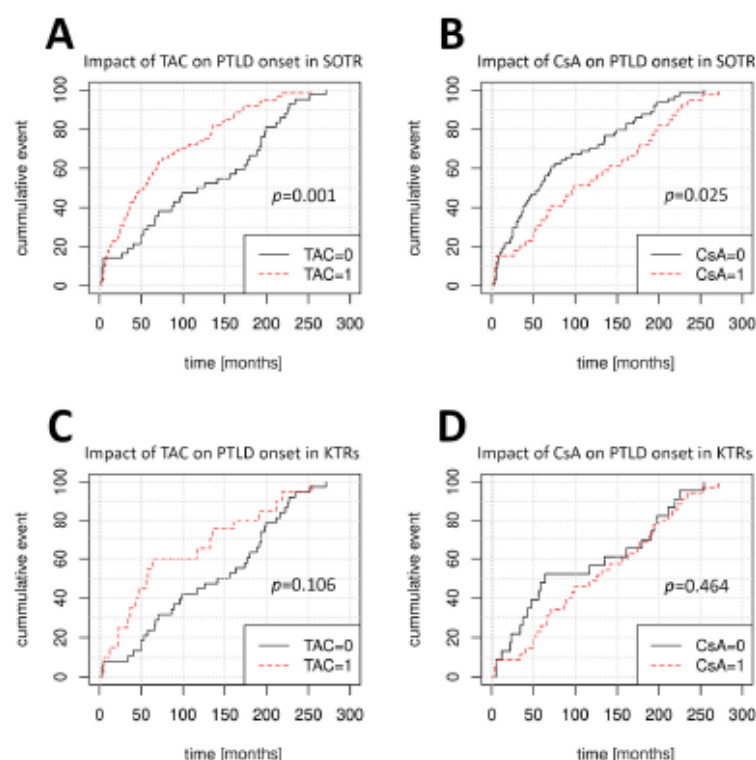


Figure 2. Cont.

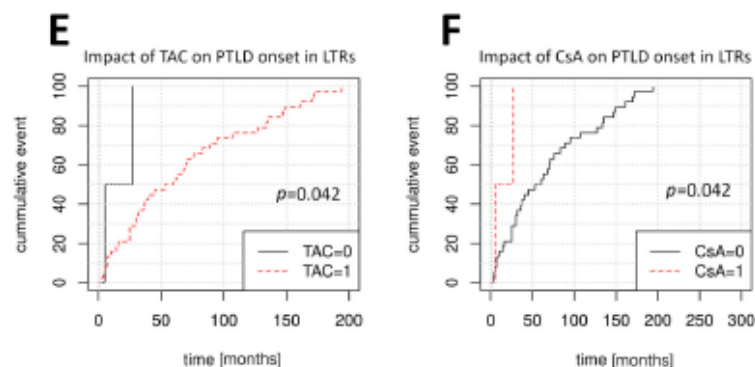


Figure 2. Variable impact of calcineurin inhibitors (CNIs) on the time of PTLD onset. (A) Effect of TAC in SOTRs. (B) Effect of CsA in SOTRs. (C) Effect of TAC in KTRs. (D) Effect of CsA in KTRs. (E) Effect of TAC in LTRs. (F) Effect of CsA in LTRs. *p*-values for univariate Cox regression. PTLD, post-transplantation lymphoproliferative disorder; TAC, tacrolimus; SOTRs, solid organ transplant recipients; CsA, cyclosporine; KTRs, kidney transplant recipients; LTRs, liver transplant recipients.

Table 3. Factors affecting the time of PTLD onset—multivariate analysis.

Parameter	HR	95% CI	<i>p</i> -Value
Total SOTRs			
Age at 1st Tx	1.03	1.01–1.04	0.006
Tacrolimus	2.02	0.94–4.34	0.07
Cyclosporin A	1.03	0.46–2.3	0.94
EBV DNA	1.36	0.85–2.18	0.20
KTRs			
Age at 1st Tx	1.04	1.01–1.07	0.003
Tacrolimus	1.45	0.55–3.8	0.45
Cyclosporin A	0.92	0.35–2.43	0.87
EBV DNA	1.24	0.63–2.41	0.53
LTRs			
Age at 1st Tx	1.03	0.99–1.07	0.06
Tacrolimus	0.27	0.06–1.28	0.10
EBV DNA	1.33	0.61–2.91	0.48

PTLD, post-transplantation lymphoproliferative disorder; HR, hazard ratio; CI, confidence interval; SOTR, solid organ transplant recipient; Tx, transplantation. *p*-values for multivariate Cox regression.

3.3. PTLD Type

Early-onset PTLD (<12 months after first transplantation) was diagnosed in 100% of LngTRs, while late-onset PTLD was predominant among LTRs (82.5%) and KTRs (91.4%). Disease dissemination (Lugano stage I vs. Lugano stages II–IV) did not significantly differ between groups. Among the main PTLD subtypes, plasmacytic hyperplasia (PH) PTLD was significantly more common in LTRs (15%) compared to the other groups ($p = 0.031$) (Table 4).

Table 4. PTLD characteristics.

	KTRs	LTRs	LngTRs	
PTLD Characteristics	n (%)			p-Value
Lugano stage I	24 (42.1)	20 (50.0)	2 (40.0)	0.724
Lugano stages II–IV	33 (57.9)	20 (50.0)	3 (60.0)	0.724
Early onset	5 (8.6)	7 (17.5)	5 (100.0)	<0.001
Late onset	53 (91.4)	33 (82.5)	0 (0.0)	<0.001
Post-mortem diagnosis	1 (1.7)	3 (7.5)	0 (0.0)	0.312
ICC 2022 type				
Nondestructive				
Florid follicular hyperplasia	0 (0.0)	1 (2.5)	0 (0.0)	0.451
Infectious mononucleosis	1 (1.7)	2 (5.0)	1 (20.0)	0.114
Plasmacytic hyperplasia	1 (1.7)	6 (15.0)	0 (0.0)	0.031
Polymorphic	5 (8.6)	6 (15.0)	0 (0.0)	0.441
Monomorphic B-cell	36 (64.3)	23 (57.5)	4 (80.0)	0.562
Monomorphic T-cell	7 (12.5)	1 (2.5)	0 (0.0)	0.161
Classic Hodgkin lymphoma	6 (10.7)	1 (2.5)	0 (0.0)	0.243

PTLD, post-transplantation lymphoproliferative disorder; KTRs, kidney transplant recipients; LngTRs, lung transplant recipients; LTRs, liver transplant recipients. Early onset is <12 months after transplantation, and late onset is >12 months after transplantation. *p*-values represent the chi-squared test comparison between KTRs, LTRs, and LngTRs.

3.4. Treatment and Outcomes

The groups did not significantly differ in PTLD treatment, aside from the R-CHOP immuno-chemotherapy regimen, which was most frequently used in LTRs (41%, $p = 0.01$). Among the 30 patients treated with anti-CD20 monotherapy, only seven did not receive subsequent R-CHOP or other chemotherapy regimens.

The survival rate was significantly lower in the KTR group (29.3%, $p = 0.003$), compared to the LTR group (60%) and the LngTR group (80%) (Figure 2). PTLD-related deaths were twice as frequent in the KTR group (43%) compared to in the other groups ($p = 0.024$). The groups did not significantly differ in the frequencies of complete remission and loss to follow-up (Table 5).

Table 5. PTLD treatment and outcomes.

	KTRs	LTRs	LngTRs	
PTLD Treatment	n (%)			p-Value
Reduction of IS	49 (84.5)	34 (87.2)	4 (80.0)	0.881
Conversion to Sirolimus	13 (22.4)	10 (25.6)	1 (20.0)	0.918
Conversion to Everolimus	5 (8.6)	2 (5.1)	0 (0.0)	0.66
Anti-CD20	14 (24.6)	13 (33.3)	3 (60.0)	0.205
R-CHOP	8 (14.0)	16 (41.0)	1 (20.0)	0.01
CHOP	6 (10.7)	5 (12.8)	0 (0.0)	0.686
Other chemotherapy	19 (33.9)	7 (18.4)	0 (0.0)	0.096
Surgery	15 (25.9)	12 (30.8)	2 (40.0)	0.733
Radiotherapy	9 (15.5)	2 (5.0)	0 (0.0)	0.185
Outcomes				
CR	27 (46.6)	24 (60.0)	4 (80.0)	0.2
Total deaths	29 (50.0)	11 (27.5)	1 (20.0)	0.053
PTLD-related deaths	25 (43.1)	7 (17.5)	1 (20.0)	0.024
Alive	17 (29.3)	24 (60.0)	4 (80.0)	0.003
Lost to follow-up	13 (22.8)	5 (12.5)	0 (0.0)	0.241

PTLD, post-transplantation lymphoproliferative disorder; KTRs, kidney transplant recipients; LngTRs, lung transplant recipients; LTRs, liver transplant recipients; CR, complete remission; IS, immunosuppression; R-CHOP, anti-CD20 + CHOP. *p*-values represent the chi-squared test comparison between KTRs, LTRs, and LngTRs.

3.5. Factors Affecting Patient Survival

In the combined cohort of PTLT patients, Lugano stages II–IV and prior ATG administration, as either induction or acute rejection (AR) treatment, were found to be detrimental to patient survival. Among the PTLT treatment modalities, surgery, anti-CD20, and R-CHOP were associated with improved SOTR survival. We reevaluated the impacts of anti-CD20 and R-CHOP among patients with either polymorphic or monomorphic B-cell PTLT only and found the effects to be insignificant in organ-specific groups.

The negative effects of more advanced stages of PTLT (Lugano II–IV) and ATG induction were present in the KTR group. Additionally, immunosuppression reduction was found to be an effective treatment strategy among KTRs (HR = 0.34, 95% CI: 0.14–0.82, $p = 0.017$). In the LTR group, the survival rate was lower among patients with PH-PTLT and those with a history of ATG-treated AR (Table 6). The LngTR cohort was too small for an informative analysis.

Table 6. Factors affecting patient survival—univariate analysis.

Parameter	HR	95% CI	<i>p</i> -Value
Total SOTRs			
Lugano stage I	0.36	0.17–0.73	0.005
Lugano stages II–IV	2.89	1.42–5.88	0.004
Surgery	0.33	0.14–0.80	0.014
Anti-CD20	0.43	0.19–0.98	0.045
R-CHOP	0.39	0.15–0.99	0.047
ATG induction	12.53	3.53–44.45	<0.001
AR ATG	28.83	3.0–277.17	0.004
KTRs			
ATG induction	11.93	3.04–46.83	<0.001
Lugano stage I	0.41	0.17–1.0	0.049
Lugano stages II–IV	2.51	1.04–6.02	0.04
Reduction of IS	0.34	0.14–0.82	0.017
LTRs			
AR ATG	34.5	2.16–551.55	0.012
PH PTLT	4.24	1.23–14.6	0.022

AR, acute rejection; ATG, anti-thymocyte globulin; PH, plasmacytic hyperplasia; R-CHOP, anti-CD20 + cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *p*-values for univariate Cox regression.

We performed multivariate analysis to further validate our findings and found that among SOTRs and KTRs, the main factor affecting survival was patients' age at first transplantation, factors identified using univariate analysis were found to be insignificant. Among LTRs, plasmacytic hyperplasia PTLT was an independent negative prognostic factor. The results for the multivariate analysis are presented in Table 7.

Table 7. Factors affecting patient survival—multivariate analysis.

Parameter	HR	95% CI	p-Value
Total SOTRs			
Age at 1st Tx	1.03	1.00–1.06	0.032
Lugano I	0.44	0.18–1.07	0.07
Surgery	0.36	0.13–1.02	0.054
IR	0.59	0.2–1.76	0.34
EBV DNA	0.87	0.41–1.83	0.72
KTRs			
Age at 1st Tx	1.03	1.00–1.07	0.045
Lugano I	0.38	0.12–1.22	0.10
IR	0.36	0.09–1.35	0.13
EBV DNA	0.73	0.27–1.95	0.53
LTRs			
Age at 1st Tx	1.01	0.95–1.07	0.74
Lugano I	0.43	0.10–1.81	0.25
Plasmacytic hyperplasia	10.2	2.2–47.48	0.003
EBV DNA	3.08	0.51–18.45	0.22

PTLD, post-transplantation lymphoproliferative disorder; HR, hazard ratio; CI, confidence interval; SOTR, solid organ transplant recipient; Tx, transplantation. *p*-values for multivariate Cox regression.

4. Discussion

Using a uniform set of registered data, we verified that the type of transplanted organ affected the frequency of PTLD among SOTRs, in accordance with previous findings. Moreover, we demonstrated that the transplanted organ type influenced a constellation of other factors, impacting the disease dynamics and treatment outcomes. These findings strengthen the evidence against pooling SOTRs for epidemiological analyses of PTLD, as this is a possible source of bias.

Based on their age at transplantation, male-to-female ratio, and immunosuppression, our KTR, LTR, and LngTR groups were each a representative cross-section of their respective organ graft recipient subpopulations within the larger relatively homogenous population of Polish SOTRs. SOT programs in Poland trace back to 1966 (the first KTx), enabling long patient observation periods. This creates a favorable setting for epidemiological analyses of disease risk and prognostic factors, especially in late-onset and extreme late-onset PTLD.

Compared to LTRs, KTRs developed PTLD later, with a greater number of extreme late-onset cases (15–20 years post-transplantation), even after the exclusion of patients who underwent re-transplantation. The presence of EBV in 45–60% of patients in the LTR and KTR groups is in accordance with previous reports of lower EBV positivity in late-onset PTLD [23]. However, these two groups were different in the other factors that affected the time of PTLD onset. Among SOTRs and KTRs, a higher age at the time of first transplantation was associated with earlier PTLD development. Similar effects of patient age have been previously described in KTRs [24–26]. However, this correlation was not observed among LTRs, in whom disease onset was affected by treatment with calcineurin inhibitors (CNIs). CsA-treated LTRs developed PTLD significantly earlier than TAC-treated LTRs, although only a small number of LTRs received CsA treatment (2 of 40 patients), which represents a limitation of our study. Notably, the effects of CNIs on PTLD development in the whole SOTR cohort were opposite of those observed in LTRs,

supporting our argument against performing analyses in cohorts with mixed graft types. The relatively low number of patients with a history of AR episodes and antibody induction minimizes the interference with our analysis of how maintenance IS agents influenced the time of PTLD onset and patient survival. Relating the IS treatment of our cohort to the IS treatment of the entire population of patients from our centers would provide the best insight. Unfortunately leading to this limitation, we do not possess a unified data system allowing us to trace the IS regimens, doses, and conversions across several thousands of patients in our six transplantation centers. Creating such a database would greatly exceed both the scope and the funding of this study.

All LngTRs in our cohort developed PTLD within the first 12 months post-transplantation, this result is in agreement with reports based on larger European cohorts [27]. Our LngTR cohort exhibited classic early-onset PTLD risk factors; they were significantly younger at transplantation, and 80% had detectable CMV or EBV DNA. In our opinion, this may translate to possible primary EBV infection due to EBV donor/recipient mismatch (a known early-onset PTLD risk factor) as the underlying cause of early disease development in these LngTRs. We were not able to verify this claim, as lung donor EBV serology is not routinely performed in Poland. Another possible cause might stem from the higher intensity of IS, especially within the first year post-transplant, but it seems less likely, as only two out of five patients in our cohort received either IS induction or AR treatment. Unfortunately, due to the limited number of lung transplantations performed in Poland to date, the LngTR cohort was too small to enable informative statistical analysis of risk and prognostic factors.

In all groups, monomorphic B-cell PTLD was the most common disease type. Monomorphic T-cell PTLD was the second most common disease type among KTRs, with a frequency of 12.5% this finding falls within limits reported in the literature [28]. LTRs exhibited a somewhat high frequency of PH-PTLD, which had a negative impact on survival; this finding is not previously described in the literature, and its significance is not yet clear. Most studies with larger cohorts published to date focus on polymorphic and monomorphic B-cell PTLD by design [29]. We consider non-destructive PTLD to be significantly underreported and underrepresented in the literature; studies with similar LTR cohorts produced lower PH-PTLD frequencies [14]. It is possible that these patients harbored more than one histological PTLD subtype, potentially leading to inadequate choice of treatment.

Although IS reduction shows variable efficacy in more histologically advanced or EBV-negative PTLD, this intervention remains the first-line treatment for all forms of PTLD. [30] Within our cohort, it was the most common type of intervention in all groups but was significantly correlated with improved survival only among KTRs. Further analysis of the role of IS reduction in KTRs with PTLD, preferably in a prospective manner and with the adjustment for possible confounders needed to verify the validity of this finding.

Our analysis showed that survival was negatively impacted by prior use of ATG, either as induction or acute rejection treatment. However, this factor was present in only three KTRs and one LTR; therefore, we consider the 95% CIs too wide for meaningful interpretation as a stand-alone result. Additionally, the number of patients who received ATG was too low to attempt stratification of other survival results based on this parameter.

Treatment regimens containing anti-CD20 (either as monotherapy or combined with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone) were found to promote survival among SOTRs. This is in accordance with the results of multicenter PTLD-1 and PTLD-2 clinical trials, showing improved patient survival in monomorphic B-cell PTLD [31,32]. The effect of anti-CD20 was insignificant among KTRs or LTRs alone. As previously reported, focal disease and surgical treatment were also found to promote favorable outcomes among SOTRs [33].

