



**UNIwersYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**

Collegium Medicum
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Bydgoszcz 2025 r.



UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU

Wydział Lekarski
Collegium Medicum w Bydgoszczy

lek. Marcin Szymański

Znaczenie prognostyczne i funkcjonalne cykliny K i cykliny D1 w raku endometrium – ocena histopatologiczna i analiza *in silico*

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych
i nauk o zdrowiu**

Promotor:

dr hab. n. med. i n. o zdr. Maciej Gagat, prof. UMK

Promotor pomocniczy:

dr n. med. Paulina Antosik

Bydgoszcz 2025 r.

*Z całego serca pragnę podziękować mojemu Promotorowi,
dr hab. n. med. i n. o zdr. Maciejowi Gagatowi, prof. UMK,
za bezinteresowność, cierpliwość oraz merytoryczne i życzliwe
wsparcie na każdym etapie mojej pracy.*

*Dziękuję nie tylko za opiekę naukową, ale i za to, kim Pan jest jako człowiek
i kompan w tej intelektualnej podróży – towarzyski, wymagający, zawsze
obecny i odpowiadający na każde, nawet najbardziej naiwne pytanie.*

*Dziękuję również Promotorowi pomocniczemu,
dr n. med. Paulinie Antosik,
za życzliwość, otwartość oraz podejście pełne empatii i profesjonalizmu,
które dawało poczucie bezpieczeństwa.*

*Wyrazy wdzięczności kieruję do moich Współpracowników,
mgr Dominiki Jerki oraz mgr Klaudii Bonowicz,
za ogromny wkład merytoryczny, zaangażowanie i wspólną pracę,
która znacząco wzbogaciła tę rozprawę.
Dziękuję za wszystkie godziny spędzone razem podczas analiz, rozmów
i szukaniu odpowiedzi na pojawiające się pytania.*

*Dziękuję wszystkim, którzy na różnych etapach tej drogi byli obecni – słuchali,
wspierali, motywowali i... przypominali, że czasem warto po prostu iść spać.*

*Na koniec – najważniejsze słowa kieruję do tych, bez których nie byłoby tej
drogi, ani sensu, by nią iść.*

*Tę rozprawę dedykuję mojej żonie Paulinie – za ocean cierpliwości, zrozumienie
dla moich dziwactw, pasji i wiecznego dążenia do celu. Za to, że byłaś obok,
nawet gdy myślami byłem gdzieś daleko. Za to jaką osobą jesteś.*

*Dla moich dzieci, Leona i Zoji – za to, że potrafiliście żyć z tatą w chmurach,
który częściej był zamyślony niż obecny. To dzięki Wam nauczyłem się wracać
na ziemię.*

*Dla Mamy i Taty – za cichą obecność, siłę i niezachwiane wsparcie.
Bez Waszego fundamentu nie byłoby tego etapu.*

Z wdzięcznością i miłością – dziękuję.

Spis treści

1.	ŹRÓDŁO FINANSOWANIA	5
2.	WYKAZ SKRÓTÓW	6
3.	WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD CYKLU STANOWIĄCEGO PODSTAWĘ POSTĘPOWANIA O NADANIE STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA.....	8
3.1.	PUBLIKACJA NR 1	8
3.2.	PUBLIKACJA NR 2	8
3.3.	PODSUMOWANIE WSKAŹNIKÓW NAUKOMETRYCZNYCH PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD CYKLU STANOWIĄCEGO PODSTAWĘ POSTĘPOWANIA O NADANIE STOPNIA DOKTORA	8
4.	AKTYWNOŚĆ NAUKOWA OSOBY UBIEGAJĄCEJ SIĘ O NADANIE STOPNIA DOKTORA	9
4.1.	PUBLIKACJE NAUKOWE	9
4.2.	CZŁONKOSTWO W TOWARZYSTWACH NAUKOWYCH.....	10
4.3.	UDZIAŁ W WARSZTATACH	10
4.4.	PODSUMOWANIE WSKAŹNIKÓW NAUKOMETRYCZNYCH WSZYSTKICH PUBLIKACJI	10
5.	PRZEDMIOT BADAŃ	11
5.1.	WPROWADZENIE	11
5.2.	ZNACZENIE BIAŁEK CYKLU KOMÓRKOWEGO	21
5.3.	CYKLINA D1 W REGULACJI CYKLU KOMÓRKOWEGO I PATOGENEZIE EC	24
5.4.	CYKLINA K JAKO REGULATOR TRANSKRYPCJI I POTENCJALNY CZYNNIK ROZWOJU EC	26
6.	ZAŁOŻENIA I CEL PRACY.....	28
6.1.	CEL I – PUBLIKACJA NR 1	28
6.2.	CEL II – PUBLIKACJA NR 2	28
7.	KOMENTARZE DO PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD CYKLU STANOWIĄCEGO PODSTAWĘ POSTĘPOWANIA O NADANIE STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA.....	30
7.1.	PUBLIKACJA NR 1	30
7.2.	PUBLIKACJA NR 2	33
8.	WNIOSKI	36
9.	PIŚMIENNICTWO	39
10.	STRESZCZENIE	49
11.	SUMMARY	51
12.	ZAŁĄCZNIKI	53
12.1.	KOPIE PRAC STANOWIĄCYCH CYKL PUBLIKACJI	53
12.1.1.	Publikacja nr 1	53
12.1.2.	Publikacja nr 2	77
12.2.	PISEMNE OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW DOTYCZĄCE ICH INDYWIDUALNEGO WKŁADU W POWSTANIE PRAC WCHODZĄCYCH W SKŁAD CYKLU PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH PODSTAWĘ POSTĘPOWANIA O NADANIE STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA	97
12.3.	ZGODA KOMISJI BIOETYCZNEJ	113

1. Źródło finansowania

Badania stanowiące przedmiot niniejszej rozprawy doktorskiej zostały sfinansowane ze środków przeznaczonych na podstawową działalność badawczą Katedry Histologii i Embriologii i Katedry Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem archiwalnego materiału tkankowego pochodzącego z Katedry Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, na podstawie zgody Komisji Bioetycznej (KB/87/2020).

2. Wykaz skrótów

Skrót	Rozwinięcie (j. polski)	Rozwinięcie (j. angielski)
AR	Receptor androgenowy	Androgen Receptor
CCNA	Cyklina A	Cyclin A
CCND1	Gen cykliny D1	Cyclin D1 gene
CCNE	Cyklina E	Cyclin E
CCNK	Gen cykliny K	Cyclin K gene
CDC6	Białko inicjujące replikację CDC6	Cell Division Cycle 6
CDK	Kinazy zależne od cyklin	Cyclin-Dependent Kinases
CDK1	Kinaza zależna od cykliny 1	Cyclin-Dependent Kinase 1
CDK12	Kinaza zależna od cykliny 12	Cyclin-Dependent Kinase 12
CDK13	Kinaza zależna od cykliny 13	Cyclin-Dependent Kinase 13
CDK2	Kinaza zależna od cykliny 2	Cyclin-Dependent Kinase 2
CDK4	Kinaza zależna od cykliny 4	Cyclin-Dependent Kinase 4
CDK6	Kinaza zależna od cykliny 6	Cyclin-Dependent Kinase 6
CDK9	Kinaza zależna od cykliny 9	Cyclin-Dependent Kinase 9
CDKI	Inhibitory kinaz cyklinozależnych	Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors
CIP/KIP	Rodzina inhibitorów CDK (p21, p27, p57)	CIP/KIP family (CDK inhibitors)
CycK–CDK12/13	Kompleks cyklina K–CDK12/13	Cyclin K–CDK12/13 complex
E2F	Rodzina czynników transkrypcyjnych	E2F transcription factor family
EC	Rak endometrium	Endometrial cancer
ESGO	Europejskie Towarzystwo Onkologii Ginekologicznej	European Society of Gynaecological Oncology
ESP	Europejskie Towarzystwo Patologii	European Society of Pathology
ESTRO	Europejskie Towarzystwo Radioterapii i Onkologii	European Society for Radiotherapy and Oncology
ETV4	Czynnik transkrypcyjny ETS variant 4	ETS Variant Transcription Factor 4
FIGO	Międzynarodowa Federacja Ginekologii i Położnictwa	International Federation of Gynecology and Obstetrics
HSP90AA1	Białko szoku cieplnego 90 alfa	Heat Shock Protein 90 Alpha
INK4	Rodzina inhibitorów CDK (p15, p16, p18, p19)	INK4 family (CDK inhibitors)

