

## **Abstrakt**

Sarkomy (Soft tissue sarcomas/STSs) jsou maligní nádory mezenchymálního původu, vyznačující se extrémní heterogenitou v histologické skladbě, biologickém chování i klinickém projevu. Většina se vyznačuje chemorezistencí a radiorezistencí. Klíčovým prognostickým faktorem pro celkové přežívání a riziko vzdálených metastáz je histopatologický stupeň diferenciacce neboli grade nádoru. Grade ovšem nemá vliv na riziko lokální recidivy. Radikální chirurgický zákrok je často jedinou možnou léčebnou modalitou nebo minimálně hraje hlavní roli v terapii. U generalizovaného onemocnění jsou možnosti léčby značně omezené. Chemosenzitivita STSs je všeobecně velmi nízká, s výjimkou některých méně častých podtypů, a celkově činí jenom 5–10 %. Radioterapie je v mnoha případech standardní součástí léčebného protokolu. Podává se zpravidla v neoadjuvantním nebo adjuvantním podání, ovšem její využití u generalizovaných pacientů je okrajové a nezlepšuje prognózu.

Protinádorová imunoterapie je terapeutická modalita, která využívá fyziologických schopností buněk imunitního systému v boji proti nádorovému onemocnění. Není tedy založena na cílené eliminaci rychle proliferujících nádorových buněk, nýbrž na stimulaci imunitních buněk za účelem likvidace nádorových antigenů. V oblasti imunoterapie měkkotkáňových sarkomů bylo testováno nespočet různých strategií, avšak na rozdíl od jiných solidních tumorů jako například maligního melanomu či karcinomu ledviny, nevedly u sarkomů tyto přístupy k signifikantní regresi nádorové hmoty. Jedním z hlavních důvodů je obrovská histologická heterogenita těchto nádorů a různorodá infiltrace sarkomů imunitními buňkami.

Cílem tohoto výzkumného projektu byla prospektivní a retrospektivní analýza nádorových vzorků u pacientů s měkkotkáňovým sarkomem, detailní popis

nádorového mikroprostředí měkkotkáňových sarkomů a identifikace vhodných terapií pro pacienty s metastatickým onemocněním.

V rámci projektu jsme pracovali s vzácnými kohortami pacientů, které jsme dále dělili dle jejich histologie a dalších klinicko-patologických charakteristik. Prostřednictvím analýzy klinických vzorků, imunohistochemie, průtokové cytometrie a multiplexových metodik jsme vyhodnocovali nejen fenotypické a funkční charakteristiky imunitních buněk v měkkotkáňových sarkomech, ale hodnotili jsme též faktory, které ovlivňují četnost chirurgických komplikací, riziko recidivy či progresi onemocnění.

V naší první observační studii, která byla zaměřena pouze na histologickou entitu solitární fibrózní tumor, jsme pozorovali vysokou frekvenci mylných primárních diagnóz a vliv nádorové lokalizace na rozvoj metastáz či recidivu onemocnění. Definovali jsme faktory, které souvisely s pooperačními komplikacemi, a rozebrali úskalí diagnostiky a léčby solitárních fibrózních tumorů.

V další studii, kterou byl přehledový článek zabývající se nádorovým mikroprostředím měkkotkáňových sarkomů, jsme diskutovali všechna dostupná data týkající se role T-buněk v nádorovém mikroprostředí sarkomů měkkých tkání. Zaměřili jsme se mimo jiné i na další hojně se vyskytující imunitní buňky v nádorovém mikroprostředí a probírali jejich prognostickou a prediktivní roli. V této práci jsme prezentovali všechny klinické studie zaměřené stimulaci imunitního systému prostřednictvím cílení konkrétní buněčné subpopulace u sarkomů měkkých tkání. Tyto studie jsme následně diskutovali z hlediska racionality přístupu a možných kombinací jednotlivých terapeutik.

V rámci našeho nejvýznamnějšího projektu jsme sledovali potenciální aditivní účinky kombinace anti-PD-1 a anti-CD47 imunoterapií v léčbě sarkomů měkkých tkání.

Předpokládali jsme, že *in vitro* se budou účinky obou terapií potencovat, neboť nádorové mikroprostředí měkkotkáňových sarkomů má vysoké zastoupení makrofágů a druhou nejpočetnější populací imunitních buněk jsou T-buňky. Do kohorty jsme zařadili 66 pacientů, kterým byla nejprve stanovena exprese molekuly CD47 v nádorovém mikroprostředí. Následně byly vybraným pacientům izolovány tumor-infiltrující lymfocyty z nádorové tkáně a získané buněčné suspenze byly *in vitro* kultivovány za přítomnosti kostimulačních molekul, anti-PD-1 monoklonální protilátky (nivolumab), anti-CD47 monoklonální protilátky, a též za přítomnosti obou těchto terapeutik. Funkce buněk byla hodnocena prostřednictvím detekce cytokinů metodou Luminex. Zatímco u vybraných diagnóz byla *in vitro* účinnost jednotlivých terapií vyjádřena vysokou mírou aktivace imunitních buněk, kombinované podání obou terapeutik způsobilo zásadní útlum buněk a sníženou produkci prozánětlivých cytokinů.

Naše práce napomohly pochopení role nádorového mikroprostředí v prognóze pacientů s měkkotkáňovým sarkomem, definovaly faktory spojené s biologickým chováním nádorů a představily moderní přístupy, jimiž lze nádorové mikroprostředí analyzovat a hodnotit efekt imunoterapie.

**Klíčová slova:** sarkom měkké tkáně, imunoterapie, nádorové mikroprostředí,

kombinovaná léčba, solitární fibrózní tumor, T-buňky, PD-1, CD47.