The significantly lower overall survival among KTRs may have been correlated with the longer interval between transplantation and PTLD development in these patients, which could have resulted in a higher burden of IS. The high number of PTLD-related deaths among KTRs may be associated with the higher frequencies of disseminated disease (Lugano stages II–IV) and of PTLD types with lower treatment success rates (monomorphic T-cell PTLD) [34]. Among both KTRs and LTRs, the overall survival was lower than the reported 5- and 10-year survival rates of graft recipients from the centers participating in this study [35,36]. Future verification of these findings will require the analysis of possible confounding comorbidities (e.g., cardiovascular, diabetic, and infectious). Novel technologies including 3D-bioprinting and spheroid lymphoma cultures [37] as well as novel treatment strategies such as CAR-T lymphocytes [38] might allow for a better understanding of PTLDs' microenvironment and improved patient survival.

We believe that some of the limitations of this study are related to the long observation period of over 20 years. In that time, there have been significant changes in clinical practice and in medical data storage systems. Consequently, data regarding EBV donor/recipient serology and EBER results were not available for many of our patients, which we consider the greatest limitation of this study.

5. Conclusions

In summary, here, we analyzed a cohort of SOTRs diagnosed with PTLD and exhibiting a typical pattern of risk and prognostic factors (as per the literature) and demonstrated that the impact of these factors appeared to differ among isolated organ-specific groups. Furthermore, organ-specific groups differed in the factors that affected the time of PTLD onset and patient survival. There remains a need for studies in larger multicenter cohorts that will enable the analysis of risk and prognostic factors and outcomes in an organ-specific fashion. Such an approach is more likely to result in the development of patient-tailored clinical tools, allowing transplant physicians to better identify patients at risk and predict treatment outcomes.

Author Contributions: Conceptualization: R.S. and K.M.; Methodology: R.S., B.F. and K.M.; Data curation: R.S., B.F., D.K., D.D.-M., S.L., I.Z., J.R.-W., A.S.-C., A.P., E.K., P.P., J.G., A.D.-Ś., W.Z., M.O., A.K.-L., M.G., T.S., M.D., R.Z., Z.G., M.K., K.Z., L.P. and K.M.; Writing—original draft preparation: R.S.; Writing—review and editing: R.S., B.F. and K.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Bioethics Committee of the Medical University of Warsaw, (approval no. KB/75/2023, issued on 8 May 2023).

Informed Consent Statement: Patient consent was waived due to the retrospective nature of data collected for this study.

Data Availability Statement: The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Acknowledgments: We would like to thank Bogna Ziarkiewicz-Wróblewska of the Medical University of Warsaw for the consultation of historical PTLD histology results. We would like to thank Magdalena Zielenkiewicz of the Faculty of Mathematics, Informatics, and Mechanics, University of Warsaw, for her valuable suggestions and support for the development of this study and revision of this manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare that this research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

References

- Penn, I.; Hammond, W.; Bretschneider, L.; Starzl, T.E. Malignant lymphomas in transplantation patients. *Transplant. Proc.* **1969**, *1*, 106–112.
- Alaggio, R.; Amador, C.; Anagnostopoulos, I.; Attygalle, A.D.; Araujo, I.B.O.; Berti, E.; Bhagat, G.; Borges, A.M.; Boyer, D.; Calaminici, M.; et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* **2022**, *36*, 1720–1748. [\[CrossRef\]](#)
- Grulich, A.E.; Van Leeuwen, M.T.; Falster, M.O.; Vajdic, C.M. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: A meta-analysis. *Lancet* **2007**, *370*, 59–67. [\[CrossRef\]](#)
- Dharnidharka, V.R. Comprehensive review of post-organ transplant hematologic cancers. *Am. J. Transplant.* **2018**, *18*, 537–549. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Mynaiek, M.; Schober, T.; Behrends, U.; Maecker-Kolhoff, B. Posttransplant lymphoproliferative disease after pediatric solid organ transplantation. *Clin. Dev. Immunol.* **2013**, *2013*, 814973. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Morton, M.; Coupes, B.; Roberts, S.A.; Klapper, P.E.; Byers, R.J.; Vallely, P.J.; Ryan, K.; Picton, M.L. Epidemiology of post-transplantation lymphoproliferative disorder in adult renal transplant recipients. *Transplantation* **2013**, *95*, 470–478. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Luskin, M.R.; Heil, D.S.; Tan, K.S.; Choi, S.; Stadtmauer, E.A.; Schuster, S.J.; Porter, D.L.; Vonderheide, R.H.; Bagg, A.; Heitjan, D.E.; et al. The Impact of EBV Status on Characteristics and Outcomes of Posttransplantation Lymphoproliferative Disorder. *Am. J. Transplant.* **2015**, *15*, 2665–2673. [\[CrossRef\]](#)
- Al-Mansour, Z.; Nelson, B.P.; Evens, A.M. Post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD): Risk factors, diagnosis, and current treatment strategies. *Curr. Hematol. Malign. Rep.* **2013**, *8*, 173–183. [\[CrossRef\]](#)
- Fang, Y.; Pinkney, K.A.; Lee, J.C.; Gindin, T.; Weiner, M.A.; Alobeid, B.; Bhagat, G. T-cell acute lymphoblastic leukaemia after liver transplantation: Post-transplant lymphoproliferative disorder or coincidental de novo leukaemia? *Hematol. Oncol.* **2013**, *31*, 49–53. [\[CrossRef\]](#)
- Dierickx, D.; Habermann, T.M. Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorders in Adults. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378*, 549–562. [\[CrossRef\]](#)
- Opelz, G.; Döhler, B. Lymphomas after solid organ transplantation: A collaborative transplant study report. *Am. J. Transplant.* **2004**, *4*, 222–230. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Dierickx, D.; Tousseyn, T.; Sagaert, X.; Fieuws, S.; Wlodarska, I.; Morscio, J.; Brépoels, L.; Kuypers, D.; Vanhaecke, J.; Nevens, F.; et al. Single-center analysis of biopsy-confirmed posttransplant lymphoproliferative disorder: Incidence, clinicopathological characteristics and prognostic factors. *Leuk. Lymphoma* **2013**, *54*, 2433–2440. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Kremers, W.K.; Devabhavi, H.C.; Wiesner, R.H.; Krom, R.A.; Macon, W.R.; Habermann, T.M. Post-transplant lymphoproliferative disorders following liver transplantation: Incidence, risk factors and survival. *Am. J. Transplant.* **2006**, *6 Pt 1*, 1017–1024. [\[CrossRef\]](#)
- Fararjeh, F.A.; Mahmood, S.; Tachtatzis, P.; Yallop, D.; Devereux, S.; Patten, P.; Agrawal, K.; Suddle, A.; O'Grady, J.; Heaton, N.; et al. A retrospective analysis of post-transplant lymphoproliferative disorder following liver transplantation. *Eur. J. Haematol.* **2018**, *100*, 98–103. [\[CrossRef\]](#)
- Muchtar, E.; Kramer, M.R.; Vidal, L.; Ram, R.; Gurion, R.; Rosenblat, Y.; Bakal, I.; Shpilberg, O. Posttransplantation lymphoproliferative disorder in lung transplant recipients: A 15-year single institution experience. *Transplantation* **2013**, *96*, 657–663. [\[CrossRef\]](#)
- Wozniak, L.J.; Mauer, T.L.; Venick, R.S.; Said, J.W.; Kao, R.L.; Kempert, P.; Marcus, E.A.; Hwang, V.; Cheng, E.Y.; Busuttil, R.W.; et al. Clinical characteristics and outcomes of PTLD following intestinal transplantation. *Clin. Transplant.* **2018**, *32*, e13313. [\[CrossRef\]](#)
- Peters, A.C.; Akinwumi, M.S.; Cervera, C.; Mabilangan, C.; Ghosh, S.; Lai, R.; Iafolla, M.; Doucette, K.; Preiksaitis, J.K. The Changing Epidemiology of Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Adult Solid Organ Transplant Recipients Over 30 Years: A Single-center Experience. *Transplantation* **2018**, *102*, 1553–1562. [\[CrossRef\]](#)
- Hahn, S.M.; Lee, M.; Hyun, J.; Lim, S.; Kang, J.M.; Ahn, J.G.; Joo, D.J.; Jung, I.; Ihn, K. Incidence and Features of Lymphoid Proliferation and Lymphomas after Solid Organ or Hematopoietic Stem Cell Transplantation in a National Database Cohort. *Cancer Res. Treat.* **2024**, *56*, 305–313. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Tsai, D.E.; Bagley, S.; Reshef, R.; Shaked, A.; Bloom, R.D.; Ahya, V.; Goldberg, L.; Chung, A.; Debonera, F.; Schuster, S.J.; et al. The changing face of adult posttransplant lymphoproliferative disorder: Changes in histology between 1999 and 2013. *Am. J. Hematol.* **2018**, *93*, 874–881. [\[CrossRef\]](#)
- Vergote, V.K.J.; Deroose, C.M.; Fieuws, S.; Laleman, W.; Sprangers, B.; Uyttebroeck, A.; Van Cleemput, J.; Verhoef, G.; Vos, R.; Tousseyn, T.; et al. Characteristics and Outcome of Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders After Solid Organ Transplantation: A Single Center Experience of 196 Patients Over 30 Years. *Transpl. Int.* **2022**, *35*, 10707. [\[CrossRef\]](#)

21. Campo, E.; Jaffe, E.S.; Cook, J.R.; Quintanilla-Martinez, L.; Swerdlow, S.H.; Anderson, K.C.; Brousset, P.; Cerroni, L.; de Leval, L.; Dirnhoder, S.; et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: A report from the Clinical Advisory Committee. *Blood* **2022**, *140*, 1229–1253. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. POLTRANSPLANT Bulletin. Available online: <https://poltransplant.org.pl/publikacje/biuletyn-informacyjny-poltransplantu/> (accessed on 11 May 2025).
23. Ghobrial, I.M.; Habermann, T.M.; Macon, W.R.; Ristow, K.M.; Larson, T.S.; Walker, R.C.; Ansell, S.M.; Gores, G.J.; Stegall, M.D.; McGregor, C.G. Differences between early and late posttransplant lymphoproliferative disorders in solid organ transplant patients: Are they two different diseases? *Transplantation* **2005**, *79*, 244–247. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Quinlan, S.C.; Pfeiffer, R.M.; Morton, L.M.; Engels, E.A. Risk factors for early-onset and late-onset post-transplant lymphoproliferative disorder in kidney recipients in the United States. *Am. J. Hematol.* **2011**, *86*, 206–209. [\[CrossRef\]](#)
25. Mucha, K.; Staros, R.; Foronowicz, B.; Ziarkiewicz-Wróblewska, B.; Kosieradzki, M.; Nazarewski, S.; Naumnik, B.; Raszeja-Wyszomirska, J.; Zieniewicz, K.; Pączek, L. Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors between Kidney and Liver Transplant Recipients. *Cancers* **2022**, *14*, 1953. [\[CrossRef\]](#)
26. Caillard, S.; Porcher, R.; Provot, E.; Dantal, J.; Choquet, S.; Durbach, A.; Morelon, E.; Moal, V.; Janbon, B.; Alamartine, E.; et al. Post-transplantation lymphoproliferative disorder after kidney transplantation: Report of a nationwide French registry and the development of a new prognostic score. *J. Clin. Oncol.* **2013**, *31*, 1302–1309. [\[CrossRef\]](#)
27. Spetsotaki, K.; Koch, A.; Taube, C.; Theegarten, D.; Kamler, M.; Pizanis, N. Incidence of malignancies after lung transplantation and their effect on the outcome: 26 years' experience. *Heliyon* **2023**, *9*, e20592. [\[CrossRef\]](#)
28. Herremans, A.; Dierickx, D.; Morscio, J.; Camps, J.; Bittoun, E.; Verhoef, G.; De Wolf-Peeters, C.; Sagaert, X.; Tousseyn, T. Clinicopathological characteristics of posttransplant lymphoproliferative disorders of T-cell origin: Single-center series of nine cases and meta-analysis of 147 reported cases. *Leuk. Lymphoma* **2013**, *54*, 2190–2199. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Trappe, R.; Dierickx, D.; Zimmerman, H.; Morschhauser, F.; Mollee, P.; Zaucha, J.M.; Dreyling, M.H.; Dührsen, U.; Reinke, P.; Verhoef, G.; et al. Response to Rituximab Induction Is a Predictive Biomarker in Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder (PTLD) and Allows Successful Treatment Stratification in an International Phase II Trial Including 152 Patients. *Blood* **2015**, *126*, 816. [\[CrossRef\]](#)
30. Zaffiri, L.; Chambers, E.T. Screening and Management of PTLD. *Transplantation* **2023**, *107*, 2316–2328. [\[CrossRef\]](#)
31. Trappe, R.U.; Dierickx, D.; Zimmermann, H.; Morschhauser, F.; Mollee, P.; Zaucha, J.M.; Dreyling, M.H.; Dührsen, U.; Reinke, P.; Verhoef, G.; et al. Response to Rituximab Induction Is a Predictive Marker in B-Cell Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder and Allows Successful Stratification Into Rituximab or R-CHOP Consolidation in an International, Prospective, Multicenter Phase II Trial. *J. Clin. Oncol.* **2017**, *35*, 536–543. [\[CrossRef\]](#)
32. Zimmermann, H.; Koenecke, C.; Dreyling, M.H.; Pott, C.; Dührsen, U.; Hahn, D.; Meidenbauer, N.; Hauser, I.A.; Rummel, M.J.; Wolf, D.; et al. Modified risk-stratified sequential treatment (subcutaneous rituximab with or without chemotherapy) in B-cell Post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD) after Solid organ transplantation (SOT): The prospective multicentre phase II PTLD-2 trial. *Leukemia* **2022**, *36*, 2468–2478. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Mucha, K.; Foronowicz, B.; Niemczyk, K.; Ziarkiewicz-Wróblewska, B.; Stanisławek-Sut, O.; Zieniewicz, K.; Krawczyk, M.; Pączek, L. Tonsil enlargement after liver transplantation in adults—reason enough for tonsillectomy? Two cases of tonsillar posttransplantation lymphoproliferative disease. *Liver Transplant.* **2007**, *13*, 918–923. [\[CrossRef\]](#)
34. Barba, T.; Bachy, E.; Maarek, A.; Fossard, G.; Genestier, L.; Anglicheau, D.; Moal, V.; Dantal, J.; Rieu, P.; Chemouny, J.; et al. Characteristics of T- and NK-cell Lymphomas After Renal Transplantation: A French National Multicentric Cohort Study. *Transplantation* **2021**, *105*, 1858–1868. [\[CrossRef\]](#)
35. Grąt, M.; Lewandowski, Z.; Patkowski, W.; Grąt, K.; Wronka, K.M.; Krasnodebski, M.; Wróblewski, T.; Nyckowski, P.; Krawczyk, M. Individual Surgeon Experience Yields Bimodal Effects on Patient Outcomes After Deceased-Donor Liver Transplant: Results of a Quantile Regression for Survival Data. *Exp. Clin. Transplant.* **2018**, *16*, 425–433. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Foronowicz, B.; Mucha, K.; Florczak, M.; Szymańska, A.; Cizek, M.; Durlak, M.; Górski, A.; Kieszek, R.; Kosieradzki, M.; Nazarewski, S.; et al. Long-term outcome of renal transplantation: A 10-year follow-up of 765 recipients. *Pol. Arch. Intern. Med.* **2019**, *129*, 476–483. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Staros, R.; Michalak, A.; Rusinek, K.; Mucha, K.; Pojda, Z.; Zagożdżon, R. Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion. *Cancers* **2022**, *14*, 3126. [\[CrossRef\]](#)
38. McKenna, M.; Epperla, N.; Ghobadi, A.; Liu, J.; Lazaryan, A.; Ibrahim, U.; Jacobson, C.A.; Naik, S.G.; Nastoupil, L.; Chowdhury, S.M.; et al. Real-world evidence of the safety and survival with CD19 CAR-T cell therapy for relapsed/refractory solid organ transplant-related PTLD. *Br. J. Haematol.* **2023**, *202*, 248–255. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

6.4 Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion

Cancers 2022

Review

Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion

Rafał Staros ¹, Agata Michalak ², Kinga Rusinek ², Krzysztof Mucha ¹ , Zygmunt Pojda ² and Radosław Zagózdźon ^{1,2,3,*} 

¹ Department of Immunology, Transplantation and Internal Medicine, Medical University of Warsaw, 02-006 Warsaw, Poland; rafal.j.staros@gmail.com (R.S.); kmucha@wum.edu.pl (K.M.)

² Department of Regenerative Medicine, Maria Skłodowska-Curie National Institute of Oncology, 02-781 Warsaw, Poland; agata.michalak2@pib-nio.pl (A.M.); kinga.rusinek@pib-nio.pl (K.R.); zygmunt.pojda@pib-nio.pl (Z.P.)