KEGG	Baza wiedzy o szlakach biologicznych	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
Ki-67	Marker proliferacji Ki-67	Ki-67 proliferation marker
LVSI	Naciekanie przestrzeni limfatyczno-naczyniowych	Lymphovascular Space Invasion
MAPK	Szlak MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase pathway
MCM2–7	Kompleks białek MCM2–7	Minichromosome Maintenance Complex Components 2–7
MMR	Mechanizm naprawy błędnie sparowanych zasad azotowych	Mismatch Repair
MRI	Rezonans magnetyczny	Magnetic Resonance Imaging
NF-κB	Czynnik transkrypcyjny NF-κB	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
OS	Całkowite przeżycie	Overall Survival
PARP	Inhibitory PARP	Poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors
PDAC	Rak gruczołowy trzustki	Pancreatic Ductal Adenocarcinoma
POLE	Gen polimerazy epsilon	DNA Polymerase epsilon
POLR2B	Podjednostka polimerazy RNA II	RNA Polymerase II Subunit B
PPI	Sieć interakcji białek	Protein-Protein Interaction
PTEN	Gen supresorowy PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
RNA Pol II	Polimeraza RNA II	RNA Polymerase II
SPRY2	Gen SPRY2	Sprouty RTK signaling antagonist 2
SPRY4	Gen SPRY4	Sprouty RTK signaling antagonist 4
TCGA	Atlas Genomu Nowotworów	The Cancer Genome Atlas
TP53	Gen supresorowy p53	Tumor Protein p53
Wnt	Szlak sygnalizacji Wnt	Wnt signaling pathway
YY1	Czynnik transkrypcyjny Yin Yang 1	Yin Yang 1
p16INK4a	Inhibitor kinaz CDK p16INK4a	Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A
p21	Białko supresorowe p21	Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1A
pRB	Białko retinoblastoma	Retinoblastoma protein

3. Wykaz publikacji wchodzących w skład cyklu stanowiącego podstawę postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora

3.1. Publikacja nr 1

Marcin Szymański, Dominika Jerka, Klaudia Bonowicz, Paulina Antosik, Maciej Gagat

Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study

International Journal of Molecular Sciences 2025, 26(3), 890

doi: 10.3390/ijms26030890

IF: 4.9; Punkty MNiSW: 140

3.2. Publikacja nr 2

Marcin Szymański, Klaudia Bonowicz, Dominika Jerka, Maciej Gagat, Paulina Antosik

Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis

Cancers 2025, 17(5), 792

doi: 10.3390/cancers17050792

IF: 4.5; Punkty MNiSW: 140

3.3. Podsumowanie wskaźników naukowych publikacji wchodzących w skład cyklu stanowiącego podstawę postępowania o nadanie stopnia doktora

Łączny IF: 9.4.

Łączna liczba punktów wg MNiSW: 280.

4. Aktywność naukowa osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora

4.1. Publikacje naukowe

1. Głowska-Ciemny J, **Szymanski M**, Pankiewicz J, Malewski Z, von Kaisenberg C, Kocyłowski R. Influence of selected factors on serum AFP levels in pregnant women in terms of prenatal screening accuracy - literature review. *Ginekol Pol.* 2023;94(2):158-166.
doi: 10.5603/GP.a2022.0148.
IF: 1.2; Punkty MNiSW: 70
2. Głowska-Ciemny J, **Szymański M**, Kuszarska A, Malewski Z, von Kaisenberg C, Kocyłowski R. The Role of Alpha-Fetoprotein (AFP) in Contemporary Oncology: The Path from a Diagnostic Biomarker to an Anticancer Drug. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 28;24(3):2539.
doi: 10.3390/ijms24032539.
IF: 4.9; Punkty MNiSW: 140
3. Głowska-Ciemny J, **Szymanski M**, Kuszarska A, Rzepka R, von Kaisenberg CS, Kocyłowski R. Role of Alpha-Fetoprotein (AFP) in Diagnosing Childhood Cancers and Genetic-Related Chronic Diseases. *Cancers (Basel).* 2023 Aug 28;15(17):4302.
doi: 10.3390/cancers15174302.
IF: 4.5; Punkty MNiSW: 200
4. **Szymański M**, Bonowicz K, Antosik P, Jerka D, Głowacka M, Soroka M, Steinbrink K, Kleszczyński K, Gagat M. Role of Cyclins and Cytoskeletal Proteins in Endometriosis: Insights into Pathophysiology. *Cancers (Basel).* 2024 Feb 19;16(4):836.
doi: 10.3390/cancers16040836.
IF: 4.5; Punkty MNiSW: 140
5. **Szymański M**, Jerka D, Bonowicz K, Antosik P, Gagat M. Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: *In Silico* Study. *Int J Mol Sci.* 2025 Jan 22;26(3):890. doi: 10.3390/ijms26030890.
IF: 4.9; Punkty MNiSW: 140

6. **Szymański M**, Bonowicz K, Jerka D, Gagat M, Antosik P. Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and *In Silico* Analysis. *Cancers (Basel)*. 2025 Feb 25;17(5):792. doi: 10.3390/cancers17050792.
IF: 4.5; Punkty MNiSW: 140

4.2. Członkostwo w towarzystwach naukowych

1. Członek Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników (PTGiP)
2. Członek Sekcji Ultrasonografii PTGiP
3. Członek ENTOG (European Network of Trainees in Obstetrics and Gynecology)
4. Członek Polskiego Towarzystwa Kardiologii Prenatalnej
5. Członek Polskiego Towarzystwa Seksuologicznego
6. Członek Polskiego Towarzystwa Medycyny Seksualnej

4.3. Udział w warsztatach

1. Optymalne wykorzystanie aparatu – jak uzyskać najlepsze obrazy. 28. Europejski Kongres Ginekologów i Położników (EBCOG), 18-20 maj 2023 r., Kraków.
2. Zewnętrzny obrót płodu. 28. Europejski Kongres Ginekologów i Położników (EBCOG), 18-20 maj 2023 r., Kraków.

4.4. Podsumowanie wskaźników naukowych wszystkich publikacji

Łączny IF: 24.5 (w tym 9.4 w cyklu prac stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia doktora).

Łączna liczba punktów wg MNiSW: 830 (w tym 280 w cyklu prac stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia doktora).

