

popsaná pozitivní asociace mezi expresí p53, postižením lymfatických uzlin a CSS (54). V naší práci na 152 pacientech s penilním SCC jsme porovnávali nádory s intaktní (wild-type) expresí p53 oproti nádorům s mutovaným p53 imunoprofilem. Exprese p53 byla hodnocena jako „mutovaná“, když nádorová tkáň vykazovala difúzní silnou jadernou pozitivitu nebo úplnou negativitu (nulový fenotyp) s heterogenní (wild-type) expresí ve stromálních buňkách; případy s heterogenním jaderným barvením nádorových buněk byly označeny jako „wild-type“ (Obr. 12).

Mutovaný profil p53 (tedy s pravděpodobnými missense i nonsense mutacemi dohromady) měl negativní prognostický dopad na OS (střední doba přežití = 5 vs. 7,7 roku, HR = 2,44, $p = 0,0023$) i CSS (HR = 3,33, $p = 0,004$) v univariantské i multivariantské analýze. Mutovaný p53 profil byl významně asociovaný s high grade buddingem (viz výše) a také s p16 (HPV)-negativitou (15) (Obr. 13).

Ačkoliv p16/HPV status má pouze sporný prognostický význam, jeho negativní korelace s p53 mutovaným profilem poskytuje vhled do etiologie karcinomu penisu. Jak bylo řečeno, virový protein E6 inhibuje aktivitu p53 proteinu, obvykle při intaktním *TP53* genu. Naopak, HPV independentní nádory vznikají patrně na podkladě kumulace získaných mutací při chronickém zánětu a působení rizikových faktorů (kouření, nedostatečná hygiena, nízký socioekonomický status, lichen sclerosus, fimóza). Ke vzniku nádoru pak nápadně často vede mutace právě *TP53* (15, 43). V onkogenezi obou HPV+ i HPV- typů se tedy uplatňuje ztráta funkčního p53, která je však způsobena různým mechanismem: u prvního v důsledku virem mediované inhibice, u druhého na podkladě mutace DNA. Naše práce potvrzuje nepříznivý vliv p53 na prognózu SCC penisu ve velké kohortě.

NÁDOROVÁ MUTAČNÍ NÁLOŽ (TMB)

Nádorová mutační nálož (tumor mutational burden, TMB) vyjadřuje kumulativní množství

získaných sporadických somatických mutací v genomu nádorových buněk. TMB lze vyšetřit metodami sekvenování nové generace (next generation sequencing, NGS) na úrovni sekvenování celého exomu, v praxi se používá sekvenování referenčních reprezentativních sekvencí velkého množství genů. Hodnota TMB je vyjadřována v množství mutací na megabázi (Mb = milion nukleotidů v řetězci DNA). V roce 2020 schválila FDA pembrolizumab v léčbě nemocných s neresekabilními nebo metastatickými solidními tumory s TMB ≥ 10 mut/Mb na podkladě doloženého klinického benefitu těchto pacientů (55). Dosavadní nečetné práce zaměřené na TMB v karcinomu penisu popisují obecně nízké TMB v SCC penisu v porovnání s karcinomy vyvolanými velkou dávkou mutagenů z prostředí – např. karcinom plicní (kouření) nebo SCC kůže (UV záření) (56).

Naše práce analyzovala TMB v zatím největší sestavě 136 pacientů s penilním SCC s dostatečnou kvalitou DNA. Vysoká TMB byla prokázána jako významný znak kratšího OS, pokud byla binarizovaná na mediánu hodnoty TMB ve zkoumané kohortě (= 4,3 mut/Mb): low TMB ($n = 56$) vs. high TMB ($n = 80$), se střední dobou přežití 9 vs. 5,8 roku, HR = 1,72, $p = 0,047$ (43). Při binarizaci kohorty na arbitrární hodnotě 10 mut/Mb (schválené FDA pro léčbu) pak prognostický význam prokázán nebyl, a to patrně pro malé množství pacientů s nádory s TMB ≥ 10 mut/Mb ($n = 17$) při obecně nízké mutační náloži karcinomů penisu (56) (Obr. 14).

Vysoké TMB ≥ 10 mut/Mb bylo asociováno s vysokou expresí PD-L1 (ve ≥ 50 % nádorových buněk) a HPV/p16 negativním statutem (43). Tato korelace ilustruje onkogenezi karcinomu penisu: HPV-independentní karcinomy vznikají na podkladě relativně velkého množství získaných mutací při chronickém zánětu, vysoká variabilita DNA pak vede ke zvýšené produkci neoantigenů, např. PD-L1. Naopak, HPV-asociované karcinomy vznikají na podkladě narušení funkce několika málo klíčových genů virovými proteiny, a mají tak nízkou mutační nálož a produkují méně neoantigenů. Toto zjištění pak hypoteticky implikuje benefit léčby pembrolizumabem či jinými