³ Department of Clinical Immunology, Medical University of Warsaw, 02-006 Warsaw, Poland

* Correspondence: radoslaw.zagodzdzon@wum.edu.pl; Tel.: +48-22-502-14-72; Fax: +48-22-502-21-59

Simple Summary: The ability of cancer cells to evade the immunological response of the host has been recognized as one of the hallmarks of cancer. Better understanding of this phenomenon is vital for generating more successful anticancer therapies. However, due to the complexity of the tumor microenvironment, classical cell culture techniques have proven insufficient for many aspects of the immune evasion-related research. High hopes for the studies on the tumor immune evasion are currently raised by the recent advances in 3D-bioprinting—a method that allows for precise fabrication of structures containing multiple cell types suspended in biomaterials mimicking the native extracellular matrix. Herein, we discuss the state-of-art 3D-bioprinting techniques and their applications in oncological research, including both existing and potential uses in modeling of immune evasion and response to immunotherapies.



Citation: Staros, R.; Michalak, A.; Rusinek, K.; Mucha, K.; Pojda, Z.; Zagózdźon, R. Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion. *Cancers* 2022, 14, 3126. <https://doi.org/10.3390/cancers14133126>

Academic Editor: Anne-Marie Schmitt-Verhulst

Received: 1 May 2022

Accepted: 23 June 2022

Published: 26 June 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: In a living organism, cancer cells function in a specific microenvironment, where they exchange numerous physical and biochemical cues with other cells and the surrounding extracellular matrix (ECM). Immune evasion is a clinically relevant phenomenon, in which cancer cells are able to direct this interchange of signals against the immune effector cells and to generate an immunosuppressive environment favoring their own survival. A proper understanding of this phenomenon is substantial for generating more successful anticancer therapies. However, classical cell culture systems are unable to sufficiently recapture the dynamic nature and complexity of the tumor microenvironment (TME) to be of satisfactory use for comprehensive studies on mechanisms of tumor immune evasion. In turn, 3D-bioprinting is a rapidly evolving manufacture technique, in which it is possible to generate finely detailed structures comprised of multiple cell types and biomaterials serving as ECM-analogues. In this review, we focus on currently used 3D-bioprinting techniques, their applications in the TME research, and potential uses of 3D-bioprinting in modeling of tumor immune evasion and response to immunotherapies.

Keywords: tumor architecture; immune response; anticancer immunotherapies; in vitro modelling; CAR-T; checkpoint inhibitors

1. Introduction

Malignant tumor developing in a living organism can nowadays be seen as a “rouge organ”—a highly complex, internally heterogeneous and ever-changing ecosystem [1], that cannot be simply recapitulated by culturing an established cell line in vitro. Moreover, substantial inter-patient variability necessitates a highly personalized therapeutic approach to each of the cancer cases. Therefore, to better understand the tumor biology and to ensure

proper testing for the recognized or experimental therapies against individual tumors, one must establish suitable laboratory models.

Although advanced in-vivo-based models, e.g., xenotransplantation of patient-derived tumors to humanized animals [2], may partially reflect the complexity of cancer growth, these studies are tainted with the artificiality of differences between evolutionarily distant species and/or ethical considerations. Therefore, much effort has been employed to generate appropriate in vitro models for reconstituting the interactions within the tumor microenvironment (TME), especially in the context of immune evasion or resistance to modern immunotherapies. Recently, advances in three-dimensional (3D)-bioprinting in vitro methods have raised high hopes for adequate mimicking the interplay between TME and immune effector cells.

2. The Role of TME in Tumor Immune Evasion

Initially, cancer is a disease of genes. Hereby, genetic and epigenetic alterations accumulate in cells undergoing malignant transformation, which then alters their behavior and favors the “classical” hallmarks of cancer, as described in 2000 by Hanahan and Weinberg [3]. However, one of the costs of accumulated genetic abnormalities is the generation of new molecular structures, neoantigens, that can be recognized as “non-self” by the immune system [4]. This imposes a selective pressure on the tumor, that, preferably, may lead to the elimination of cancer cells, but can also initiate a Darwinian-like microevolution leading to “survival of the fittest”. In this process, cancer is forced into either dynamic equilibrium with the immune system or, undesirably, into escape from the immune surveillance and into becoming a serious threat to the health and life of an organism. Therefore, immune evasion was added to the list of hallmarks of cancer in 2010 [5]. Although some of the mechanisms of immune evasion can be related to direct interactions between malignant cells and the immune effectors, there are numerous instances when TME serves for cancer as a protector against the immune system and/or immunotherapies [6–8].

Depending on a phenotype of a given tumor, TME is a mixture of diverse cellular and acellular components allowing cancer cells to survive, develop and thrive. Within the support of TME for malignant cells, three main paths can be recognized: (1) forming a functional niche for cancer stem cells (CSC) and a scaffolding for proliferating malignant cells, (2) providing oxygen, nutrients, and other soluble factors to sustain the malignant growth, and (3) shielding cancer from the immune system. This last effect can either mimic the natural self-tolerance mechanisms or disable the capabilities of the immune effector cells by non-physiological/exaggerated metabolic pressure. The classical examples of the latter are low pH, hypoxia, oxidative stress, scavenging glucose, and essential amino acids, or even such factors as high extracellular concentration of potassium [9], intrinsic for many tumors.

Regarding the immunosuppressive cellular components of TME, cancer cells tend to selectively attract and reprogram such cells as M2 macrophages, N2 neutrophils, mesenchymal stromal cells (MSC), regulatory T or B cells (Treg or Breg, respectively), or, in some cases, Th17 phenotype of T cells [10]. Each of these cells can be a significant player in the regulatory network hampering the Th1-driven anticancer immune response [11]. At the same time, some of these cells exert innate pro-inflammatory effects that further hamper the specific anticancer immunity [12].

For instance, tumor associated macrophages (TAM) of M2 type release immunosuppressive cytokines, such as IL-10 [13], and chemokines (e.g., CCL5, CCL20, or CCL22) attracting Tregs [14]. Additionally, TAM can directly suppress functionality of effector T cells by a range of immune checkpoint molecules, such as PD-L1 or VISTA [15]. Also, TAM express arginase 1 (Arg-1) and generate immunosuppressive metabolites by the indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) pathway, which can induce metabolic starvation in T cells. In turn, tumor associated neutrophils (TAN) of N2 phenotype can, among other effects, sustain inflammation within the TME by producing genotoxic elements such as nitric

oxide or mediators of oxidative stress [16]. Robust immunosuppressive and pro-tolerant capabilities are also associated with MSC infiltrates in tumors [17], especially when those cells are induced by such antitumor cytokines as IFN- γ or TNF- α . Similarly to TAM, MSC can also significantly affect specific anticancer response by their metabolic activity (e.g., via the IDO pathway) or production of soluble factors, such as prostaglandin E2 (PGE2), nitric oxide (NO), IL-1, IL-4, IL-6, or TGF β , and through their direct interactions with other types of immune cell, such as dendritic cells, B or T cells, NK cells, and macrophages [17]. Graphical representation of tumor microenvironment-associated factors hampering the immune response is depicted in Figure 1.

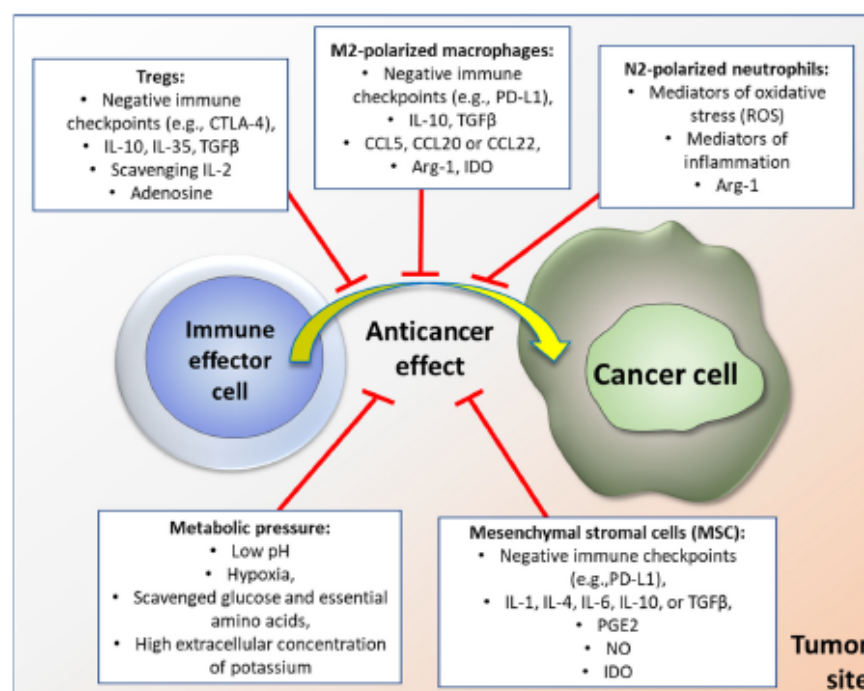


Figure 1. Examples of factors within tumor microenvironment that inhibit anticancer immune response (please see text for details).

While seemingly random, the spatial architecture of TME is in fact a crucial element for the immune evasion [18]. This notion is strongly supported by recent data collected with state-of-art laboratory techniques, such as deep learning analysis of digital histopathology images [19], probe-based in situ imaging [20], spatial multiomics [21], as well as the advanced biochemistry techniques visualizing gradients of cytokines/chemokines and extracellular nonspecific chemicals (ENSCs) within tumors [18]. Indeed, as immune cells rarely act in isolation, for the successful immune response versus induction of tolerance, an orchestrated cooperation of several cell types is necessary. Therefore, physical intercellular distance, compartmentalization of the tumor mass, and patterns of cellular aggregates within the tumor are of high importance for the immunomodulatory factors that function via cell-to-cell contact or in a juxtacrine/paracrine manner. Another key aspect is the distance from the blood supplying vessels along with the composition and density of extracellular matrix that change the concentration of oxygen and reactive oxygen species, glucose and other nutrients, pH, electrolytes, etc. in a given location. Thus, local conditions for the activity of immune effector cells can be very different within the tumor core, invasive margin, tumor stroma, or early metastatic sites. This can allow survival of residual disease in particular regions of the malignant tumor, even with potentially high effectiveness of the anticancer response or immunotherapy [22]. For a very long time, it was nearly impossible

to reconstitute such conditions *in vitro* for preclinical modeling purposes. This has recently been changing thanks to the spectacular progress in the 3D-bioprinting technology.

3. 3D-Bioprinting

3.1. Bioprinting Techniques

3D-bioprinting holds one of the greatest promises for the study of cancer biology and the development of novel treatments. Over the past few decades, 2D cancer models have allowed for understanding the fundamentals of cancer biology, but have limited our knowledge on cell-cell and cell-extracellular matrix (ECM) interactions. The ability to use different cell types in combination with biomaterials allows for the precise generation of bio-engineered 3D tissues, including representative *in vitro* tumor models. Three-dimensional cancer models are superior in mirroring cellular behavior and tumor microenvironment, including angiogenesis, metastasis, and anticancer drug resistance.

There are several 3D bioprinting methods that can be distinguished, e.g., inkjet-based bioprinting, extrusion-based bioprinting, laser-based bioprinting, and stereolithography (Figure 2). Every method has unique advantages and limitations, and it is upon the specific requirements of the tissue being produced that the appropriate printing technique is selected [23,24].

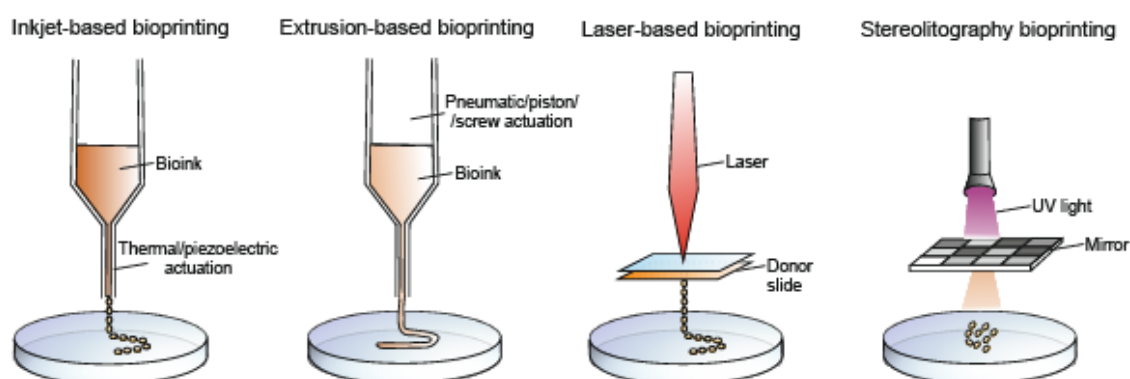


Figure 2. Graphical presentation of principles of four types of 3D-bioprinting techniques.

Inkjet-based bioprinting is a technique, which involves jetting the ink through the nozzle of a jetting device in the form of droplets, hence it is also called droplet-based bioprinting. This type of bioprinting can be either continuous or drop-on-demand, depending on the mode of deposition of the ink. Among the advantages, fast fabrication speed and moderately high printing resolution (50 μm) can be highlighted. However, bioprinting is available only with low cell densities and is compatible with low viscosity biomaterials ($>10 \text{ mPa}\cdot\text{s}$). Based on the actuation technique, inkjet bioprinting can be classified into thermal and piezoelectric [25–27].

Extrusion-based bioprinting is known as the most popular bioprinting technique. This technique is extensively used, due to the possibility of the use of hydrogels of varying viscosities (30 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ to $>6 \times 10^7 \text{ mPa}\cdot\text{s}$) and bioprinting with high cell densities where cell viability in 3D constructs is very high. However, the limitations are relatively low resolution ($>100 \mu\text{m}$) and slow printing speed for large structures. Pneumatic or mechanical actuation is used for fluid dispensing, which allows the loaded bioink to be pushed through a nozzle. The advantages of extrusion bioprinting are, undoubtedly, the wide range of printable biomaterials and cost-effective equipment [25,28,29].

Laser-based bioprinting is a less popular technique as compared to the extrusion-based and inkjet-based bioprinting. There are no difficulties with nozzle clogs to overcome as it is a nozzle-free technique. The basis of that technique relies on focusing a laser beam on a donor slide covered with laser-absorbing material, resulting in deposition of small volumes

of biomaterials either in the solid or liquid phase, on the target surface. A prominent feature of laser-based bioprinting is a high printing resolution which allows for the manufacture of finely detailed target structures. However, the bioprinting process with laser energy is slower compared to the other methods; furthermore, it is associated with high printing costs, long preparation time, and cellular damage due to ultraviolet curing [25,30,31].

One of the bioprinting methods that allows for production of cellular and acellular structures, while not requiring physical contact, is the 3D-printing with stereolithography (SLA). The applied photocurable bioink is selectively crosslinking into solid hydrogel features by photopolymerization under irradiation. SLA offers high spatial resolution and high cell viability. However, there is a risk of cell toxicity associated with UV usage and cell damage during photocuring [24,25,32].

3.2. Bioinks

Bioinks are indispensable components of bioprinting. The term bioink is used to describe a formulation of cells and/or biocompatible materials that serve as scaffolding for living cells in three-dimensional bioprinting. Biomaterials that can be seeded with cells after printing and sterilization are not classified as true bioinks but as biomaterial inks and can be confused with them [33]. Bioinks are generally hydrogel precursors. Thus, during or immediately after bioprinting, the bioink must be cross-linked to give the print the intended model shape [34]. The choice of bioink depends on the specific application, the type of cells used, and the bioprinter. Equally important are the physicochemical and biological properties of the bioink. Properties such as viscosity, gelability, and cross-linking ability significantly influence print fidelity (complexity, resolution, structure size, shape stability) as well as cell viability, proliferation, differentiation, and tissue formation [35]. Bioinks can be classified into two main groups—scaffold-based bioinks and scaffold-free bioinks. The first group is comprised of bioinks where cells are dispersed in biomaterials that mimic the extracellular matrix (ECM), for instance in hydrogels. The second group are the scaffold-free bioinks which contain tissue spheroids, cell pellets, or tissue strands. In this approach, cells aggregate and secrete ECM [36]. Most hydrogel-based bioinks have specific cell-binding sites that are crucial for cell attachment, growth, and differentiation [37]. Among the hydrogel types, one can highlight alginate, gelatin, collagen, fibrinogen, gellan gum, hyaluronic acid (HA), agarose, chitosan, decellularized extracellular matrix (dECM), poly(ethylene glycol) (PEG), and Pluronic [37]. Hydrogels are divided into natural or synthetic groups. The most frequently used natural hydrogels in 3D bioprinting cancer models are alginate, collagen, and gelatin [38]. Alginate is a low-cost biomaterial that features good printability and excellent biocompatibility. However, it shows minimal cell adhesion and slow degradation, but these properties can be improved by the attachment of growth factors or adhesion peptides [39]. One of the notable characteristics of collagen-based bioinks is the possibility to add not only cells but also to enrich their composition with any components of the extracellular matrix [40]. Hydrogels can be combined to improve their mechanical properties, for example, gelatin/alginate/fibrinogen used in glioblastoma [41] or cervical tumor models [42]. Synthetic hydrogels are not as common as the natural ones. However, through chemical modifications, such as functional group cross-linking, as well as domains capable of improving the structural and mechanical properties of bioprinted structures, synthetic polymers can be adapted to the requirements of bioprinting processes [36]. Gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels have been frequently used for various biomedical applications due to their biological properties and tunable physical characteristics [43,44]. The examples of applications of bioinks are presented in Table 1.