5. Przedmiot badań

5.1. Wprowadzenie

Rak endometrium (ang. endometrial cancer, EC) jest najczęstszym złośliwym nowotworem ginekologicznym występującym w krajach rozwiniętych. Dotyczy przede wszystkim kobiet po menopauzie, a mediana wieku w chwili rozpoznania wynosi 60 lat [1]. Częstość jego występowania stale rośnie. W 2022 r. odnotowano ponad 420 300 nowych przypadków EC na całym świecie [2]. W Unii Europejskiej wskaźnik zachorowalności na EC wynosi około 16 przypadków na 100 000 kobiet rocznie, z zakresem od 13 do 24 przypadków na 100 000. Śmiertelność wynosi około 4-5 przypadków na 100 000 kobiet rocznie. Szacuje się, że ryzyko zachorowania na EC w ciągu całego życia wynosi od 1,7% do 2%. [3]. EC najczęściej objawia się nieprawidłowym krwawieniem z dróg rodnych - zwłaszcza po menopauzie - nawet minimalne plamienie w tej populacji może zwiastować nowotwór złośliwy [4]. Dodatkowo mogą wystąpić objawy, takie jak ból w podbrzuszu oraz rzadziej, obfita wydzielina z pochwy. Są to jednak symptomy nieswoiste, które wymagają dalszej diagnostyki [5]. W badaniu fizykalnym można stwierdzić powiększenie macicy lub obecność guzów przydatków, choć objawy te nie są patognomoniczne dla nowotworu złośliwego. W związku z tym wstępne badania diagnostyczne zwykle obejmują ultrasonografię przezpochwową w celu oceny grubości endometrium, przy czym pomiary przekraczające ustalone progi u kobiet po menopauzie budzą podejrzenie zmiany nowotworowej. Większość rekomendacji przyjmuje 5 mm jako wartość wymagającą dalszej, pogłębionej diagnostyki [6]. Ostateczną diagnozę uzyskuje się poprzez ocenę histopatologiczną uzyskaną za pomocą biopsji endometrium, co pozwala na dokładną charakterystykę komórkową i klasyfikację guza [7,8].

W późniejszym etapie wykorzystanie zaawansowanych technik obrazowania, takich jak rezonans magnetyczny (ang. magnetic resonance imaging, MRI), pozwala na dokładniejsze określenie stopnia naciekania błony mięśniowej macicy oraz ewentualnego szerzenia się procesu poza macicę, co umożliwia precyzyjną ocenę stopnia zaawansowania choroby i wspomaga planowanie dalszego, kompleksowego leczenia [9].

Leczenie EC opiera się na radykalnej histerektomii z obustronnym usunięciem przydatków. U pacjentek z cechami wysokiego ryzyka często dodatkowo wykonuje się limfadenektomię miedniczą, a w razie wskazań również paraaortalną, w celu precyzyjnego określenia stopnia zaawansowania choroby [10]. W randomizowanych badaniach wykazano, że radioterapia uzupełniająca, w szczególności brachyterapia dopochwowa, skutecznie zmniejsza ryzyko wznowy lokoregionalnej w chorobie pośredniego ryzyka przy zachowaniu korzystnego profilu bezpieczeństwa [11]. Ponadto, wyniki badań fazy III wskazują, że selektywne zastosowanie chemioterapii ogólnoustrojowej w przypadkach zaawansowanego stadium choroby lub nowotworów o wysokim stopniu złośliwości może przyczynić się do wydłużenia czasu przeżycia wolnego od progresji, co podkreśla znaczenie indywidualizacji strategii terapeutycznych [12]. Ogólne rokowanie w raku endometrium we wczesnych stadiach choroby jest zazwyczaj korzystne, a pięcioletnie wskaźniki przeżycia często przekraczają 80%. Jednakże obecność niekorzystnych czynników rokowniczych, takich jak głęboka inwazja błony mięśniowej macicy, zaawansowany stopień złośliwości guza czy zajęcie przestrzeni limfatycznej, istotnie pogarsza rokowania i wiąże się ze znacznym spadkiem przeżywalności [4].

Współczesne podejście do oceny stopnia zaawansowania EC łączy klasyczne kryteria anatomiczne z nowymi odkryciami molekularnymi, co pozwala na zwiększenie precyzji prognozowania oraz lepszą stratyfikację leczenia. Podstawą oceny chirurgicznej pozostaje system klasyfikacji Międzynarodowej Federacji Ginekologii i Położnictwa (ang. International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO), zaktualizowany w 2023 roku. Uwzględnia on przede wszystkim głębokość nacieku mięśniówki macicy, zajęcie szyjki macicy, rozprzestrzenianie się nowotworu na przydatki oraz obecność inwazji w przestrzeniach limfatycznych – wszystkie te czynniki silnie korelują z rokowaniem i wynikami leczenia [13].

Tabela 1. Klasyfikacja zaawansowania EC według FIGO [14].

Stopień	Podstopień	Opis
I		Rak ograniczony do trzonu macicy i jajnika

	IA1	Nieagresywny typ histologiczny ograniczony do polipa endometrium lub do endometrium
	IA2	Nieagresywne typy histologiczne obejmujące <50% mięśniówki, bez lub z ogniskowym LVSI
	IA3	Endometrioidalny rak o niskim stopniu złośliwości ograniczony do macicy i jajnika
	IB	Nieagresywne typy histologiczne z naciekiem ≥50% mięśniówki, bez lub z ogniskowym LVSI
	IC	Agresywny typ histologiczny ograniczony do polipa lub endometrium
II		Nacieki z rąbca szyjki macicy lub obecność znacznego LVSI/agresywnego typu histologicznego
	IIA	Naciekanie z rąbca szyjki macicy przez nieagresywne typy histologiczne
	IIB	Znaczący LVSI przy nieagresywnych typach histologicznych
	IIC	Agresywny typ histologiczny z dowolnym zajęciem mięśniówki
III		Lokalne/regionalne szerzenie się nowotworu
	IIIA1	Przerzuty do jajnika/jajowodu (poza kryteriami IA3)
	IIIA2	Zajęcie błony surowiczej macicy lub szerzenie się przez nią
	IIIB1	Przerzuty lub nacieki pochwy i/lub przymacicza
	IIIB2	Przerzuty do otrzewnej miednicy

	IIIC1	Przerzuty do węzłów chłonnych miednicy
	IIIC2	Przerzuty do węzłów okołoaortalnych aż do naczyń nerkowych (z lub bez przerzutów do miednicy)
IV		Naciekanie błon śluzowych pęcherza/jelit lub przerzuty odległe
	IVA	Naciekanie błony śluzowej pęcherza i/lub jelit
	IVB	Przerzuty do otrzewnej jamy brzusznej poza miednicą
	IVC	Przerzuty odległe (np. płuca, wątroba, mózg, kości, węzły powyżej naczyń nerkowych)

Europejskie Towarzystwo Ginekologii Onkologicznej (ang. European Society of Gynaecological Oncology, ESGO), Europejskie Towarzystwo Radioterapii i Onkologii (ang. European Society for Radiotherapy and Oncology, ESTRO) i Europejskie Towarzystwo Patologów (European Society of Pathology, ESP) wspólnie opracowały kompleksowe wytyczne dotyczące oceny zaawansowania EC, które łączą wybrane parametry anatomiczne z klasyfikacją molekularną. Ten multidyscyplinarny konsensus podkreśla znaczenie profilowania molekularnego, które obejmuje m.in. mutacje w genie polimerazy epsilon (ang. DNA Polymerase epsilon, POLE), nieprawidłową ekspresję białka supresorowego p53 (ang. Tumor Protein p53, TP53) oraz zaburzenia mechanizmu naprawy błędnie sparowanych zasad azotowych (ang. Mismatch Repair, MMR). Wskazane markery dostarczają istotnych informacji prognostycznych, redefiniując grupy ryzyka w sposób wykraczający poza możliwości tradycyjnej oceny histopatologicznej [15,16]. Integracja ta opiera się na solidnych podstawach, w szczególności na danych pochodzących z dużych badań genomicznych, takich jak projekt pn. „Atlas Genów Nowotworów” (ang. The Cancer Genome Atlas, TCGA), który wyróżnił odrębne podtypy molekularne EC, charakteryzujące się różnym przebiegiem klinicznym [17].