Table 1. Examples of applications of bioinks in 3D-bioprinting models of cancers.

Bioink	Bioprinting Technique	Biochemical/ Physical Properties	Crosslinking Mechanism	Applications
Naturally-derived hydrogels				
Collagen	EBB ¹	The major component of ECM in most tissues, cell-friendly, possesses natural cell binding sites, hydrophilic, well-studied temperature-dependent gelation, low immunogenicity	pH, thermal	Glioblastoma-on-a chip [45]; Breast tumor model [46]
Alginate	EBB DBB ²	Easy and quick cell encapsulation, low cell attachment, high porosity, hydrophilic	CaCl ₂ , CaSO ₄	Glioblastoma-on-a chip [47,48]; Melanoma model [49]
Synthetically-derived hydrogels				
Pluronic F127	EBB	Low toxicity, reverse thermal gelation, high drug loading capabilities, ability to gel in physiological conditions at relatively low concentrations, biologically inert towards multiple cell types, broad range of viscosities	thermal	Hepatocarcinoma model [50]
Polyethylene glycol (PEG)	LBB ³ (stereolithography)	Hydrophilic, enhanced biocompatibility, resistant to protein adsorption and cell adhesion, nonbiodegradable, poor mechanical strength	photocrosslinking	Breast tumor model [51]
GelMA	LBB, LBB (stereolithography) EBB	Good solubility, low antigenicity, combined biocompatibility, has bio-active peptide sequences, mimics native ECM	photocrosslinking	Hepatocarcinoma model [50]; Ovarian cancer [52]; Glioblastoma-on-a chip [53]; Invasive ductal carcinoma model [54]; Exocrine pancreas spheroid model [55]
Combined hydrogels				
Gelatin, alginate and fibrinogen	EBB	Combined components of extracellular matrix that is bioprinting-friendly	thrombin, CaCl ₂ , thermal	Glioblastoma-on-a chip [41]; Cervical tumor model [42]
Alginate and gelatin	EBB	The combination of these two substances provides a substrate with enhanced mechanical and structural properties	CaCl ₂	Breast tumor model [56,57]; Lung cancer model
Methacrylated hyaluronic acid and gelatin	EBB	Increased final mechanical strength by methacrylation	photocrosslinking	Breast tumor model [58]

¹ EBB—Extrusion-based bioprinting. ² DBB—Droplet-based bioprinting. ³ LBB—Laser-based bioprinting.

4. 3D-Bioprinting Applications in Solid Tumor Microenvironment Research

In recent years, 3D-printed cell culture systems have gathered attention across various biomedical fields of research. Commonly, pilot studies of novel culture platforms are conducted using established cell lines, usually derived from solid tumors. Optimization of such culture systems for the support of cellular growth, proliferation, and engraftment can be viewed as the beginning of 3D-bioprinted TME research. Example images of such 3D-bioprinted materials are presented in Figure 3.

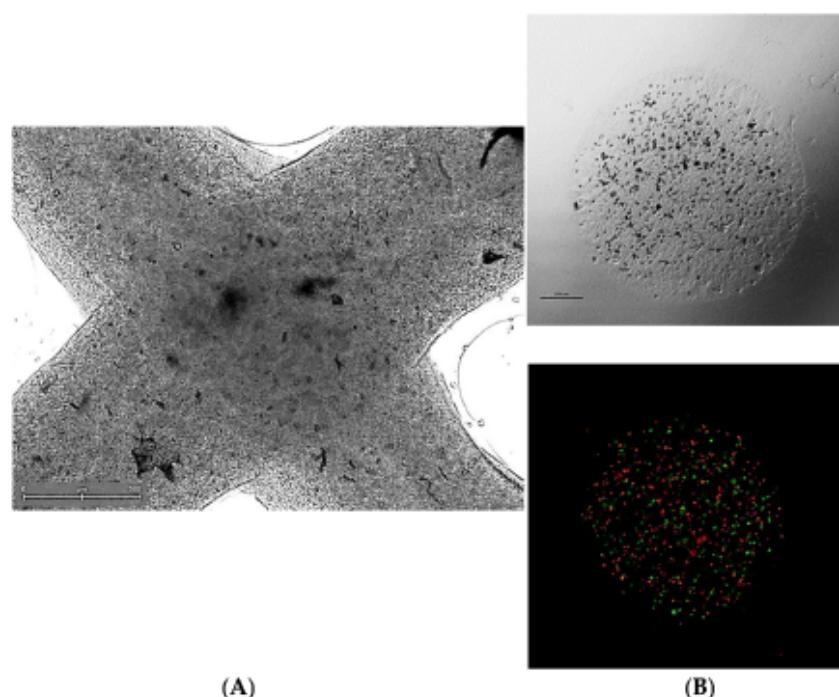


Figure 3. Representative micrographs of 3D-bioprinted co-culture cancer models involving (A) extrusion-based method (visible light microscopy) or (B) a droplet-based technique in visible light microscopy (upper panel) or fluorescent microscopy (bottom panel)—a mix of PKH67-labeled MSC (green signal) and PKH26-labeled HCT116 colon cancer cells (red signal) was suspended in bioink and co-bioprinted using a BioX bioprinter (CELLINK, Sweden). Courtesy of Ms. Anna Słysz (Maria Skłodowska-Curie National Institute of Oncology, Warsaw, Poland).

The level of control over the spatial arrangement of cells, the possibility of multiple cell type use, and fine-tuning the biochemical and physical properties of biomaterials available through bioprinting allows generation of structures of a varied degree of complexity—from simple monocellular models to organoids and assembloids. Organoids are 3-dimensional *in vitro* constructs mimicking the architecture of specific tissues. Classically, they are derived from induced pluripotent stem cells (iPSCs) or other stem cell types and constructed by cell self-assembly and differentiation under controlled culture conditions [59]. In oncological research, concurrently with the dominant use of tumor stem cells or patient-derived cancer cells (PDCOs), such structures are called tumor organoids or tumoroids. Assembloids exhibit an even greater level of complexity, as multiple cell types are used to recapture the multitude of tissues of which the target organ is built *in vivo* [60,61]. PDCO-derived organoids are investigated as potential clinical tools for the personalization of oncological treatment and response prediction [62–64]. The merger of 3D-bioprinting and organoid technologies both accelerates organoid formation and increases the potential organoid complexity [65]. Many of the structures described later in this section can be considered 3D-bioprinted tumor organoids.

Although 3D-bioprinting has been used in studies focusing on various forms of solid tumors, including neuroblastoma [66,67], melanoma [68,69], pancreatic cancer [55,70], non-small cell lung cancer [71], liver cancer [72], and osteosarcoma [73], the most prolific research has been conducted in breast cancer and glioma/glioblastoma models.

4.1. Breast Cancer

TME has been recognized as a crucial element of breast cancer cellular activity, progression, metastasis, and response to treatment [74]. Its effects are modulated by intercellular crosstalk between neoplastic cells and fibroblasts, adipocytes, pericytes, and endothelial cells, as well as through their interactions with the extracellular matrix (ECM) [75]. 3D-bioprinting allows for the creation of artificial culture environments in which it is possible to control the dispersion and the spatial arrangement of specific cell types and furthermore to fine-tune both the biochemical and physical properties (alignment of fibers, porosity, stiffness) of the ECM [76]. Chaji et al. conducted a study in which MCF7 and predifferentiated adipose-derived mesenchymal stem/stromal cell (ADSC)-laden constructs were bioprinted [77]. The cells were found to be viable at day 10 of culture and tended to form clusters within the hydrogel matrix as well as to migrate towards the center of the construct, which the authors interpret as an effect of the hypoxic gradient within the structure. Similar effects were described by Bojin et al., who used a bioink fused with SK-BR-3 cells, peripheral blood mononuclear cells, and fibroblasts isolated from the tumors of breast cancer patients [78]. Through HE staining, they determined that the cells within the construct were able to proliferate and remodel the ECM. The data obtained through the *in vitro* stage of their experiment was subsequently used to create a virtual model of interactions between breast cancer cells and TME. To assess the potential of 3D-bioprinted models to support the research on paracrine cellular interactions, Horder et al. devised a two-compartment model in which MDA-MB-231 cells were printed onto a hyaluronic acid construct containing adipogenically predifferentiated ADSC spheroids [79]. After 9 days of coculture, the ADSCs within the spheroids presented increased expression of collagen I, VI, and fibronectin, as well as a reduced lipid content compared to the controls. The same cell line was used by Polonio-Alcala et al. in their research of breast cancer stem cell subpopulation [80]. MDA-MB-231 cells were seeded onto a bioprinted polylactic acid scaffold, and subsequently, the potential of the construct to support the expansion of the cancer stem cell niche was confirmed by the increased activity of aldehyde dehydrogenase. An upregulation of stemness marker CD44 was also reported on T47D and MCF7 cell lines cultured on a 2,2,6,6-tetramethylpyrrolidine-1-oxyl pre-treated cellulose nanofiber bioprinted scaffold [81]. Furthermore, the cells in that experiment have shown an increase in the expression of VIM, a marker of migration. Another study investigated the CD44⁺ subpopulation of MCF7 cells bioprinted in alginate/gelatin as a platform for drug resistance testing [82]. The authors reported a reduced susceptibility to treatment with camptothecin or paclitaxel compared to unsorted MCF7 cells, confirming the viability of the testing system. Alginate bioprinted scaffolds containing periostin and hydroxyapatite were shown to induce gene expression changes in MCF7 and MDA-MB-231 cells, upregulating the marker genes for stemness (*CD44*, *ETV1*, *MALAT1*), epithelial-mesenchymal transition (*TWIST1*, *SNAIL*, *MUC1*), and downregulating the markers of cell proliferation (*MKI67*, *CCNA2*) and differentiation (*EPCAM*) relative to 2D culture [83]. Additionally, the transcriptomic pattern of response to doxorubicin and 5-fluorouracil differed between the cells cultured in 3D versus 2D. Han et al. focused on metastatic disease, specifically estrogen-receptor-positive breast cancer metastases to bone tissue [84]. First, they fabricated an osteomimetic DS-3000 resin scaffold using stereolithography, which was subsequently seeded with patient-derived cells isolated from bone lesion biopsies. Through live/dead staining and an altered expression of Ki67 and EpCAM, the authors concluded that the scaffolds supported cell proliferation. Scaffolds of the same type were also seeded with patient-derived triple-negative breast cancer cells and were found to promote cisplatin resistance in relation to 2D culture. Cui et al. have devised a three-compartment model to study breast cancer bone invasion [85]. Their model consisted of 3D-bioprinted compartments of bone (nano hydroxyapatite-laden gelatin [GelMA] and polyethylene glycol diacrylate [PEGDA] ink), blood vessel (GelMA), and tumor (GelMA/PEGDA) seeded with osteoblasts, human umbilical vein endothelial cells (HUVEC), and MCF7 or MDA-MB-231 cells, respectively. The constructs supported cell proliferation and migration, especially

of the latter, invasive cell line. Mollica et al. used an entirely different approach to ECM preparation, as they developed a self-gelating hydrogel created from decellularized rat or human breast tissue [86]. MCF-7 and MDA-MB-468 cells were printed onto the scaffolds and cultured for up to 14 days. Subsequent analyses have shown that the constructs promoted cell engraftment and invasion and supported organoid/tumoroid formation.

4.2. Glioma

The TME of gliomas, especially that of glioblastoma multiforme (GBM), can be divided into three main components: the ECM, the surrounding cells, and the hypoxia gradient [87]. Wang et al. used glioma stem cells of the GSC23 line, suspended them in an alginate/transglutaminase/fibrinogen/thrombin bioink, and subsequently printed a 3D grid-like structure [88]. The cells within the construct displayed stable proliferation and in time formed spheroids, which were harvested for analyses at day 15. The authors reported an increased concentration of VEGF in the culture medium relative to 2D controls, as well as an increased expression of CD31, VEGFR2, HIF-1 α , and CD133 compared to suspension-cultured controls, which was interpreted as a stronger angiogenic potential. In another study, the team focused on U118 cells, and using the same printing method, investigated the markers of epithelial-mesenchymal transition (EMT) [89]. Compared to 2D controls, 3D-cultured U118 cells demonstrated an increased transcriptional activity of genes encoding molecules related to EMT: HIF-1 α , Snail, Twist, and VEGF. In a subsequent study, GSC23 and U118 cells were suspended in alginate, then bioprinted and cultured to form spheroids [90]. The cells of both types were resuspended and implanted into nude mice. GSC23 cells presented a greater capacity to transdifferentiate into an endothelial-like phenotype and formed lumen-containing structures within the tumor. In another study by the same team [47], bioprinted fibers comprised of a GSC23 shell and U118 core to mimic the pathophysiological cellular arrangement in vivo. These constructs exhibited an increased expression of markers of tumor invasion and drug resistance (matrix metalloproteinase-2 and -9 [MMP2, MMP9], vascular endothelial growth factor receptor-2 [VEGFR2], and O6-methylguanine-DNA methyltransferase [MGMT]) when compared to solely U118-printed fibers. Hermida et al. used alginate/RGD (Arg-Gly-Asp peptide sequence) bioink, which they first tested with U87MG glioblastoma cells and MM6 monocytes/macrophages [91]. After proving the viability of the model, their main experiment focused on glioblastoma stem cells (G7/G144/G166 cell lines) coprinted alongside glioma associated stromal cells and microglia. Compared with 2D cultures, bioprinted glioblastoma stem cells did not lose the expression of the pluripotency marker Nestin or gain the expression of the glial lineage marker GFAP, even after ceasing their exposure to EGF and FGF in the culture media. Bioprinted U87MG and G7 cells demonstrated greater resistance to temozolomide and cisplatin compared to traditional culture. The addition of MM6 to the U87MG-containing bioink further increased the resistance to cisplatin. Another team studied the effects of ECM stiffness using GMHA (stiff) and GelMA (soft) bioinks [92]. The stiff culture conditions altered the transcriptional profiles of TS576 cells, elevating the expression of *CHI3L1*, *IFIT1*, *OAS1*, *TMEM45A*, *SAMD9*, *IFI6*, *NDRG1*, *FNI*, *AQP4*, *AL136131.3*, *SPPI*, *APOL4*, *VEGFA*, *SCG3*, *APOL6*, *DDX58*, *CA IX*, *HIF1A*, *SLC2A1*, and *PROM1*—genes associated with hypoxia-induced chemoresistance, adhesion, proliferation, angiogenesis, tumor edema, migration, and immune evasion of glioblastoma. The incorporation of HUVEC cells to the stiff model produced sprouted blood-vessel like protrusions in close contact with the SOX2+ TS576 cells. Both 3D culture conditions increased the TS576 resistance to temozolomide, although the effect was stronger in the stiffer ECM, and further amplified by the addition of HUVECs. Neufeld et al. fabricated a complex perfusable model of glioblastoma using a fibrin bioink containing patient-derived glioblastoma cells, human astrocytes and human microglia [93]. The vessels of the construct were sacrificially printed and seeded with HUVECs and human microvascular brain pericytes. Fibrin bioink was subsequently used with the cells' murine counterparts, and the transcriptomic profiles of 2D-, 3D-printed, and murine in vivo models were compared, showing close similarities

in gene expression of cells cultured *in vivo* and in the 3D bioprinted system. Heinrich et al. used a GelMA/gelatin bioink to study the interactions between murine GL261 glioblastoma cells and murine RAW264.7 macrophages in a sophisticated model of 3D-bioprinted mini-brain [53]. Compared to solely paracrine mediated contact conditions, RAW264.7 in the co-printed model exhibited increased expression of *Fgf2*, *Il-1 β* , *Arg-1*, *Nos2*, *Fgfr1*, *Il-10*, *Il-6*, *Mmp2*, and *Mmp9*, which are consistent with the transcriptional profile of glioblastoma associated macrophages. In turn, the GL261 cells of the co-printed model shown increased expression of *Spp1*, *Gfap*, *Chil1*, *Olig2*, *Pdgfr β* , and *Timp1* alongside genes responsible for EMT—*Vim*, *Nest*, and loss of E-cadherin expression.

5. 3D-Bioprinting Applications in Hematological Neoplasm Microenvironment Research

Hematological malignancies, often called non-solid cancers, are a heterogeneous group of neoplasms usually arising from the lymphoid or myeloid lineage. The most typical niches of these cancers include the bone marrow (leukemias, multiple myeloma, myeloproliferative neoplasms) and lymphoid tissues (lymphomas). *In vitro* modeling of these diseases remains a challenge due to the structural complexity and dynamic nature of the TME (multiple cell types, myriad of para- and juxtacrine interactions) [94]. Thus, there is a scarcity of published research involving 3D-bioprinted constructs. Nevertheless, Sbrana et al. produced a long-term 3D-printed chronic lymphocytic leukemia (CLL) model using patient-derived CLL cells and MEC1 cell line suspended in bioink composed of third-party hydrogels (CELLINK) [95]. They have observed a superior viability of the cells in 3D environments (cultured up to 28 days) and significant differences in gene expression between 3D- and 2D-cultured MEC1 cells. They report upregulation of *CXCR3*, *CCL22*, *SELL*, *HCLS1*, *AICDA* (genes associated with leukocyte trafficking, integrin activation, cytoskeletal remodeling, adherence of lymphocytes to endothelial cells in peripheral lymph nodes, migration, trafficking and homing of CLL cells, somatic hypermutation, gene conversion, and class switch recombination in B-lymphocytes), and downregulation of protooncogenes *MYC* and *PIM3*. Patient-derived CLL cells sustained their CD19 and CD5 phenotype for the entire length of culture, as well as an increased surface IgM expression. Compared to the 2D culture, 3D-printed primary CLL cells exhibited a decreased expression of proapoptotic *BAX* and an increased expression of antiapoptotic *BCL2*. Brahm et al. devised a multiple myeloma model in which patient derived CD138+ cells were co-cultured alongside MSC and endothelial progenitor cells (EPCs) on a bioprinted calcium phosphate cement scaffold [96]. CD138+ cells were viable up to 28 days and sustained proliferation, reaching an average relative contribution to the construct of 40.8% on day 28, from 6.8% on day 7. Wu et al. co-cultured multiple myeloma cells with HS5 stromal cells in a bioprinted construct (stiff mineral outer layer, soft hydrogel core) and compared cell viability to 2D culture [97]. The constructs supported cell viability for 7 days, whereas the 2D environment for only up to 5 days.

Post-transplantation lymphoproliferative disease (PTLD) is a peculiar form of lymphoid neoplasm as it only arises in the immunosuppressed population and is characterized by relatively frequent extranodal involvement when compared to lymphomas arising in immunocompetent patients [98,99]. According to the current WHO classification of lymphoid neoplasms [100], the monomorphic subtype includes all currently recognized types of non-indolent lymphoid neoplasms (including multiple myeloma). These facts combined, there seems to exist a possibility to circumnavigate the challenges of replicating the bone marrow and lymphatic tissue niches by using PTLD cells already adapted for extranodal growth. A successful non-bioprinted 3D spheroid model of immunocompetent DLBCL co-cultured with ADSCs devised by Foxall et al. [101] confirms the relevance of aggressive lymphoma culture in solid environments. Potential PTLD models would serve only as an approximation of lymphomas in the immunocompetent, as the mechanisms driving the development of malignancy are different from their immunocompetent counterparts—PTLD's development is more frequently associated with the Epstein–Barr virus (EBV) infection,

decreased immune surveillance due to immunosuppression, chronic inflammation, and immune exhaustion [102,103].

6. 3D-Bioprinting in Modeling Tumor Evasion Mechanisms

As tumor immune evasion mechanisms are recognized to be a key component in the development, propagation, and treatment resistance in malignancy, it is of utmost importance to create in vitro the immune-competent tissue models for studying the tumor immunobiology and evaluation of immunotherapies. Due to the high complexity of this task and the emerging nature of 3D-bioprinting techniques, this research is at very early stages of development. Yet, the initial studies are extremely promising. At least several models of evasion have already been generated (reviewed in [104]), focusing on, e.g., hiding from detection by the immune system (loss of MHC-I and -II, CD58, CD86, CD80, CD54), resistance to apoptosis (expression of PI9, cFLIP, overexpression of BCL2, loss of FAS or TRAIL), direct inhibition of immune cells (expression of PD-L1 and 2, HLA-G, FasL, CD47), and creation of an immunosuppressive TME (secretion of IL10 and TGF β , recruitment and promotion of Treg and TAM). As described earlier in the text, a number of 3D-printed models exhibit molecular signatures of supporting cell dedifferentiation, which is associated with the expression of CD80, PD-L1 and NKGD2 [105]. Examples of other attempts to study the immune evasion with 3D-bioprinting are presented below.

Kim et al. fabricated a bioprinted bladder cancer model using T24 and 5637 bladder cancer cell lines alongside HUVEC and MRC-5 human lung fibroblasts to evaluate its effect on THP-1 human monocyte response to *Bacillus Calmette–Guerin* (BCG) [106]. They report a favorable secretion profile of THP-1 (IL6, IL12, IFN- γ and TNF- α), concurrent with clinically observed effects of BCG treatment.

Chirivi et al. used poly(ethylene glycol)-fibrinogen (PEG-FB) hydrogels of varying stiffness mimicking those of ‘healthy’ ECM and that of triple-negative breast cancer on the phenotype and gene expression of infiltrating CD4+ and CD8+ lymphocytes from healthy donors [107]. They reported a decrease in cell volume in both resting phase T-cell types, more pronounced in the stiffer matrix. The effect was opposite in activated T-cells—both exhibited a marked increase in cell volume. Independently of their phase, both cell types exhibited an increase of nuclear diameter in the stiffer matrix. Furthermore, the transcriptome of activated CD8+ cells in the stiff matrix has shown a downregulation of NFKB1, NFKB2, RelA, and SP1, which coincided with a decrease of IFN- γ production—which the authors claim to represent a decreased cytotoxic potential. Activated CD4+ cells upregulated NFKB1, RelA, and A20, which is conducive to Treg phenotype development.

Although not specifically in bioprinted systems, various properties of 3D culture environments have been shown to affect immune cell function. ECM stiffness, topography, pressure gradient, and fiber organization influence immune cell mobility [108–110]. Hypoxia gradient of the tumor and associated acidification of the TEM along with high lactate concentrations hamper NK and T-cell cytolytic activity, proliferation, and cytokine production [111]. These factors are easily controlled in 3D-bioprinting systems. Melanoma cells cultured in 3D environments have been shown to produce greater concentrations of IL10 than 2D controls, allowing for the impairment of monocyte-to-dendritic-cell differentiation and subsequent M2 macrophage emergence [112].

Regarding immunotherapies, a notable work was done by Grunewald et al. [113]. Specifically, this research team produced a 3D-bioprinted neuroblastoma model for the optimization of chimeric antigen receptor T-cell therapy (CAR-T) [113]. Through immunofluorescent microscopy, it was possible to confirm CAR-T’s ability to infiltrate the bioprinted construct and lyse an average of 72% of neuroblastoma cells post-exposure. By proxy, this also proves the rationale of 3D-bioprinted model usage as platforms for studying the interactions between the immune system, malignant cells, and their TME, and also testing anticancer immunotherapeutic approaches, such as other adoptive therapies [114] or immune checkpoint-modulating agents [115].

In summary, it is becoming obvious that 3D-bioprinting methods are highly promising in studies on tumor immune evasion. As several models have already been established, one should expect further development of these approaches in tumor immunobiology research. However, some obstacles are evident, such as difficulties in mimicking blood flow or lymphatic efflux, and thus mimicking the metastatic process. Perhaps combination of 3D-bioprinting with microfluidics could be a solution for generating biomimetic tissues for tumor-related studies [116].

7. Conclusions

In this review, we discuss the recent advances in 3D-bioprinting methods from the perspective of preclinical modeling of intrinsic molecular mechanisms within TME that can induce T cell dysfunction and hamper the anticancer immune response. It is envisioned that due to a new generation of increasingly sophisticated 3D in vitro models, we can progressively better understand these underlying mechanisms and lay a foundation for new successful immunotherapies that would battle this deadly disease.

Author Contributions: Conceptualization, R.S., K.M., Z.P., R.Z.; writing—original draft preparation, R.S., A.M., K.R., R.Z.; writing—review and editing, R.S., A.M., K.R., R.Z.; visualization, R.Z.; supervision, K.M., Z.P., R.Z.; funding acquisition, K.M., Z.P., R.Z. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: No external funds. Internal funds within Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology (Warsaw, Poland) under the “BIODRUK-CAR” project.

Institutional Review Board Statement: The work with mesenchymal stem cells (MSC) presented in Figure 3 was approved by the Local Bioethical Committee at the Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology (approval No. 33/2021).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from the anonymized donor(s) of MSC according to the approval by the Local Bioethical Committee (see above).

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Khalaf, K.; Hana, D.; Chou, J.T.; Singh, C.; Mackiewicz, A.; Kaczmarek, M. Aspects of the Tumor Microenvironment Involved in Immune Resistance and Drug Resistance. *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 656364. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Morton, J.J.; Bird, G.; Refaelli, Y.; Jimeno, A. Humanized Mouse Xenograft Models: Narrowing the Tumor-Microenvironment Gap. *Cancer Res.* **2016**, *76*, 6153–6158. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Hanahan, D.; Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cel* **2000**, *100*, 57–70. [\[CrossRef\]](#)
4. Doig, K.D.; Fellowes, A.; Scott, P.; Fox, S.B. Tumour mutational burden: An overview for pathologists. *Pathology* **2022**, *54*, 249–253. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Hanahan, D.; Weinberg, R.A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cel* **2011**, *144*, 646–674. [\[CrossRef\]](#)
6. Cho, S.E.; Anderson, K.C.; Tai, Y.T. Microenvironment Is a Key Determinant of Immune Checkpoint Inhibitor Response. *Clin. Cancer Res.* **2022**, *28*, 1479–1481. [\[CrossRef\]](#)
7. Yang, A.; Wu, M.; Ni, M.; Zhang, L.; Li, M.; Wei, P.; Yang, Y.; Xiao, W.; An, X. A risk scoring system based on tumor microenvironment cells to predict prognosis and immune activity in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer* **2022**, *29*, 468–477. [\[CrossRef\]](#)
8. Chen, S.M.Y.; Popolizio, V.; Woolaver, R.A.; Ge, H.; Krinsky, A.L.; John, J.; Danis, E.; Ke, Y.; Kramer, Y.; Bian, L.; et al. Differential responses to immune checkpoint inhibitor dictated by pre-existing differential immune profiles in squamous cell carcinomas caused by same initial oncogenic drivers. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2022**, *41*, 123. [\[CrossRef\]](#)
9. Ong, S.T.; Ng, A.S.; Ng, X.R.; Zhuang, Z.; Wong, B.H.S.; Prasanna, P.; Kok, Y.J.; Bi, X.; Shim, H.; Wulff, H.; et al. Extracellular K(+) Dampens T Cell Functions: Implications for Immune Suppression in the Tumor Microenvironment. *Bioelectricity* **2019**, *1*, 169–179. [\[CrossRef\]](#)
10. Karpisheh, V.; Ahmadi, M.; Abbaszadeh-Goudarzi, K.; Mohammadpour Saray, M.; Barshidi, A.; Mohammadi, H.; Yousefi, M.; Jadidi-Niaragh, F. The role of Th17 cells in the pathogenesis and treatment of breast cancer. *Cancer Cell Int.* **2022**, *22*, 108. [\[CrossRef\]](#)

11. Basu, A.; Ramamoorthi, G.; Albert, G.; Gallen, C.; Beyer, A.; Snyder, C.; Koski, G.; Disis, M.L.; Czerniecki, B.J.; Kodumudi, K. Differentiation and Regulation of TH Cells: A Balancing Act for Cancer Immunotherapy. *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 669474. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Qu, X.; Tang, Y.; Hua, S. Immunological Approaches Towards Cancer and Inflammation: A Cross Talk. *Front. Immunol.* **2018**, *9*, 563. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Yuan, H.; Lin, Z.; Liu, Y.; Jiang, Y.; Liu, K.; Tu, M.; Yao, N.; Qu, C.; Hong, J. Intrahepatic cholangiocarcinoma induced M2-polarized tumor-associated macrophages facilitate tumor growth and invasiveness. *Cancer Cell Int.* **2020**, *20*, 586. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Kimura, S.; Nanbu, U.; Noguchi, H.; Harada, Y.; Kumamoto, K.; Sasaguri, Y.; Nakayama, T. Macrophage CCL22 expression in the tumor microenvironment and implications for survival in patients with squamous cell carcinoma of the tongue. *J. Oral. Pathol. Med.* **2019**, *48*, 677–685. [\[CrossRef\]](#)
15. Huang, X.; Zhang, X.; Li, E.; Zhang, G.; Wang, X.; Tang, T.; Bai, X.; Liang, T. VISTA: An immune regulatory protein checking tumor and immune cells in cancer immunotherapy. *J. Hematol. Oncol.* **2020**, *13*, 83. [\[CrossRef\]](#)
16. Shaul, M.E.; Fridlender, Z.G. The dual role of neutrophils in cancer. *Semin. Immunol.* **2021**, *57*, 101582. [\[CrossRef\]](#)
17. Liang, W.; Chen, X.; Zhang, S.; Fang, J.; Chen, M.; Xu, Y.; Chen, X. Mesenchymal stem cells as a double-edged sword in tumor growth: Focusing on MSC-derived cytokines. *Cell. Mol. Biol. Lett.* **2021**, *26*, 3. [\[CrossRef\]](#)
18. Fu, T.; Dai, L.J.; Wu, S.Y.; Xiao, Y.; Ma, D.; Jiang, Y.Z.; Shao, Z.M. Spatial architecture of the immune microenvironment orchestrates tumor immunity and therapeutic response. *J. Hematol. Oncol.* **2021**, *14*, 98. [\[CrossRef\]](#)
19. Wu, Y.; Cheng, M.; Huang, S.; Pei, Z.; Zuo, Y.; Liu, J.; Yang, K.; Zhu, Q.; Zhang, J.; Hong, H.; et al. Recent Advances of Deep Learning for Computational Histopathology: Principles and Applications. *Cancers* **2022**, *14*, 1199. [\[CrossRef\]](#)
20. Ng, T.S.C.; Allen, H.H.; Rashidian, M.; Miller, M.A. Probing immune infiltration dynamics in cancer by in vivo imaging. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2022**, *67*, 102117. [\[CrossRef\]](#)
21. Bouchard, G.; Garcia-Marques, F.J.; Karacosta, L.G.; Zhang, W.; Bermudez, A.; Riley, N.M.; Varma, S.; Mehl, L.C.; Benson, J.A.; Shrager, J.B.; et al. Multiomics Analysis of Spatially Distinct Stromal Cells Reveals Tumor-Induced O-Glycosylation of the CDK4-pRB Axis in Fibroblasts at the Invasive Tumor Edge. *Cancer Res.* **2022**, *82*, 648–664. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Baldominos, P.; Barbera-Mouelle, A.; Barreiro, O.; Huang, Y.; Wight, A.; Cho, J.W.; Zhao, X.; Estivill, G.; Adam, I.; Sanchez, X.; et al. Quiescent cancer cells resist T cell attack by forming an immunosuppressive niche. *Cell* **2022**, *185*, 1694–1708. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Augustine, R.; Kalva, S.N.; Ahmad, R.; Zahid, A.A.; Hasan, S.; Nayeem, A.; McClements, L.; Hasan, A. 3D Bioprinted cancer models: Revolutionizing personalized cancer therapy. *Transl. Oncol.* **2021**, *14*, 101015. [\[CrossRef\]](#)
24. Hughes, A.M.; Kolb, A.D.; Shupp, A.B.; Shine, K.M.; Bussard, K.M. Printing the Pathway Forward in Bone Metastatic Cancer Research: Applications of 3D Engineered Models and Bioprinted Scaffolds to Recapitulate the Bone-Tumor Niche. *Cancers* **2021**, *13*, 507. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Derakhshanfar, S.; Mbeleck, R.; Xu, K.; Zhang, X.; Zhong, W.; Xing, M. 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances. *Bioact. Mater.* **2018**, *3*, 144–156. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Cui, X.; Boland, T.; D'Lima, D.D.; Lotz, M.K. Thermal inkjet printing in tissue engineering and regenerative medicine. *Recent Pat. Drug Deliv. Formul.* **2012**, *6*, 149–155. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Takagi, D.; Lin, W.; Matsumoto, T.; Yaginuma, H.; Hemmi, N.; Hatada, S.; Seo, M. High-precision three-dimensional inkjet technology for live cell bioprinting. *Int. J. Bioprint.* **2019**, *5*, 208. [\[CrossRef\]](#)
28. Guo, J.L.; Diaz-Gomez, L.; Xie, V.Y.; Bittner, S.M.; Jiang, E.Y.; Wang, B.; Mikos, A.G. Three-Dimensional Printing of Click Functionalized, Peptide Patterned Scaffolds for Osteochondral Tissue Engineering. *Bioprinting* **2021**, *22*, e00136. [\[CrossRef\]](#)
29. Ouyang, L. Pushing the rheological and mechanical boundaries of extrusion-based 3D bioprinting. *Trends Biotechnol.* **2022**, *40*, 891–902. [\[CrossRef\]](#)
30. Kang, Y.; Datta, P.; Shanmugapriya, S.; Ozbolat, I.T. 3D Bioprinting of Tumor Models for Cancer Research. *ACS Appl. Bio. Mater.* **2020**, *3*, 5552–5573. [\[CrossRef\]](#)
31. Mao, S.; Pang, Y.; Liu, T.; Shao, Y.; He, J.; Yang, H.; Mao, Y.; Sun, W. Bioprinting of in vitro tumor models for personalized cancer treatment: A review. *Biofabrication* **2020**, *12*, 042001. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Grigoryan, B.; Sazer, D.W.; Avila, A.; Albritton, J.L.; Padhye, A.; Ta, A.H.; Greenfield, P.T.; Gibbons, D.L.; Miller, J.S. Development, characterization, and applications of multi-material stereolithography bioprinting. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 3171. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Groll, J.; Burdick, J.A.; Cho, D.W.; Derby, B.; Gelinsky, M.; Heilshorn, S.C.; Jungst, T.; Malda, J.; Mironov, V.A.; Nakayama, K.; et al. A definition of bioinks and their distinction from biomaterial inks. *Biofabrication* **2018**, *11*, 013001. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Levato, R.; Jungst, T.; Scheuring, R.G.; Blunk, T.; Groll, J.; Malda, J. From Shape to Function: The Next Step in Bioprinting. *Adv. Mater.* **2020**, *32*, e1906423. [\[CrossRef\]](#)
35. Malda, J.; Visser, J.; Melchels, F.P.; Jungst, T.; Hennink, W.E.; Dhert, W.J.; Groll, J.; Huttmacher, D.W. 25th anniversary article: Engineering hydrogels for biofabrication. *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 5011–5028. [\[CrossRef\]](#)
36. Hospodiuk, M.; Dey, M.; Sosnoski, D.; Ozbolat, I.T. The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials. *Biotechnol. Adv.* **2017**, *35*, 217–239. [\[CrossRef\]](#)
37. Gungor-Ozkerim, P.S.; Inci, L.; Zhang, Y.S.; Khademhosseini, A.; Dokmeci, M.R. Bioinks for 3D bioprinting: An overview. *Biomater. Sci.* **2018**, *6*, 915–946. [\[CrossRef\]](#)