Tabela 2. Klasyfikacja grup ryzyka EC według ESGO/ESTRO/ESP [18].

Grupa ryzyka raka endometrium	Klasyfikacja molekularna nieznana	Z uwzględnieniem klasyfikacji molekularnej
Niskie ryzyko	FIGO IA, rak endometrialny G1/G2, brak lub jedynie ogniskowe LVSI	FIGO I–II, rak endometrialny z mutacją POLE, brak choroby resztkowej po operacji FIGO IA, rak endometrialny G1/G2, MMRd lub NSMP, LVSI – brak lub ogniskowe
Ryzyko pośrednie	FIGO IB, rak endometrialny G1/G2, LVSI – brak lub ogniskowe FIGO IA, rak endometrialny G3, LVSI – brak lub ogniskowe FIGO IA, rak nieendometrialny (surowiczy, jasnokomórkowy, niezróżnicowany, mięsakorak, mieszany) bez inwazji miometrium	FIGO IB, rak endometrialny G1/G2, MMRd lub NSMP, LVSI – brak lub ogniskowe FIGO IA, rak endometrialny G3, MMRd lub NSMP, LVSI – brak lub ogniskowe FIGO IA, mutacja TP53 i/lub rak nieendometrialny (surowiczy, jasnokomórkowy, niezróżnicowany, mięsakorak, mieszany), bez inwazji miometrium
Ryzyko pośrednie-wyższe	FIGO I, rak endometrialny, istotne LVSI niezależnie od głębokości nacieku i gradingu FIGO IB, rak endometrialny G3 niezależnie od LVSI FIGO II	FIGO I, rak endometrialny, MMRd lub NSMP, istotne LVSI niezależnie od nacieku miometrium i gradingu FIGO IB, rak endometrialny G3, MMRd lub NSMP, niezależnie od LVSI FIGO II, rak endometrialny, MMRd lub NSMP
Wysokie ryzyko	FIGO III–IVA bez choroby resztkowej FIGO I–IVA, rak nieendometrialny z naciekiem miometrium, bez choroby resztkowej	FIGO III–IVA, rak endometrialny, MMRd lub NSMP, bez choroby resztkowej FIGO I–IVA, mutacja TP53, z naciekiem miometrium, bez choroby resztkowej FIGO I–IVA, rak nieendometrialny, MMRd lub NSMP, z naciekiem miometrium, bez choroby

Choroba zaawansowana	FIGO III–IVA z chorobą resztkową	FIGO III–IVA z chorobą resztkową – każdy podtyp molekularny
	FIGO IVB	FIGO IVB – każdy podtyp molekularny

Wytyczne ESGO/ESTRO/ESP zalecają dostosowanie strategii terapeutycznej do indywidualnych cech pacjentki. Obecność molekularnych czynników wysokiego ryzyka może uzasadniać zastosowanie bardziej agresywnej terapii adiuwantowej, nawet w przypadkach o niższym stopniu zaawansowania według klasyfikacji FIGO. Zmiana ta nie tylko zwiększa precyzję oceny zaawansowania choroby, lecz także umożliwia bardziej spersonalizowane planowanie leczenia, uwzględniające zarówno anatomiczne rozprzestrzenienie nowotworu, jak i jego cechy biologiczne. Zmiany te odzwierciedlają postęp w podejściu do EC, w którym precyzyjna ocena stopnia zaawansowania opiera się na synergii tradycyjnej oceny chirurgicznej i zaawansowanej diagnostyki molekularnej, co przekłada się na poprawę wyników onkologicznych.

W odpowiedzi na opublikowanie nowych międzynarodowych wytycznych dotyczących klasyfikacji EC, Polskie Towarzystwo Ginekologii Onkologicznej (PTGO) opracowało w 2023 roku dokument zatytułowany „Zalecenia Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej dotyczące diagnostyki i leczenia EC (2023)”. W zakresie diagnostyki i oceny zaawansowania zalecenia te pozostają zgodne z wytycznymi FIGO oraz ESGO/ESTRO/ESP. Obejmują one m.in. dostosowany do polskich realiów algorytm diagnostyki molekularnej, uwzględniający dostępność i refundację poszczególnych badań, system organizacji poradnictwa genetycznego oraz szczegółowe wytyczne dotyczące pracy pracowni histopatologicznych.

Patogeneza EC ma charakter wieloczynnikowy i obejmuje szereg zaburzeń genetycznych oraz molekularnych, które prowadzą do niekontrolowanej proliferacji komórek endometrium. Wśród nich szczególne zainteresowanie badaczy budzi dysregulacja białek regulatorowych cyklu komórkowego, zwłaszcza cyklin. Cyklina D1, odgrywająca kluczową rolę w przejściu komórek z fazy G1 do fazy S, została szeroko przebadana w kontekście różnych nowotworów, w tym również EC. Z kolei cyklina K, choć dotychczas mniej poznana, wydaje się pełnić istotną funkcję w regulacji transkrypcji oraz kontroli cyklu komórkowego. Niniejsza rozprawa doktorska

koncentruje się na roli cykliny D1 i cykliny K w raku endometrium, analizując ich mechanizmy molekularne, powiązania ze stopniem zaawansowania choroby, znaczenie kliniczne oraz wartość prognostyczną [20].

Tabela 3. Histopatologiczny podział EC [19].

Nazwa oryginalna	Nazwa w języku polskim	Częstość (%)	Definicja	Rokowanie
Endometrioid carcinoma (EEC), NOS POLE-ultramutated EEC, Mismatch repair-deficient EEC, P53-mutant EEC, NSMP* EEC	Rak endometrioidalny	ok. 85%	Gruczołakorak zbudowany z cew gruczołowych imitujących cewy prawidłowej śluzówki trzonu macicy oraz (zależnie od stopnia zróżnicowania histologicznego, G1–G3) z litych pól komórek rakowych. Powstaje na podłożu atypowego rozrostu endometrium, najczęściej u kobiet z podwyższonym wskaźnikiem masy ciała (BMI) i hyperestrogenizmem. Komórki raka wykazują ekspresję receptorów steroidowych (ER/PR). Jego etiopatogeneza jest związana z aktywacją ścieżek sygnałowych: PI3K–PTEN–AKT–mTOR, RAS–MEK–ERK, WNT– β -catenina, niestabilnością mikrosatelitarną lub mutacją genów: POLE bądź ARID1A. W grupie raków endometrioidalnych wyróżnia się cztery biologiczne podtypy molekularne (Tabela 4).	Większość raków EEC cechuje się z niskim stopniem złośliwości i dobrym rokowaniem. Odsetek raków w stopniu G3, z nadekspresją białka P53 i brakiem receptora dla estrogenu, nie przekracza 10–19% ogółu przypadków.
Serous carcinoma, NOS	Rak surowiczy	3–10%	Rak zbudowany w większości z komórek o atypii dużego stopnia tworzących układy o charakterze brodawek i mikrobrodawek i/lub	Raki o agresywnym przebiegu, odpowiadają za