38. Datta, P.; Dey, M.; Ataie, Z.; Unutmaz, D.; Ozbolat, I.T. 3D bioprinting for reconstituting the cancer microenvironment. *NPJ Precis. Oncol.* **2020**, *4*, 18. [\[CrossRef\]](#)
39. Axpe, E.; Oyen, M.L. Applications of Alginate-Based Bioinks in 3D Bioprinting. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, 1976. [\[CrossRef\]](#)
40. Osidak, E.O.; Kozhukhov, V.I.; Osidak, M.S.; Domogatsky, S.P. Collagen as Bioink for Bioprinting: A Comprehensive Review. *Int. J. Bioprint.* **2020**, *6*, 270. [\[CrossRef\]](#)
41. Dai, X.; Ma, C.; Lan, Q.; Xu, T. 3D bioprinted glioma stem cells for brain tumor model and applications of drug susceptibility. *Biofabrication* **2016**, *8*, 045005. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Zhao, Y.; Yao, R.; Ouyang, L.; Ding, H.; Zhang, T.; Zhang, K.; Cheng, S.; Sun, W. Three-dimensional printing of Hela cells for cervical tumor model in vitro. *Biofabrication* **2014**, *6*, 035001. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Yue, K.; Trujillo-de Santiago, G.; Alvarez, M.M.; Tamayol, A.; Annabi, N.; Khademhosseini, A. Synthesis, properties, and biomedical applications of gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels. *Biomaterials* **2015**, *73*, 254–271. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Nichol, J.W.; Koshy, S.T.; Bae, H.; Hwang, C.M.; Yamanlar, S.; Khademhosseini, A. Cell-laden microengineered gelatin methacrylate hydrogels. *Biomaterials* **2010**, *31*, 5536–5544. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Yi, H.G.; Jeong, Y.H.; Kim, Y.; Choi, Y.J.; Moon, H.E.; Park, S.H.; Kang, K.S.; Bae, M.; Jang, J.; Youn, H.; et al. A bioprinted human-glioblastoma-on-a-chip for the identification of patient-specific responses to chemoradiotherapy. *Nat. Biomed. Eng.* **2019**, *3*, 509–519. [\[CrossRef\]](#)
46. Reid, J.A.; Palmer, X.L.; Mollica, P.A.; Northam, N.; Sachs, P.C.; Bruno, R.D. A 3D bioprinter platform for mechanistic analysis of tumoroids and chimeric mammary organoids. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 7466. [\[CrossRef\]](#)
47. Wang, X.; Li, X.; Dai, X.; Zhang, X.; Zhang, J.; Xu, T.; Lan, Q. Coaxial extrusion bioprinted shell-core hydrogel microfibers mimic glioma microenvironment and enhance the drug resistance of cancer cells. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2018**, *171*, 291–299. [\[CrossRef\]](#)
48. Zhang, J.; Chen, F.; He, Z.; Ma, Y.; Uchiyama, K.; Lin, J.M. A novel approach for precisely controlled multiple cell patterning in microfluidic chips by inkjet printing and the detection of drug metabolism and diffusion. *Analyst* **2016**, *141*, 2940–2947. [\[CrossRef\]](#)
49. Schmidt, S.K.; Schmid, R.; Arkudas, A.; Kengelbach-Weigand, A.; Bosserhoff, A.K. Tumor Cells Develop Defined Cellular Phenotypes After 3D-Bioprinting in Different Bioinks. *Cells* **2019**, *8*, 1295. [\[CrossRef\]](#)
50. Kolesky, D.B.; Truby, R.L.; Gladman, A.S.; Busbee, T.A.; Homan, K.A.; Lewis, J.A. 3D bioprinting of vascularized, heterogeneous cell-laden tissue constructs. *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 3124–3130. [\[CrossRef\]](#)
51. Hribar, K.C.; Finlay, D.; Ma, X.; Qu, X.; Oudek, M.G.; Chung, P.H.; Zanella, F.; Engler, A.J.; Sheikh, F.; Vuori, K.; et al. Nonlinear 3D projection printing of concave hydrogel microstructures for long-term multicellular spheroid and embryoid body culture. *Lab. Chip.* **2015**, *15*, 2412–2418. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
52. Parrish, J.; Lim, K.S.; Baer, K.; Hooper, G.J.; Woodfield, T.B.F. A 96-well microplate bioreactor platform supporting individual dual perfusion and high-throughput assessment of simple or biofabricated 3D tissue models. *Lab. Chip.* **2018**, *18*, 2757–2775. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Heinrich, M.A.; Bansal, R.; Lammers, T.; Zhang, Y.S.; Michel Schiffelers, R.; Prakash, J. 3D-Bioprinted Mini-Brain: A Glioblastoma Model to Study Cellular Interactions and Therapeutics. *Adv. Mater.* **2019**, *31*, e1806590. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
54. Duchamp, M.; Liu, T.; van Genderen, A.M.; Kappings, V.; Oklu, R.; Ellisen, L.W.; Zhang, Y.S. Sacrificial Bioprinting of a Mammary Ductal Carcinoma Model. *Biotechnol. J.* **2019**, *14*, e1700703. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
55. Hakobyan, D.; Medina, C.; Dusserre, N.; Stachowicz, M.L.; Handschin, C.; Fricain, J.C.; Guillermet-Guibert, J.; Oliveira, H. Laser-assisted 3D bioprinting of exocrine pancreas spheroid models for cancer initiation study. *Biofabrication* **2020**, *12*, 035001. [\[CrossRef\]](#)
56. Langer, E.M.; Allen-Petersen, B.L.; King, S.M.; Kendersky, N.D.; Turnidge, M.A.; Kuziel, G.M.; Riggers, R.; Samatham, R.; Amery, T.S.; Jacques, S.L.; et al. Modeling Tumor Phenotypes In Vitro with Three-Dimensional Bioprinting. *Cell Rep.* **2019**, *26*, 608–623. [\[CrossRef\]](#)
57. Jiang, T.; Munguia-Lopez, J.G.; Flores-Torres, S.; Grant, J.; Vijayakumar, S.; Leon-Rodriguez, A.; Kinsella, J.M. Directing the Self-assembly of Tumour Spheroids by Bioprinting Cellular Heterogeneous Models within Alginate/Gelatin Hydrogels. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 4575. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
58. Wang, Y.; Shi, W.; Kuss, M.; Mirza, S.; Qi, D.; Krasnoslobodtsev, A.; Zeng, J.; Band, H.; Band, V.; Duan, B. 3D Bioprinting of Breast Cancer Models for Drug Resistance Study. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2018**, *4*, 4401–4411. [\[CrossRef\]](#)
59. Wang, Z.; Zhao, S.; Lin, X.; Chen, G.; Kang, J.; Ma, Z.; Wang, Y.; Li, Z.; Xiao, X.; He, A.; et al. Application of Organoids in Carcinogenesis Modeling and Tumor Vaccination. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, 855996. [\[CrossRef\]](#)
60. Vogt, N. Assembloids. *Nat. Methods* **2021**, *18*, 27. [\[CrossRef\]](#)
61. Kim, E.; Choi, S.; Kang, B.; Kong, J.; Kim, Y.; Yoon, W.H.; Lee, H.R.; Kim, S.; Kim, H.M.; Lee, H.; et al. Creation of bladder assembloids mimicking tissue regeneration and cancer. *Nature* **2020**, *588*, 664–669. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
62. Furbo, S.; Urbano, P.C.M.; Raskov, H.H.; Troelsen, J.T.; Kanstrup Fiehn, A.M.; Gogenur, I. Use of Patient-Derived Organoids as a Treatment Selection Model for Colorectal Cancer: A Narrative Review. *Cancers* **2022**, *14*, 1069. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
63. Foo, M.A.; You, M.; Chan, S.L.; Sethi, G.; Bonney, G.K.; Yong, W.P.; Chow, E.K.; Fong, E.L.S.; Wang, L.; Goh, B.C. Clinical translation of patient-derived tumour organoids: bottlenecks and strategies. *Biomark Res.* **2022**, *10*, 10. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
64. Sun, C.P.; Lan, H.R.; Fang, X.L.; Yang, X.Y.; Jin, K.T. Organoid Models for Precision Cancer Immunotherapy. *Front. Immunol.* **2022**, *13*, 770465. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

65. Ren, Y.; Yang, X.; Ma, Z.; Sun, X.; Zhang, Y.; Li, W.; Yang, H.; Qiang, L.; Yang, Z.; Liu, Y.; et al. Developments and Opportunities for 3D Bioprinted Organoids. *Int. J. Bioprint.* **2021**, *7*, 364. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
66. Wu, D.; Berg, J.; Arlt, B.; Rohrs, V.; Al-Zeer, M.A.; Deubzer, H.E.; Kurreck, J. Bioprinted Cancer Model of Neuroblastoma in a Renal Microenvironment as an Efficiently Applicable Drug Testing Platform. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *23*, 122. [\[CrossRef\]](#)
67. Duarte Campos, D.E.; Bonnin Marquez, A.; O'Seanain, C.; Fischer, H.; Blaeser, A.; Vogt, M.; Corallo, D.; Aveic, S. Exploring Cancer Cell Behavior In Vitro in Three-Dimensional Multicellular Bioprintable Collagen-Based Hydrogels. *Cancers* **2019**, *11*, 180. [\[CrossRef\]](#)
68. Duan, J.; Cao, Y.; Shen, Z.; Cheng, Y.; Ma, Z.; Wang, L.; Zhang, Y.; An, Y.; Sang, S. 3D bioprinted GelMA/PEGDA hybrid scaffold for establishing in-vitro model of melanoma. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2022**, *32*, 531–540. [\[CrossRef\]](#)
69. Jeong, Y.M.; Bang, C.; Park, M.; Shin, S.; Yun, S.; Kim, C.M.; Jeong, G.; Chung, Y.J.; Yun, W.S.; Lee, J.H.; et al. 3D-Printed Collagen Scaffolds Promote Maintenance of Cryopreserved Patients-Derived Melanoma Explants. *Cells* **2021**, *10*, 589. [\[CrossRef\]](#)
70. Hou, S.; Tiriach, H.; Sridharan, B.P.; Scampavia, L.; Madoux, F.; Seldin, J.; Souza, G.R.; Watson, D.; Tuveson, D.; Spicer, T.P. Advanced Development of Primary Pancreatic Organoid Tumor Models for High-Throughput Phenotypic Drug Screening. *SLAS Discov.* **2018**, *23*, 574–584. [\[CrossRef\]](#)
71. Mondal, A.; Gebeyehu, A.; Miranda, M.; Bahadur, D.; Patel, N.; Ramakrishnan, S.; Rishi, A.K.; Singh, M. Characterization and printability of Sodium alginate–Gelatin hydrogel for bioprinting NSCLC co-culture. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 19914. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
72. Ma, X.; Yu, C.; Wang, P.; Xu, W.; Wan, X.; Lai, C.S.E.; Liu, J.; Koroleva-Maharajh, A.; Chen, S. Rapid 3D bioprinting of decellularized extracellular matrix with regionally varied mechanical properties and biomimetic microarchitecture. *Biomaterials* **2018**, *185*, 310–321. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
73. Lin, Y.; Yang, Y.; Yuan, K.; Yang, S.; Zhang, S.; Li, H.; Tang, T. Multi-omics analysis based on 3D-bioprinted models innovates therapeutic target discovery of osteosarcoma. *Bioact. Mater.* **2022**, *18*, 459–470. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
74. Belgodere, J.A.; King, C.T.; Bursavich, J.B.; Burrow, M.E.; Martin, E.C.; Jung, J.P. Engineering Breast Cancer Microenvironments and 3D Bioprinting. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2018**, *6*, 66. [\[CrossRef\]](#)
75. Bahcecioglu, G.; Basara, G.; Ellis, B.W.; Ren, X.; Zorlutuna, P. Breast cancer models: Engineering the tumor microenvironment. *Acta Biomater.* **2020**, *106*, 1–21. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
76. Cleversey, C.; Robinson, M.; Willerth, S.M. 3D Printing Breast Tissue Models: A Review of Past Work and Directions for Future Work. *Micromachines* **2019**, *10*, 501. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
77. Chaji, S.; Al-Saleh, J.; Gomillion, C.T. Bioprinted Three-Dimensional Cell-Laden Hydrogels to Evaluate Adipocyte–Breast Cancer Cell Interactions. *Gels* **2020**, *6*, 10. [\[CrossRef\]](#)
78. Bojin, F.; Robu, A.; Bejenariu, M.I.; Ordodi, V.; Olteanu, E.; Cean, A.; Popescu, R.; Neagu, M.; Gavriluc, O.; Neagu, A.; et al. 3D Bioprinting of Model Tissues That Mimic the Tumor Microenvironment. *Micromachines* **2021**, *12*, 535. [\[CrossRef\]](#)
79. Horder, H.; Guaza Lasheras, M.; Grummel, N.; Nadernezhad, A.; Herbig, J.; Ergun, S.; Tessmar, J.; Groll, J.; Fabry, B.; Bauer-Kreisel, P.; et al. Bioprinting and Differentiation of Adipose-Derived Stromal Cell Spheroids for a 3D Breast Cancer-Adipose Tissue Model. *Cdls* **2021**, *10*, 803. [\[CrossRef\]](#)
80. Polonio-Alcala, E.; Rabionet, M.; Guerra, A.J.; Yeste, M.; Ciurana, J.; Puig, T. Screening of Additive Manufactured Scaffolds Designs for Triple Negative Breast Cancer 3D Cell Culture and Stem-Like Expansion. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 3148. [\[CrossRef\]](#)
81. Rosendahl, J.; Svanstrom, A.; Berglin, M.; Petronis, S.; Bogestal, Y.; Stenlund, P.; Standoft, S.; Stahlberg, A.; Landberg, G.; Chinga-Carrasco, G.; et al. 3D Printed Nanocellulose Scaffolds as a Cancer Cell Culture Model System. *Bioengineering* **2021**, *8*, 97. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
82. Hong, S.; Song, J.M. 3D bioprinted drug-resistant breast cancer spheroids for quantitative in situ evaluation of drug resistance. *Acta Biomater.* **2022**, *138*, 228–239. [\[CrossRef\]](#)
83. Svanstrom, A.; Rosendahl, J.; Salerno, S.; Leiva, M.C.; Gregersson, P.; Berglin, M.; Bogestal, Y.; Lausmaa, J.; Oko, A.; Chinga-Carrasco, G.; et al. Optimized alginate-based 3D printed scaffolds as a model of patient derived breast cancer microenvironments in drug discovery. *Biomed. Mater.* **2021**, *16*, 045046. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
84. Han, W.; El Botty, R.; Montaudon, E.; Malaquin, L.; Deschaseaux, F.; Espagnolle, N.; Marangoni, E.; Cottu, P.; Zalman, G.; Parrini, M.C.; et al. In vitro bone metastasis dwelling in a 3D bioengineered niche. *Biomaterials* **2021**, *269*, 120624. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
85. Cui, H.; Esworthy, T.; Zhou, X.; Hann, S.Y.; Glazer, R.I.; Li, R.; Zhang, L.G. Engineering a Novel 3D Printed Vascularized Tissue Model for Investigating Breast Cancer Metastasis to Bone. *Adv. Healthc. Mater.* **2020**, *9*, e1900924. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
86. Mollica, P.A.; Booth-Creech, E.N.; Reid, J.A.; Zamponi, M.; Sullivan, S.M.; Palmer, X.L.; Sachs, P.C.; Bruno, R.D. 3D bioprinted mammary organoids and tumoroids in human mammary derived ECM hydrogels. *Acta Biomater.* **2019**, *95*, 201–213. [\[CrossRef\]](#)
87. Parra-Cantu, C.; Li, W.; Quinones-Hinojosa, A.; Zhang, Y.S. 3D bioprinting of glioblastoma models. *J. 3D Print. Med.* **2020**, *4*, 113–125. [\[CrossRef\]](#)
88. Wang, X.; Li, X.; Dai, X.; Zhang, X.; Zhang, J.; Xu, T.; Lan, Q. Bioprinting of glioma stem cells improves their endotheliogenic potential. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2018**, *171*, 629–637. [\[CrossRef\]](#)
89. Wang, X.; Dai, X.; Zhang, X.; Ma, C.; Li, X.; Xu, T.; Lan, Q. 3D bioprinted glioma cell-laden scaffolds enriching glioma stem cells via epithelial-mesenchymal transition. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2019**, *107*, 383–391. [\[CrossRef\]](#)
90. Wang, X.; Li, X.; Ding, J.; Long, X.; Zhang, H.; Zhang, X.; Jiang, X.; Xu, T. 3D bioprinted glioma microenvironment for glioma vascularization. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2021**, *109*, 915–925. [\[CrossRef\]](#)