			układy gruczołowe. Rozwija się na bazie polipa endometrialnego lub atroficznego endometrium u kobiet w wieku pomenopauzalnym. W większości raków surowicznych obserwuje się mutację genu P53, a w 30% przypadków amplifikację genu ERBB2 (HER2). Reakcja na receptory ER i PR wypada zmiennie, częściej jest ujemna.	40% zgonów z powodu raka trzonu macicy
Clear cell adenocarcinoma NOS	Rak jasnokomórkowy	<5%–10%	Raki wykazujące znaczną różnorodność, zarówno w odniesieniu do morfologii komórek (o jasnej lub eozynofilnej cytoplazmie, różnokształtne w tym tzw. komórki hufnalowe) jak i tworzonych struktur (układy brodawkowe ze szkliwiejącym rdzeniem, cewkowe, torbielowate i lite). Atypia komórek jest zmienna, ale przynajmniej ogniskowo stwierdza się atypie dużego stopnia. Wszystkie raki jasnokomórkowe zaliczane są do guzów o zróżnicowaniu G3. Reakcja na ER i PR z reguły ujemna.	Raki o agresywnym przebiegu
Undifferentiated and Dedifferentiated carcinoma	Rak niezróżnicowany/odróżnicowany		Rak niezróżnicowany to złośliwy nowotwór nabłonkowy, który nie wykazuje żadnych cech różnicowania w kierunku jakiegokolwiek linii komórkowej. Komórki raka tworzą jedynie lite układy. Brak reakcji na ER/PR. Częste mutacje	Raki o agresywnym przebiegu

			wielu genów, w tym TP53 i POLE, w połowie przypadków cechy niestabilności mikrosatelitarnej. W przypadku raka odróżnicowanego niezróżnicowanej składowej towarzyszy utkanie raka endometrioidnego o różnym stopniu złośliwości (G1–G3) lub raka surowiczego.	
Mixed cell adenocarcinoma	Gruczołakorak mieszkankomórkowy	ok. 10%	Rak, którego utkanie zbudowane jest z dwóch lub więcej histologicznych podtypów raka trzonu, przy czym przynajmniej jeden z nich ma postać raka surowiczego lub jasnokomórkowego. Każda ze składowych musi stanowić co najmniej 5% utkania guza	Raki o agresywnym przebiegu
Mesonephric adenocarcinoma	Gruczołakorak z pozostałości przewodów Wolffa	wyjątkowo rzadki	Gruczołakorak wywodzący się z pozostałości śródniercza (mesonephrium), czyli przewodów Wolffa. W trzonie macicy stwierdzany wyjątkowo rzadko, nieco częściej w szyjce macicy. Komórki nowotworu nie wykazują reakcji na obecność receptorów steroidowych (ER/PR), natomiast cechują się ekspresją kalretyniny oraz antygenów: CD10 i GATA3	Liczba przypadków opisanych dotychczas jest zbyt mała do oceny biologii guza
Squamous cell carcinoma NOS	Rak płaskonabłonkowy	< 0,5%	Rak, którego utkanie tworzą wyłącznie atypowe komórki nabłonka płaskiego	Rokowanie zależne od stopnia zróżnicowania, w większości przypadków złe

Mucinous carcinoma, intestinal type	Rak śluzowy, typu jelitowego	wyjątkowo rzadki	Rzadka odmiana histologiczna raka trzonu macicy, nowotwór o wysokim stopniu zróżnicowania z komórek cechujących się zdolnością do produkcji śluzu barwiącego się mocykarminem i wykazujących ekspresję antygenu CEA.	Rokowanie chorych diagnozowanych w stadium zaawansowania FIGO I–II względnie dobre
Mesonephric-like adenocarcinoma	Gruźlakorak imitujący raka z przewodów Wolffa	wyjątkowo rzadki	Wyjątkowo rzadka postać raka trzonu macicy; do 2021 roku opisano zaledwie 115 przypadków. Jest to rak pod względem histologicznym i immunofenotypowym imitujący gruczołakoraka wydzielającego się z pozostałości śródnercza (mesonephric adenocarcinoma). Nie wykazuje ekspresji receptorów steroidowych (ER/PR)	Rak o agresywnym przebiegu, co najmniej połowa przypadków jest rozpoznawana w zaawansowanym stadium choroby (FIGO ≥ II)
Carcinosarcoma NOS	Mięsakorak	ok. 5%	Jest to nowotwór dwufazowy, na którego utkanie składa się rak o wysokim stopniu złośliwości (najczęściej EEC lub rak surowiczy) i komponent mięsakowy. Składowa mięsakowa ma najczęściej postać niezróżnicowanego mięsaka o wysokim stopniu złośliwości, ale może mieć również utkanie heterologiczne (rhabdomyosarcoma, chondrosarcoma, osteosarcoma). W badaniach molekularnych wykazano, że obie składowe guza prezentują jednakowe	Raki o agresywnym przebiegu

			aberracje genetyczne. Przyjmuje się, że składowa mezenchymalna wywodzi się z komponenty nabłonkowej i powstaje na drodze przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (ang. Epithelial–Mesenchymal Transition, EMT) w trakcie progresji guza. Większość (90%) przypadków wykazuje mutacje genu TP53. Przerzuty nowotworu w ok. 90% przypadków mają utkanie raka.	
--	--	--	--	--

Dokładne zrozumienie roli cykliny D1 i cykliny K w EC może mieć kluczowe znaczenie dla identyfikacji molekularnych mechanizmów leżących u podstaw kancerogenezy tego nowotworu. Cyklina D1 została powiązana z wczesnymi etapami transformacji nowotworowej, stopniem zaawansowania guza oraz aktywnością proliferacyjną komórek. Natomiast funkcja cykliny K wciąż nie została w pełni poznana i pozostaje przedmiotem intensywnych badań. Pogłębiona analiza tych dwóch regulatorów może w przyszłości przyczynić się do opracowania nowych strategii terapeutycznych oraz udoskonalenia narzędzi prognostycznych w EC.

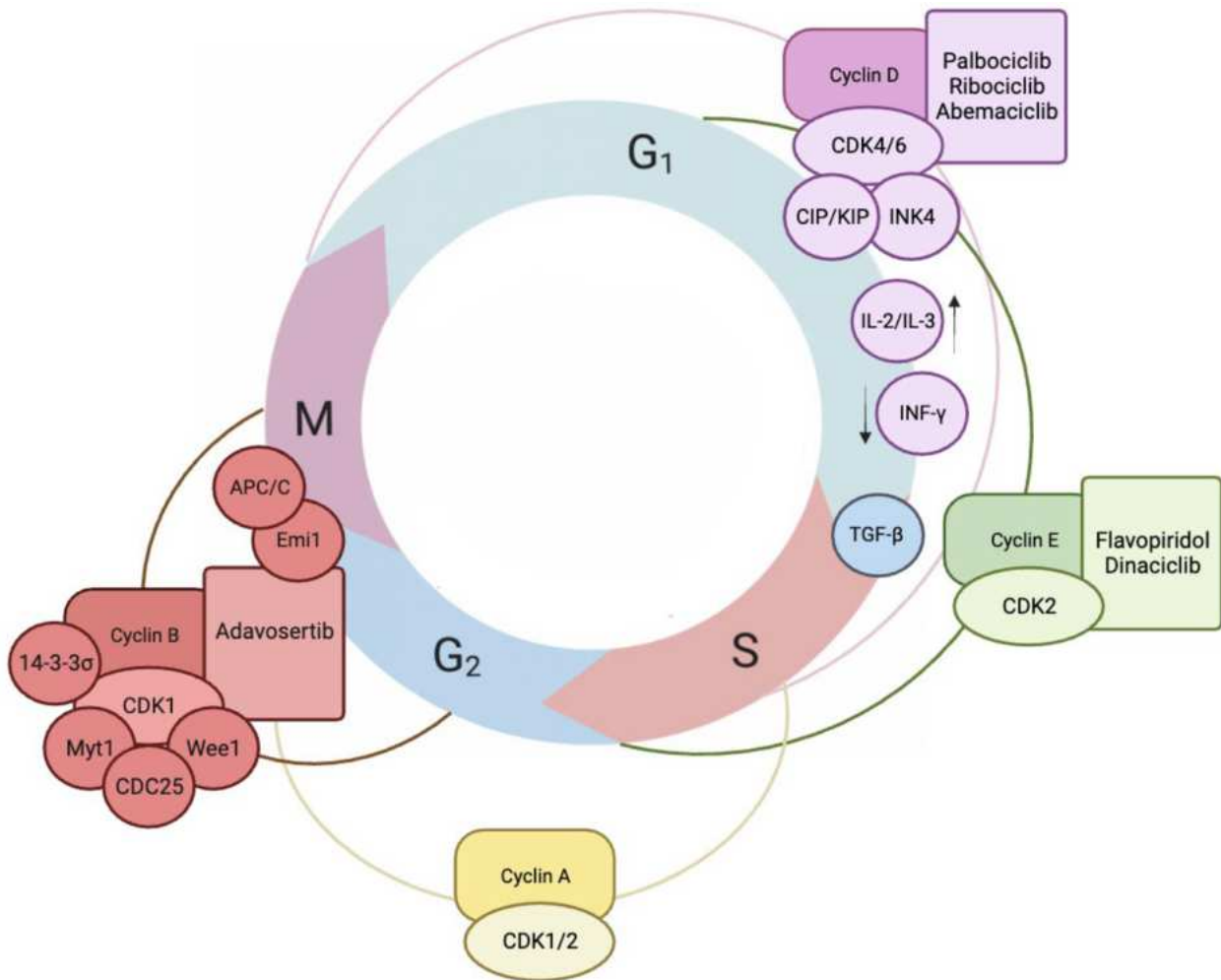
5.2. Znaczenie białek cyklu komórkowego

Cykliny stanowią kluczową grupę białek regulatorowych cyklu komórkowego, które odgrywają fundamentalną rolę w kontroli jego przebiegu [21]. Są to białka okresowo syntetyzowane i degradowane w komórkach eukariotycznych, co umożliwia precyzyjną regulację przejść między poszczególnymi fazami cyklu komórkowego [22]. Cykliny nie wykazują aktywności enzymatycznej, jednak ich funkcja opiera się na tworzeniu kompleksów z kinazami cyklinozależnymi (CDK), które są aktywowane dopiero po połączeniu z odpowiednią cykliną. Wyróżnia się kilka klas cyklin, które różnią się specyficznością działania i czasem ekspresji w cyklu komórkowym [23,24]. Cykliny fazy G1 (D1, D2, D3) są kluczowe dla inicjacji cyklu i regulacji przejścia z fazy G1 do S, podczas gdy cykliny fazy S (E i A) są zaangażowane w aktywację replikacji kwasu deoksyrybonukleinowego (ang. deoxyribonucleic acid, DNA) [25]. W fazie G2 kluczową

rolę odgrywa cyklina A, która przygotowuje komórkę do mitozy, natomiast cykliny fazy M (głównie cyklina B) są odpowiedzialne za inicjowanie podziału komórkowego i mitozę [26,27]. Aktywność cyklin jest ściśle regulowana poprzez syntezę na poziomie transkrypcji, fosforylację, a także poprzez degradację za pośrednictwem systemu ubikwityna-proteasom. Nieprawidłowa ekspresja cyklin, szczególnie ich nadekspresja, często prowadzi do zaburzeń proliferacji komórkowej i jest związana z rozwojem licznych nowotworów [21,28].

Kinazy zależne od cyklin (ang. Cyclin-Dependent Kinases, CDK) są enzymami serynowo-treoninowymi, które pełnią kluczową rolę w regulacji cyklu komórkowego poprzez fosforylację białek docelowych [21,29]. W warunkach fizjologicznych CDK są nieaktywne i wymagają połączenia z cykliną, aby uzyskać aktywność katalityczną. Kompleks cyklina-CDK działa jako centralny mechanizm regulacyjny cyklu komórkowego, kontrolując przejście między jego poszczególnymi fazami [30,31]. Każda kinaza wykazuje swoistość wobec konkretnej cykliny, co decyduje o ich wspólnym działaniu na danym etapie cyklu. Głównymi kinazami cyklinozależnymi zaangażowanymi w cykl komórkowy są CDK4 (ang. Cyclin-Dependent Kinase 4, CDK4) i CDK6 (ang. Cyclin-Dependent Kinase 6, CDK6) (związane z cyklinami D), CDK2 (ang. Cyclin-Dependent Kinase 2, CDK 2), tworzące kompleksy z cykliną E i A, oraz CDK1 (ang. Cyclin-Dependent Kinase 1, CDK1) (współdziałające z cykliną B) [23,30,32]. Kompleks cyklina D1-CDK4 inicjuje fosforylację białka retinoblastomy (ang. Retinoblastoma protein, pRB), co prowadzi do uwolnienia rodziny czynników transkrypcyjnych (ang. E2F transcription factor family, E2F) i przejścia komórki z fazy G1 do fazy S [33,34]. Z kolei Kompleks cyklina K-CDK12/13 (ang. Cyclin K-CDK12/13 complex, CycK-CDK12/13) pełni istotną rolę w regulacji elongacji transkrypcji oraz stabilności genomu [35]. Regulacja aktywności CDK odbywa się na kilku poziomach, w tym przez fosforylację i defosforylację reszt treoninowych i tyrozynowych, a także przez bezpośrednią inhibicję za pomocą białek z rodziny inhibitorów kinaz cyklinozależnych (ang. Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors, CKI) [21,36]. Dysregulacja aktywności kinaz cyklinozależnych często prowadzi do niekontrolowanej proliferacji komórek i jest jednym z kluczowych mechanizmów onkogenezy [37].

CDKIs stanowią grupę białek pełniących funkcję negatywnych regulatorów cyklu komórkowego poprzez hamowanie aktywności kompleksów cyklina-CDK [38]. W zależności od specyficzności działania wyróżnia się dwie główne grupy inhibitorów: rodzina inhibitorów CDK (p21, p27, p57) (ang. CIP/KIP family (CDK inhibitors), CIP/KIP), które mogą hamować aktywność szerokiego zakresu kompleksów CDK-cyklina, oraz rodzina inhibitorów CDK (p15, p16, p18, p19) (ang. INK4 family (CDK inhibitors), INK4), które specyficznie blokują kinazy CDK4 i CDK6 poprzez uniemożliwienie ich połączenia z cykliną D [21,39–41]. CDKI pełnią kluczową rolę w odpowiedzi na uszkodzenie DNA oraz w procesach różnicowania komórkowego. Jednym z szerzej opisanych przykładów jest Białko supresorowe p21 (ang. Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1A, p21/Cip1/Waf1), którego ekspresja jest regulowana przez TP53 [42,43]. p21 odgrywa kluczową rolę w zatrzymaniu cyklu komórkowego w fazie G1 w odpowiedzi na stres genotoksyczny, hamując aktywność kompleksów cyklina-CDK i tym samym zapobiegając replikacji uszkodzonego DNA [44,45]. Z kolei inhibitor kinaz CDK p16INK4a (ang. Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A, p16^{INK4a}) należący do rodziny inhibitorów CDK typu INK4, specyficznie hamuje aktywność kompleksu cyklina D–CDK4, uniemożliwiając fosforylację białka Rb i w konsekwencji blokując przejście komórki z fazy G1 do fazy S. W ten sposób p16INK4a pełni istotną funkcję w kontroli cyklu komórkowego, działając jako czynnik zabezpieczający przed niekontrolowaną proliferacją komórek [46–48]. W kontekście terapii nowotworowych, zmniejszenie ekspresji inhibitorów CDK lub ich mutacje prowadzą do utraty kontroli nad cyklem komórkowym, co sprzyja rozwojowi nowotworów [38,49]. W ostatnich latach opracowano inhibitory CDK o potencjale terapeutycznym, takie jak palbociclib, ribociclib i abemaciclib, które specyficznie hamują aktywność CDK4/6 i są stosowane w leczeniu zaawansowanego raka piersi. Mimo że inhibitory te stanowią przełom w terapii przeciwnowotworowej, nadal istnieje potrzeba rozwijania nowych związków o większej swoistości i mniejszej toksyczności [50–52].