91. Hermida, M.A.; Kumar, J.D.; Schwarz, D.; Laverty, K.G.; Di Bartolo, A.; Ardron, M.; Bogomolniji, M.; Clavreul, A.; Brennan, P.M.; Wiegand, U.K.; et al. Three dimensional in vitro models of cancer: Bioprinting multilineage glioblastoma models. *Adv. Biol. Regul.* **2020**, *75*, 100658. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
92. Tang, M.; Tiwari, S.K.; Agrawal, K.; Tan, M.; Dang, J.; Tam, T.; Tian, J.; Wan, X.; Schimelman, J.; You, S.; et al. Rapid 3D Bioprinting of Glioblastoma Model Mimicking Native Biophysical Heterogeneity. *Small* **2021**, *17*, e2006050. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
93. Neufeld, L.; Yeini, E.; Reisman, N.; Shtilerman, Y.; Ben-Shushan, D.; Pozzi, S.; Madi, A.; Tiram, G.; Eldar-Boock, A.; Ferber, S.; et al. Microengineered perfusable 3D-bioprinted glioblastoma model for in vivo mimicry of tumor microenvironment. *Sci. Adv.* **2021**, *7*, eabi9119. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
94. Clara-Trujillo, S.; Gallego Ferrer, G.; Gomez Ribelles, J.L. In Vitro Modeling of Non-Solid Tumors: How Far Can Tissue Engineering Go? *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 5747. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
95. Sbrana, F.V.; Pinos, R.; Barboglio, F.; Ribezzi, D.; Scagnoli, F.; Scarfo, L.; Redwan, I.N.; Martinez, H.; Fare, S.; Ghia, P.; et al. 3D Bioprinting Allows the Establishment of Long-Term 3D Culture Model for Chronic Lymphocytic Leukemia Cells. *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 639572. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
96. Braham, M.V.J.; Ahlfeld, T.; Akkineni, A.R.; Minnema, M.C.; Dhert, W.J.A.; Oner, F.C.; Robin, C.; Lode, A.; Gelinsky, M.; Alblas, J. Endosteal and Perivascular Subniches in a 3D Bone Marrow Model for Multiple Myeloma. *Tissue Eng. Part C Methods* **2018**, *24*, 300–312. [\[CrossRef\]](#)
97. Wu, D.; Wang, Z.; Li, J.; Song, Y.; Perez, M.E.M.; Wang, Z.; Cao, X.; Cao, C.; Maharjan, S.; Anderson, K.C.; et al. A 3D-Bioprinted Multiple Myeloma Model. *Adv. Healthc. Mater.* **2022**, *11*, e2100884. [\[CrossRef\]](#)
98. Dierickx, D.; Habermann, T.M. Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorders in Adults. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378*, 549–562. [\[CrossRef\]](#)
99. Mucha, K.; Foronczewicz, B.; Ziarkiewicz-Wroblewska, B.; Krawczyk, M.; Lerut, J.; Paczek, L. Post-transplant lymphoproliferative disorder in view of the new WHO classification: A more rational approach to a protean disease? *Nephrol. Dial. Transplant.* **2010**, *25*, 2089–2098. [\[CrossRef\]](#)
100. Swerdlow, S.H.; Campo, E.; Pileri, S.A.; Harris, N.L.; Stein, H.; Siebert, R.; Advani, R.; Ghielmini, M.; Salles, G.A.; Zelenetz, A.D.; et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* **2016**, *127*, 2375–2390. [\[CrossRef\]](#)
101. Foxall, R.; Narang, P.; Glaysher, B.; Hub, E.; Teal, E.; Coles, M.C.; Ashton-Key, M.; Beers, S.A.; Cragg, M.S. Developing a 3D B Cell Lymphoma Culture System to Model Antibody Therapy. *Front. Immunol.* **2020**, *11*, 605231. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
102. Marcelis, L.; Tousseyn, T. The Tumor Microenvironment in Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders. *Cancer Microenviron* **2019**, *12*, 3–16. [\[CrossRef\]](#)
103. Mucha, K.; Staros, R.; Foronczewicz, B.; Ziarkiewicz-Wroblewska, B.; Kosieradzki, M.; Nazarewski, S.; Naumnik, B.; Raszeja-Wyszomirska, J.; Zieniewicz, K.; Paczek, L. Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors between Kidney and Liver Transplant Recipients. *Cancers* **2022**, *14*, 1953. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
104. de Charette, M.; Houot, R. Hide or defend, the two strategies of lymphoma immune evasion: Potential implications for immunotherapy. *Haematologica* **2018**, *103*, 1256–1268. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
105. Li, J.; Stanger, B.Z. How Tumor Cell Dedifferentiation Drives Immune Evasion and Resistance to Immunotherapy. *Cancer Res.* **2020**, *80*, 4037–4041. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
106. Kim, J.H.; Lee, S.; Kang, S.J.; Choi, Y.W.; Choi, S.Y.; Park, J.Y.; Chang, I.H. Establishment of Three-Dimensional Bioprinted Bladder Cancer-on-a-Chip with a Microfluidic System Using Bacillus Calmette-Guerin. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 8887. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
107. Chirivi, M.; Maiullari, F.; Milan, M.; Presutti, D.; Cordiglieri, C.; Crosti, M.; Sarnicola, M.L.; Soluri, A.; Volpi, M.; Swieszkowski, W.; et al. Tumor Extracellular Matrix Stiffness Promptly Modulates the Phenotype and Gene Expression of Infiltrating T Lymphocytes. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 5862. [\[CrossRef\]](#)
108. Vesperini, D.; Montalvo, G.; Qu, B.; Lautenschlager, F. Characterization of immune cell migration using microfabrication. *Biophys. Rev.* **2021**, *13*, 185–202. [\[CrossRef\]](#)
109. Di Modugno, F.; Colosi, C.; Trono, P.; Antonacci, G.; Ruocco, G.; Nistico, P. 3D models in the new era of immune oncology: Focus on T cells, CAF and ECM. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2019**, *38*, 117. [\[CrossRef\]](#)
110. Tabdanov, E.D.; Rodriguez-Merced, N.J.; Cartagena-Rivera, A.X.; Puram, V.V.; Callaway, M.K.; Ensminger, E.A.; Pomeroy, E.J.; Yamamoto, K.; Lahr, W.S.; Webber, B.R.; et al. Engineering T cells to enhance 3D migration through structurally and mechanically complex tumor microenvironments. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 2815. [\[CrossRef\]](#)
111. Morrot, A.; da Fonseca, L.M.; Salustiano, E.J.; Gentile, L.B.; Conde, L.; Filardy, A.A.; Franklim, T.N.; da Costa, K.M.; Freire-de-Lima, C.G.; Freire-de-Lima, L. Metabolic Symbiosis and Immunomodulation: How Tumor Cell-Derived Lactate May Disturb Innate and Adaptive Immune Responses. *Front. Oncol.* **2018**, *8*, 81. [\[CrossRef\]](#)
112. Michielon, E.; Lopez Gorzalez, M.; Burm, J.L.A.; Waaijman, T.; Jordanova, E.S.; de Gruijl, T.D.; Gibbs, S. Micro-environmental cross-talk in an organotypic human melanoma-in-skin model directs M2-like monocyte differentiation via IL-10. *Cancer Immunol. Immunother.* **2020**, *69*, 2319–2331. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
113. Grunewald, L.; Lam, T.; Andersch, L.; Klaus, A.; Schwiebert, S.; Winkler, A.; Gauert, A.; Heeren-Hagemann, A.I.; Astrahantseff, K.; Klironomos, F.; et al. A Reproducible Bioprinted 3D Tumor Model Serves as a Preselection Tool for CAR T Cell Therapy Optimization. *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 689697. [\[CrossRef\]](#)

-
114. Lachota, M.; Vincenti, M.; Winiarska, M.; Boye, K.; Zagodzón, R.; Malmberg, K.J. Prospects for NK Cell Therapy of Sarcoma. *Cancers* **2020**, *12*, 3719. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 115. Mathelava, K.; Pilch, Z.; Bajor, M.; Graczyk-Jarzynka, A.; Zagodzón, R. Targeting Negative and Positive Immune Checkpoints with Monoclonal Antibodies in Therapy of Cancer. *Cancers* **2019**, *11*, 1756. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 116. Ma, J.; Wang, Y.; Liu, J. Bioprinting of 3D tissues/organs combined with microfluidics. *RSC Adv.* **2018**, *8*, 21712–21727. [[CrossRef](#)]

7. Podsumowanie i wnioski

7.1 Podsumowanie

PTLD jest istotnym problemem klinicznym dotyczącym biorców przeszczepów narządów mięszowych. W toku przeprowadzonych badań utworzony został wielośrodkowy polski rejestr pacjentów z rozpoznaniem PTLD. Analiza statystyczna zawartych w nim danych pozwoliła na opisanie epidemiologii choroby wśród Polskich biorców przeszczepów nerki, wątroby lub płuc, zdefiniowanie czynników ryzyka i prognostycznych oraz różnego ich wpływu w zależności od rodzaju przeszczepionego narządu. Utworzona na potrzeby tego doktoratu baza danych jest stale rozwijana i mamy nadzieję, że w dalszym ciągu będzie służyła jako platforma do prowadzenia kolejnych badań.

Opisana w publikacji No. 4 technologia biodruku 3D będąca narzędziem pozwalającym na badania nad mikrośrodowiskiem nowotworu i skutecznością nowych metod leczenia chorób nowotworowych, wydaje się mieć zastosowanie w badaniach nad PTLD.

7.2 Wnioski

1. Poszerzono wiedzę na temat czynników ryzyka PTLD, przebiegu oraz rokowania tej choroby wśród pacjentów po transplantacji nerki, wątroby lub płuc w Polsce, na podstawie analizy danych z przygotowanej bazy pacjentów;
2. Zdefiniowano poszczególne czynniki ryzyka oraz prognostyczne dotyczące PTLD, w populacji pacjentów po transplantacji nerki, wątroby lub płuc;
 - a. Czynniki ryzyka wśród KTRs są starszy wiek w momencie KTx, płeć męska oraz stosowanie TAC.
 - b. Czynnikiem ryzyka dla LTRs jest stosowanie cyklosporyny.
 - c. Złym czynnikiem prognostycznym dla KTRs jest starszy wiek w momencie KTx.
 - d. Złym czynnikiem prognostycznym dla LTRs jest PTLD o typie hiperplazji plazmocytovej.
3. Przeprowadzono analizę statystyczną - w tym wieloczynnikową - z wykorzystaniem danych demograficznych i klinicznych, czego efektem było zdefiniowanie najbardziej istotnych czynników ryzyka PTLD;
4. Oceniono teoretyczną przydatność biodruku 3D jako potencjalnego narzędzia pozwalającego na badania TME i nowych metod leczenia w PTLD.

8. Bibliografia

1. International Report on Organ Donation and Transplantation Activities 2023. Dostępny online: <https://www.transplant-observatory.org/wp-content/uploads/2025/02/2023-data-global-report-20022025.pdf> (ostatni dostęp 30.05.2025)
2. Biuletyn informacyjny Poltransplantu 2023. Dostępny online: https://files.poltransplant.org.pl/Biuletyn_2023_www.pdf (ostatni dostęp 30.05.2025).
3. Acuna SA. Etiology of increased cancer incidence after solid organ transplantation. *Transplant Rev (Orlando)*. 2018;32(4):218-224. doi:10.1016/j.trre.2018.07.001
4. Liao JB, Fisher CE, Madeleine MM. Gynecologic cancers and solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2019;19(5):1266-1277. doi:10.1111/ajt.15292
5. Howard MD, Su JC, Chong AH. Skin Cancer Following Solid Organ Transplantation: A Review of Risk Factors and Models of Care. *Am J Clin Dermatol*. 2018;19(4):585-597. doi:10.1007/s40257-018-0355-8
6. Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet*. 2007;370(9581):59-67. doi:10.1016/S0140-6736(07)61050-2
7. Dillibabu T, Laprise C, Nicolau B, Madathil S. Risk of cancer among adult solid organ transplant recipients in Quebec, Canada: 1997-2016. *BMC Cancer*. 2025;25(1):1004. Published 2025 Jun 5. doi:10.1186/s12885-025-14349-9
8. Safaeian M, Robbins HA, Berndt SI, Lynch CF, Fraumeni JF Jr, Engels EA. Risk of Colorectal Cancer After Solid Organ Transplantation in the United States. *Am J Transplant*. 2016;16(3):960-967. doi:10.1111/ajt.13549
9. Galassi C, Chan TA, Vitale I, Galluzzi L. The hallmarks of cancer immune evasion. *Cancer Cell*. 2024;42(11):1825-1863. doi:10.1016/j.ccell.2024.09.010
10. Qu Y, Dou B, Tan H, Feng Y, Wang N, Wang D. Tumor microenvironment-driven non-cell-autonomous resistance to antineoplastic treatment. *Mol Cancer*. 2019;18(1):69. Published 2019 Mar 30. doi:10.1186/s12943-019-0992-4

11. Zilberg C, Lyons JG, Gupta R, Ferguson A, Damian DL. The Tumor Immune Microenvironment in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Arising in Organ Transplant Recipients. *Ann Dermatol.* 2023;35(2):91-99. doi:10.5021/ad.22.175
12. Zhang J, Mizuuchi Y, Ohuchida K, et al. Exploring the tumor microenvironment of colorectal cancer patients post renal transplantation by single-cell analysis. *Cancer Sci.* 2025;116(2):500-512. doi:10.1111/cas.16409
13. Datta RR, Schran S, Persa OD, et al. Post-transplant Malignancies Show Reduced T-cell Abundance and Tertiary Lymphoid Structures as Correlates of Impaired Cancer Immunosurveillance. *Clin Cancer Res.* 2022;28(8):1712-1723. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-3746
14. Stubbins RJ, Lam R, Zhu J, et al. Tumor Infiltrating Lymphocytes Predict Survival in Solid Organ Transplant Recipients With Monomorphic Post-transplant Lymphoproliferative Disorders. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2022;22(10):744-752. doi:10.1016/j.clml.2022.05.006
15. Penn I, Hammond W, Brettschneider L, Starzl TE. Malignant lymphomas in transplantation patients. *Transplant Proc.* 1969;1(1):106-112.
16. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee [published correction appears in Blood. 2023 Jan 26;141(4):437. doi: 10.1182/blood.2022019016.]. *Blood.* 2022;140(11):1229-1253. doi:10.1182/blood.2022015851
17. Alaggio, R., Amador, C., Anagnostopoulos, I. *et al.* The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* **36**, 1720–1748 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01620-2>
18. Koff JL, Li JX, Zhang X, Switchenko JM, Flowers CR, Waller EK. Impact of the posttransplant lymphoproliferative disorder subtype on survival. *Cancer.* 2018;124(11):2327-2336. doi:10.1002/cncr.31339
19. Dierickx D, Habermann TM. Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorders in Adults. *N Engl J Med.* 2018;378(6):549-562. doi:10.1056/NEJMra1702693
20. Gross TG, Rubinstein JD. Post-transplant lymphoproliferative disease in children, adolescents, and young adults. *Hematol Oncol.* 2023;41 Suppl 1:48-56. doi:10.1002/hon.3139

21. Zhao Y, Zhang Q, Zhang B, et al. Epstein-Barr Viruses: Their Immune Evasion Strategies and Implications for Autoimmune Diseases. *Int J Mol Sci*. 2024;25(15):8160. Published 2024 Jul 26. doi:10.3390/ijms25158160
22. Martin SI, Dodson B, Wheeler C, Davis J, Pesavento T, Bumgardner GL. Monitoring infection with Epstein-Barr virus among seromismatch adult renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2011;11(5):1058-1063. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03478.x
23. Dharnidharka VR. Comprehensive review of post-organ transplant hematologic cancers. *Am J Transplant*. 2018;18(3):537-549. doi:10.1111/ajt.14603
24. Abu-Shanab A, Ged Y, Ullah N, Houlihan D, McCormick A. Increased Incidence of Post-transplant Lymphoproliferative Disorder in Autoimmune Liver Disease: An Irish National Experience. *J Clin Exp Hepatol*. 2018;8(1):42-49. doi:10.1016/j.jceh.2017.05.209
25. Coffin CS, Mulrooney-Cousins PM, Michalak TI. Hepadnaviral Lymphotropism and Its Relevance to HBV Persistence and Pathogenesis. *Front Microbiol*. 2021;12:695384. Published 2021 Aug 6. doi:10.3389/fmicb.2021.695384
26. Chen CL, Huang JY, Wang CH, et al. Hepatitis C virus has a genetically determined lymphotropism through co-receptor B7.2. *Nat Commun*. 2017;8:13882. Published 2017 Jan 9. doi:10.1038/ncomms13882
27. Quinlan SC, Pfeiffer RM, Morton LM, Engels EA. Risk factors for early-onset and late-onset post-transplant lymphoproliferative disorder in kidney recipients in the United States. *Am J Hematol*. 2011;86(2):206-209. doi:10.1002/ajh.21911
28. Atallah-Yunes SA, Salman O, Robertson MJ. Post-transplant lymphoproliferative disorder: Update on treatment and novel therapies. *Br J Haematol*. 2023;201(3):383-395. doi:10.1111/bjh.18763
29. Trappe R, Oertel S, Leblond V, et al. Sequential treatment with rituximab followed by CHOP chemotherapy in adult B-cell post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD): the prospective international multicentre phase 2 PTLD-1 trial. *Lancet Oncol*. 2012;13(2):196-206. doi:10.1016/S1470-2045(11)70300-X
30. Trappe RU, Dierickx D, Zimmermann H, et al. Response to Rituximab Induction Is a Predictive Marker in B-Cell Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder and Allows Successful Stratification Into Rituximab or R-CHOP Consolidation in