Rycina 1. Schemat ukazujący złożone zależności regulacyjne między białkami, przedstawia dynamiczne interakcje cyklin, CDKs i CDKIs w przebiegu cyklu komórkowego [53].

5.3. Cyklina D1 w regulacji cyklu komórkowego i patogenezie EC

Cyklina D1, kodowana przez gen cykliny D1 (ang. Cyclin D1 gene, CCND1) zlokalizowany na chromosomie 11q13, należy do rodziny cyklin i pełni kluczową rolę w regulacji cyklu komórkowego [54]. Poprzez tworzenie kompleksów z kinazami zależnymi od cyklin (ang. Cyclin-Dependent Kinases, CDK), głównie CDK4 i CDK6, cyklina D1 inicjuje fosforylację pRb, co prowadzi do uwolnienia czynników transkrypcyjnych z rodziny E2F [23,55,56]. Uwolnione białka E2F aktywują ekspresję genów zaangażowanych w replikację DNA oraz biosyntezę nukleotydów, takich jak białko inicjujące replikację CDC6 (ang. Cell Division Cycle 6, CDC6) i kompleks białek MCM2–7 (ang. Minichromosome Maintenance Complex Components 2–7, MCM2–7), co

przygotowuje komórkę do rozpoczęcia fazy S [57–60]. Deregulacja tego szlaku, na przykład poprzez nadekspresję cykliny D1 lub mutacje w genie kodującym pRb, może prowadzić do niekontrolowanego wzrostu komórek i rozwoju nowotworów [21,57,61]. Nieprawidłowa ekspresja cykliny D1 została zaobserwowana w różnych nowotworach i często wiąże się z niekontrolowaną proliferacją komórkową, progresją nowotworu oraz niekorzystnym rokowaniem [62].

Wartość prognostyczna cykliny D1 w EC jest przedmiotem licznych badań. Niektóre z nich wykazały, że wysoka ekspresja tego białka koreluje ze zwiększonym stopniem zaawansowania nowotworu i jego aktywnością proliferacyjną, o czym świadczy jej związek z markerami takimi jak marker proliferacji Ki-67 (ang. Ki-67 proliferation marker, Ki-67), cyklina E (ang. Cyclin E, CCNE) i cyklina A (ang. Cyclin A, CCNA) [63]. Nadekspresję cykliny D1 zaobserwowano głównie w raku endometrioidalnym oraz złożonej hiperplazji, co sugeruje jej udział w wczesnych stanach przednowotworowych. Jednocześnie niższe poziomy ekspresji są charakterystyczne dla podtypów o wysokim stopniu złośliwości, takich jak rak surowiczy, co wskazuje na potencjalnie odmienne mechanizmy w patogenezie tego nowotworu [64]. Badania wskazują również na istotne różnice w ekspresji cykliny D1 pomiędzy prostą hiperplazją a rakiem endometrium, podczas gdy w złożonej hiperplazji i raku nie zaobserwowano takich różnic. Chociaż wykazano istotną korelację między ekspresją cykliny D1 a statusem menopauzalnym, nie stwierdzono związku z innymi parametrami kliniczno-patologicznymi [65]. W modelach mysich wykazano, że ekspresja cykliny D1T286A przyczynia się do nasilonej proliferacji komórek endometrium oraz zwiększa ryzyko rozwoju hiperplazji i EC w warunkach współistniejącej utraty genu PTEN. Zaobserwowano także wzmożoną aktywację szlaku czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (ang. Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B), który indukuje odpowiedź zapalną, co dodatkowo wspiera proces nowotworzenia. Wykazano, że obecność mutacji cykliny D1T286A współdziałającej z utratą genu supresorowego PTEN (ang. Phosphatase and Tensin Homolog, PTEN) znacząco przyspiesza rozwój hiperplazji endometrium i sprzyja progresji do inwazyjnego raka endometrioidalnego. Podkreśla to znaczenie dysregulacji cykliny D1 jako wczesnego wydarzenia w procesie nowotworzenia, a także sugeruje potencjalną rolę szlaku NF- κ B w promowaniu procesów karcynogenezy [66]. W bardziej zaawansowanych stadiach EC, obejmujących stopnie III

i IV, oraz w nowotworach o niższym stopniu zróżnicowania G2 i G3, obserwuje się jednak zwiększoną ekspresję cykliny D1. Sugeruje to złożoną rolę cykliny D1 w patogenezie EC, zależną zarówno od typu histologicznego, jak i stopnia zaawansowania choroby [67]. Cyklina D1 odgrywa istotną rolę w patogenezie EC, jednak zależność między jej ekspresją a pozostałymi parametrami kliniczno-patologicznymi oraz ogólnym rokowaniem pozostaje niejednoznaczna, co podkreśla potrzebę dalszych, pogłębionych badań w celu pełniejszego zrozumienia jej znaczenia diagnostycznego i prognostycznego.

5.4. Cyklina K jako regulator transkrypcji i potencjalny czynnik rozwoju EC

Podobnie jak cyklina D1, cyklina K należy do rodziny cyklin i bierze udział w regulacji cyklu komórkowego, przy czym dodatkowo pełni istotną rolę w procesach transkrypcji. Kodowana przez gen cykliny K (ang. Cyclin K gene, CCNK) zlokalizowany na chromosomie 14q32, cyklina K współdziała z CDKs, fosforylując podjednostkę polimerazy RNA II (ang. RNA Polymerase II, RNA Pol II) i wspomagając elongację transkrypcji [68,69]. Wiąże się z kinazą zależną od cykliny 9 (ang. Cyclin-Dependent Kinase 9, CDK9) tworząc kompleksy modulujące transkrypcję zależną od polimerazy RNA II, a także z kinazą zależną od cykliny 12 (ang. Cyclin-Dependent Kinase 12, CDK12) i kinazą zależną od cykliny 13 (ang. Cyclin-Dependent Kinase 13, CDK13), które pełnią kluczową rolę w regulacji ekspresji genów oraz utrzymaniu stabilności genomu [70]. Poza regulacją transkrypcyjną, CDK12 i CDK13 uczestniczą również w obróbce RNA, składaniu egzonów oraz kontroli translacji, łącząc elongację transkrypcji z modyfikacjami potranslacyjnymi. CDK12 zapewnia prawidłową ekspresję genów naprawy DNA przez zapobieganie przedwczesnej poliadenylacji, a także reguluje ekspresję genów mitotycznych poprzez bezpośrednią fosforylację czynników inicjujących translację. CDK13 bierze udział w nadzorze nad RNA, zapobiegając stabilizacji i translacji nieprawidłowych matrycowych RNA (mRNA, ang. messenger RNA), co również może sprzyjać onkogenezie [71]. Deregulacja cykliny K może prowadzić do zaburzeń transkrypcji i destabilizacji genomu, co może sprzyjać progresji nowotworów [72].