- an International, Prospective, Multicenter Phase II Trial. *J Clin Oncol*. 2017;35(5):536-543. doi:10.1200/JCO.2016.69.3564
31. Amengual JE, Pro B. How I treat posttransplant lymphoproliferative disorder. *Blood*. 2023;142(17):1426-1437. doi:10.1182/blood.2023020075
 32. Prockop S, Doubrovina E, Suser S, et al. Off-the-shelf EBV-specific T cell immunotherapy for rituximab-refractory EBV-associated lymphoma following transplantation. *J Clin Invest*. 2020;130(2):733-747. doi:10.1172/JCI121127
 33. McKenna M, Epperla N, Ghobadi A, et al. Real-world evidence of the safety and survival with CD19 CAR-T cell therapy for relapsed/refractory solid organ transplant-related PTLT. *Br J Haematol*. 2023;202(2):248-255. doi:10.1111/bjh.18828
 34. Lamaison C, Latour S, Hélaine N, et al. A novel 3D culture model recapitulates primary FL B-cell features and promotes their survival. *Blood Adv*. 2021;5(23):5372-5386. doi:10.1182/bloodadvances.2020003949
 35. Foxall R, Narang P, Glaysher B, et al. Developing a 3D B Cell Lymphoma Culture System to Model Antibody Therapy. *Front Immunol*. 2021;11:605231. doi:10.3389/fimmu.2020.605231

9. Spis rycin i tabel

Rycina 1. Wybrane jednostki chorobowe należące do spektrum zaburzeń hematologicznych u SOTR (publikacja No. 1)

Rycina 2. Przedstawione w pracy No. 2 różnice w czasie od SOT do rozpoznania PTLT pomiędzy grupami KTRs i LTRs.

Rycina 3. Przedstawione w pracy No. 2 różnice w czasie od SOT do rozpoznania PTLT w zależności od wieku, pomiędzy grupami pacjentów po KTx lub LTx.

Rycina 4. Przedstawione w pracy No. 3 różnice w czasie od SOT do rozpoznania PTLT pomiędzy grupami pacjentów po KTx, LTx, lub LngTx.

Rycina 5. Przedstawione w pracy No. 4 wybrane czynniki składające się na rolę mikrośrodowiska nowotworu w zjawisku *Tumor Immune Evasion*.

Tabela 1. Wyniki analizy jednoczynnikowej wpływu czynników na czas od SOT do rozpoznania PTLT, ukazujące różnice pomiędzy KTRs i LTRs jak również między nimi a SOTRs.

Tabela 2. Wyniki analizy jednoczynnikowej wpływu czynników na przeżycie pacjentów, pokazujące różnice pomiędzy KTRs i LTRs.

10. Opinie Komisji Bioetycznej



Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym

Tel.: 022/ 57 - 20 -303

Fax: 022/ 57 - 20 -165

ul. Żwirki i Wigury nr 61

02-091 Warszawa

e-mail: komisja.bioetyczna@wum.edu.pl

www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl

Warszawa, dnia 14 marca 2022r.

AKBE/ 90 / 2022

Dr hab. Krzysztof Mucha
Klinika Immunologii, Transplantologii
i Chorób Wewnętrznych
ul. Nowogrodzka 59
02-006 Warszawa

OŚWIADCZENIE

Niniejszym oświadczam, że Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym w dniu 14 marca 2022r. przyjęła do wiadomości informację na temat badania pt. " Czynniki ryzyka oraz czynniki prognostyczne potransplantacyjnej choroby limfoproliferacyjnej w populacjach biorców przeszczepów nerki i wątroby. (Post-transplantation lymphoproliferative disorder risk and prognostic factors in kidney and liver transplant populations)." Przedstawione badanie nie stanowi eksperymentu medycznego w rozumieniu art. 21 ust. 1 ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz.U. z 2018 r. poz. 617) i nie wymaga uzyskania opinii Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, o której mowa w art. 29 ust.1 ww. ustawy.

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej


Prof. dr hab. n. med. Magdalena Kuźma –Kozakiewicz



Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym

Tel.: 022/ 57 - 20 -303

Fax: 022/ 57 - 20 -165

ul. Żwirki i Wigury nr 61

02-091 Warszawa

e-mail: komisja.bioetyczna@wum.edu.pl

www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl

KB/⁴⁵...../2023

Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym
w dniu 08 maja 2023 r. po zapoznaniu się z wnioskiem

Prof. dr hab. med. Krzysztof Mucha
Klinika Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych, Instytut
Transplantologii WUM,
ul. Nowogrodzka 59, 02-006 Warszawa,

dotyczącym: wyrażenia opinii w sprawie badania pt " Potransplantacyjna choroba limfoproliferacyjna (PTLD) u biorców przeszczepów narządowych: badanie wieloosrodkowe"

- Badanie może być prowadzone wyłącznie w okresie obowiązywania polisy ubezpieczeniowej.

wyraża następującą opinię

- stwierdza, że jest ono dopuszczalne i zgodne z zasadami naukowo-etycznymi*.
- ~~—stwierdza, że jest ono niedopuszczalne i niezgodne z zasadami naukowo-etycznymi.*~~

Uwagi Komisji – *verte*

Komisja działa na podstawie regulaminu działania Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, przyjętego zarządzeniem Rektora WUM nr 200/2022 z dnia 18 października 2022 r. oraz przepisów prawa powszechnie obowiązującego, w tym przede wszystkim ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty, ustawy z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne, ustawy z 22 kwietnia 2022 r. o wyrobach medycznych oraz prawa międzynarodowego lub unijnego, a także odpowiednich norm naukowych lub zawodowych.

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej


Prof. dr hab. n. med. Magdalena Kuźma-Kozakiewicz

*niepotrzebne skreślić

11. Oświadczenia współautorów publikacji

Warszawa 27.05.2025
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Krzysztof Mucha
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor rozdziału monografii zatytułowanego „**Zaburzenia hematologiczne u biorców przeszczepów narządowych**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie pomysłu, recenzję i edycję manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 70 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określám jako 30%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: **Opracowanie pomysłu, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.**

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

 **PODPIS ZAUFANY**
KRZYSZTOF JAN
MUCHA
15.06.2025 12:47:44 [GMT+2]
Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

.....
(podpis oświadczającego)

W. ws. 31.8.2024
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Krzysztof Mucha
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors Between Kidney and Liver Transplant Recipients**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, recenzję i edycję manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 20 %

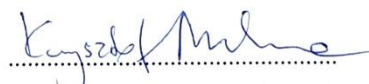
Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 50%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa 31.X.2024
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Bartosz Foroniewicz

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors Between Kidney and Liver Transplant Recipients**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie oraz przetwarzanie danych, recenzję i edycję manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 13 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określám jako 50%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Prof. dr hab. med.
Bartosz Foroniewicz
specjalista chorób wewnętrznych
nefrolog, transplantolog

Bartosz Foroniewicz
.....

(podpis oświadczającego)

Karnawa
19, 05, 2025
.....
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Bogna Ziarkiewicz-Wróblewska

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors Between Kidney and Liver Transplant Recipients**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie oraz przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 50%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

B. Wróblewska
.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa 09.06.25
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Maciej Kosieradzki
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors Between Kidney and Liver Transplant Recipients” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie oraz przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 2 %

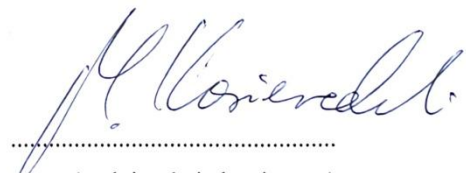
Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określám jako 50%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


.....
(podpis oświadczającego)

08.11.2024 *Kojanpka*
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Beata Naumnik
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors Between Kidney and Liver Transplant Recipients**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie oraz przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 2 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 50%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

[Podpis]
.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa 15.04.25
.....
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Joanna Raszeja-Wyszomirska
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors Between Kidney and Liver Transplant Recipients**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie oraz przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 2 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 50%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Prof. dr hab. n. med.
Joanna Raszeja-Wyszomirska
specjalista chorób wewnętrznych
i transplantacji klinicznej
31.03.2025
.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa 15.09.25

(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Sławomir Nazarewski

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors Between Kidney and Liver Transplant Recipients**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie oraz przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam jako 2%

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określłam jako 50%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Sławomir Nazarewski

.....
(podpis oświadczającego)

Narwa 15.04.2025
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Krzysztof Zieniewicz

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors Between Kidney and Liver Transplant Recipients**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie oraz przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 2 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 50%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

.....
Prof. dr hab. med.
Krzysztof ZIENIEWICZ
specjalista chirurgii ogólnej
i transplantologii klinicznej
(podpis oświadczającego)

Warszawa
15.05.25
.....
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Leszek Pączek

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Comparison of Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder Risk and Prognostic Factors Between Kidney and Liver Transplant Recipients**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie oraz przetwarzanie danych, recenzja i edycja manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 2%

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określám jako 50%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


.....
(podpis oświadczającego)

27/5/2025
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Bartosz Foroniewicz
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Does the Organ Matter in PTLN Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, recenzję i edycję manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


.....
(podpis oświadczającego)

Wrocław 28.05.2015
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Dorota Kamińska
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTLN Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Dorota Kamińska
.....
(podpis oświadczającego)

Weniew 2025.05.28.
(miejscowość, data)

dr hab. n. med. Dominika Dęborska-Materkowska
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTLD Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 1 %

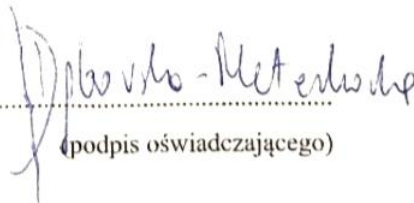
Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określám jako 65%,

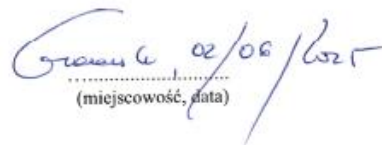
(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lck. Rafała Starosa.


.....
(podpis oświadczającego)


(miejscowość, data)

dr hab. n. med. Sławomir Lizakowski
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTLN Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1 %

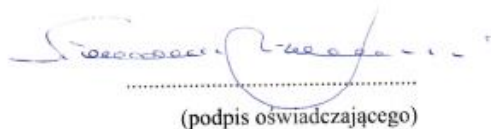
Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


.....
(podpis oświadczającego)

Łublin, 27.05.2025
(miejscowość, data)

dr n. med. Izabela Zakrocka
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTLD Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 2 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określám jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa 24.05.2025
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Joanna Raszeja-Wyszomirska
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTLT Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę jako 1 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określę jako 65%.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Prof. dr hab. n. med.
Joanna Raszeja-Wyszomirska
.....
Specjalista chorób wewnętrznych
i transplantologii klinicznej
(podpis oświadczającego)

Sosnowiec 27.05.25
(miejscowość, data)

dr hab. n. med. Anita Stanjek-Cichoracka

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTLN Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Anita Stanjek-Cichoracka
.....
(podpis oświadczającego)

OLSZTYN, 27.05.2025
(miejscowość, data)

lek. Anna Pawłowska

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Does the Organ Matter in PTLD Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Anna Pawłowska

(podpis oświadczającego)

WARSZAWA, 4.06.2025
(miejscowość, data)

lek. Emilia Kniola

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Does the Organ Matter in PTL Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Emilia Kniola

.....
(podpis oświadczającego)


(miejscowość, data)

dr n. med. Paweł Poznański

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Does the Organ Matter in PTL Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1 %

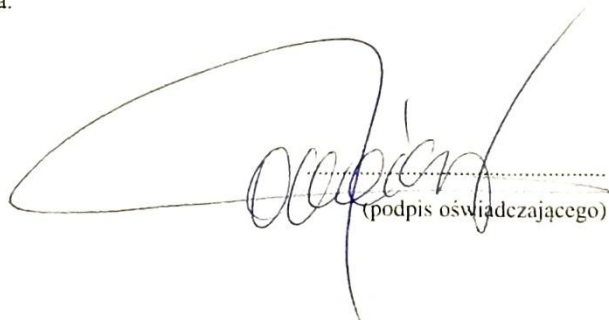
Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


(podpis oświadczającego)

27.05.2025
(miejscowość, data)

dr hab. n. med. Jolanta Gozdowska
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Does the Organ Matter in PTLD Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 1 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określám jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

J. Gozdowska
.....
(podpis oświadczającego)

Gdańsk, 09.06.2015
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Alicja Dębska-Ślizień
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Does the Organ Matter in PTLN Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Zebranie i dostarczenie danych z jednego ośrodka transplantacyjnego.

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji obejmował:

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.



.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa, 27.05.2025

(miejscowość, data)

dr n. med. Agnieszka Kołkowska-Leśniak

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTLD Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 3 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Agnieszka-Kołkowska-Leśniak

.....
(podpis oświadczającego)

W-wa 280525
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Magdalena Durlik
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Does the Organ Matter in PTLD Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

.....

(podpis oświadczającego)

27.05.2025 Wwe
(miejscowość, data)

dr hab. n. med. Radosław Zagożdżon
.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTLD Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 1 %

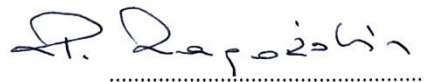
Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określám jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


.....
(podpis oświadczającego)

.....
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Maciej Kosieradzki

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTLD Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Maciej
Kosieradzki

Elektronicznie podpisany
przez Maciej Kosieradzki
Data: 2025.06.09 09:36:49
+02'00'

.....
(podpis oświadczającego)

prof. dr hab. n. med. Krzysztof Zieniewicz
.....
(imię i nazwisko)

Warszawa
(miejscowość, data)
27-05-2025

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Does the Organ Matter in PTL Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę jako 1 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określę jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

.....
(podpis oświadczającego)
KRZYSZTOF ZIENIEWICZ

prof. dr hab. n. med. Leszek Pączek

(imię i nazwisko)

28. 05. 2025
(miejscowość, data)
Wermewa

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTL Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie i przetwarzanie danych.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1 %

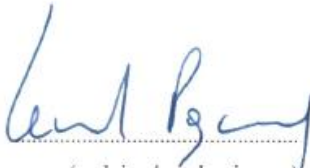
Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


(podpis oświadczającego)

.....
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Krzysztof Mucha

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Does the Organ Matter in PTL Development in Solid Organ Transplant Recipients? A Multicenter Observational Study of Risk and Prognostic Factors**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, recenzję i edycję manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 65%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu oraz metodologii badania, przygotowanie i przetwarzanie danych, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

 **PODPIS ZAUFANY**
KRZYSZTOF JAN
MUCHA
27.05.2025 14:37:47 (GMT+2)
Dokument podpisany elektronicznie
podpisem: codfngm

.....
(podpis oświadczającego)

W-wa, 22.10.2024.
(miejscowość, data)

dr hab. n. med. Radosław Zagożdżon

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie pomysłu, zapewnienie finansowania, napisanie pierwotnej wersji fragmentu manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 15 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 54%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.



.....
(podpis oświadczającego)

prof. dr hab. n. med. Krzysztof Mucha
.....
(imię i nazwisko)

W. me 31. X. 2022
.....
(miejscowość, data)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie pomysłu, zapewnienie finansowania, recenzję i edycję manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 54%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


.....
(podpis oświadczającego)

prof. dr hab. n. med. Zygmunt Pojda

Warszawa, 17 października 2024 r.

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie pomysłu, zapewnienie finansowania.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1%

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 54%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.



.....
(podpis oświadczającego)

Basel, 24.10.2024
(miejscowość, data)

inż. Agata Michalak

.....
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie pierwotnej wersji fragmentu manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określam jako 54%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.

Agata Michalak

(podpis oświadczającego)

Warszawa, 22.10.24r.
(miejscowość, data)

mgr inż. Kinga Rusinek

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Perspectives for 3D-Bioprinting in Modeling of Tumor Immune Evasion**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Napisanie pierwotnej wersji fragmentu manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam jako 10 %

Wkład Rafała Starosa w powstawanie publikacji określłam jako 54%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: Opracowanie pomysłu, napisanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz jego recenzję i edycję.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Rafała Starosa.


(podpis oświadczającego)