Utrata funkcji cykliny K w raku prostaty sprzyja ekspresji wariantów receptora androgenowego (ang. Androgen Receptor, AR) oporności na leczenie i indukcji fenotypu podobnego do mutacji BRCA („BRCAness”), co zwiększa wrażliwość na inhibitory PARP, czyniąc

z niej atrakcyjny cel terapeutyczny w zaawansowanym raku prostaty [73]. Ponadto, cyklina K jest nadekspresjonowana w raku gruczołowym trzustki (ang. Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, PDAC), gdzie koreluje z krótszym przeżyciem i promuje przejście G1-S poprzez aktywację CDC20. Jej zahamowanie w modelach in vivo osłabia proliferację oraz zwiększa wrażliwość na leczenie GemTaxolem i inhibitorami PARP [72].

Mimo że dostępne źródła naukowe dostarczają ograniczonych informacji na temat roli cykliny K w raku endometrium, liczne badania wskazują na jej istotne znaczenie w patogenezie innych nowotworów, co może mieć również odniesienie do EC. Przykładowo, w raku płuca wykazano, że cyklina K stabilizuje β -kateninę oraz zwiększa ekspresję cykliny D1, co prowadzi do nasilonej proliferacji komórek nowotworowych i oporności na radioterapię. Jej wyciszenie zaburza punkt kontrolny G2/M, hamując wzrost guza i zwiększając jego wrażliwość na napromienianie. Podkreśla to potencjał terapeutyczny związany z modulacją aktywności tego białka. Coraz więcej dowodów wskazuje, że cyklina K jest kluczowym regulatorem procesów nowotworowych. Jej nadekspresja została powiązana z progresją wielu typów nowotworów oraz nasileniem proliferacji komórek, co czyni ją obiecującym celem terapeutycznym. Choć funkcja cykliny K w raku endometrium pozostaje słabo scharakteryzowana, wiadomo, że uczestniczy w regulacji transkrypcji i kontroli cyklu komórkowego, co sugeruje jej potencjalny wpływ na rozwój tego nowotworu. Dysregulacja cykliny K może prowadzić do nieprawidłowej ekspresji genów istotnych dla przeżycia i podziału komórek, sprzyjając progresji choroby. Co więcej, cyklina K tworzy aktywne kompleksy z kinazami CDK12 i CDK13, które odgrywają istotną rolę w regulacji transkrypcji. Zaburzenia w funkcjonowaniu tych kompleksów mogą mieć znaczenie w rozwoju i progresji EC [72,74].

Jednakże konieczne są dalsze badania w celu wyjaśnienia dokładnej funkcji cykliny K i jej znaczenia klinicznego w raku endometrium, zwłaszcza w kontekście możliwych strategii terapeutycznych ukierunkowanych na kompleksy cykliny K–CDK12/13 [20].

6. Założenia i cel pracy

W rozprawie przyjęto założenie, że ekspresja cykliny K (CCNK) oraz cykliny D1 (CCND1) wykazuje istotne różnice pomiędzy rakiem endometrium a histologicznie normotypową błoną śluzową trzonu macicy. Zakładano, że wysoka ekspresja CCND1 towarzyszy wczesnym etapom progresji nowotworu, natomiast jej obniżenie jest charakterystyczne dla bardziej agresywnych podtypów raka, takich jak rak surowiczy. Przyjęto również, że poziomy ekspresji CCNK i CCND1 zależne są od niektórych cech kliniczno-patologicznych, w tym typu histologicznego nowotworu, stopnia zaawansowania choroby oraz przeżycia pacjentek. Założono ponadto, że przeprowadzone analizy *in silico* oraz badania immunohistochemiczne pozwolą potwierdzić prognostyczne znaczenie obu cyklin oraz ich potencjał jako biomarkerów i możliwych celów terapii spersonalizowanych w raku endometrium.

6.1. Cel I – Publikacja nr 1

Celem pracy pt. „Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study” opublikowanej w *Int J Mol Sci* (doi: 10.3390/cancers16040836) było określenie znaczenia prognostycznego oraz potencjalnych funkcji cykliny D1 (CCND1) w raku endometrium poprzez:

- porównanie poziomu ekspresji CCND1 w rakach endometrium i histologicznie normotypową błoną śluzową trzonu macicy,
- analizę zależności ekspresji CCND1 z cechami kliniczno-patologicznymi oraz przeżyciem pacjentek,
- ocenę potencjału CCND1 jako biomarkera prognostycznego i potencjalnego celu terapeutycznego.

6.2. Cel II – Publikacja nr 2

Celem pracy pt. „Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis.” opublikowanej w *Cancers* (doi: 10.3390/cancers17050792) było określenie znaczenia prognostycznego oraz potencjalnych funkcji cykliny K (CCNK) w raku endometrium poprzez:

- porównanie poziomu ekspresji CCNK w rakach endometrium i histologicznie normotypową błoną śluzową trzonu macicy,
- analizę zależności ekspresji CCNK z cechami kliniczno-patologicznymi oraz przeżyciem pacjentek,
- ocenę potencjału CCNK jako biomarkera prognostycznego i potencjalnego celu terapeutycznego.

7. Komentarze do publikacji wchodzących w skład cyklu stanowiącego podstawę postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora

7.1. Publikacja nr 1

Pierwsza publikacja wchodząca w skład cyklu prac naukowych włączonych do rozprawy doktorskiej jest pracą badawczą pt. „Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study” opublikowaną w Int J Mol Sci w 2025 r. (doi: 10.3390/cancers16040836). Przedstawia ona wyniki oryginalnych analiz dotyczących ekspresji cykliny D1 (CCND1) w raku endometrium. W ramach realizacji projektu doktorskiego skupiono się na ocenie wartości prognostycznej oraz funkcjonalnej roli cykliny D1 w raku błony śluzowej trzonu macicy, wykorzystując metody immunohistochemiczne oraz analizy *in silico* oparte na danych z bazy The Cancer Genome Atlas (TCGA).

EC stanowi jeden z najczęściej występujących nowotworów złośliwych układu rozrodczego kobiet, a jego zachorowalność na przestrzeni ostatnich dekad znacząco wzrosła, zwłaszcza w krajach wysokorozwiniętych. Podział EC na dwa główne typy — estrogenozależny typ I oraz agresywny, niezależny hormonalnie typ II — znajduje odzwierciedlenie zarówno w cechach histopatologicznych, jak i w odmiennej patogenezie molekularnej. Kluczowym aspektem progresji tego nowotworu jest deregulacja cyklu komórkowego, w tym nadekspresja CCND1, białka regulującego fazę G1 cyklu komórkowego poprzez aktywację kompleksów CDK4/6.

W części eksperymentalnej badania wykorzystano archiwalny materiał tkankowy pochodzący z Katedry Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, pozyskany zgodnie z decyzją Komisji Bioetycznej (KB/87/2020). Grupę badaną stanowiło 128 pacjentek z histologicznie potwierdzonym rozpoznaniem EC, które przeszły leczenie operacyjne w Klinice Położnictwa, Chorób Ginekologicznych i Ginekologii Onkologicznej Szpitala Uniwersyteckiego nr 2 im. dr. Jana Biziela w Bydgoszczy. Zabieg obejmował histerektomię brzuszną z obustronnym wycięciem

przydatków (salpingo-ooforektomią) oraz limfadenektomię. Średni wiek pacjentek wynosił 66,2 roku, przy medianie 66 lat i przedziale wiekowym od 40 do 84 lat.

W badaniu uwzględniono kluczowe zmienne kliniczne i patologiczne, w tym wiek (≤ 60 vs. > 60 lat), stopień histologiczny guza (G1, G2, G3), zaawansowanie miejscowe guza pierwotnego (pT1–pT4), stan węzłów chłonnych (pN0–pN1), obecność przerzutów odległych (pM0–pM1), stadium zaawansowania według klasyfikacji FIGO (I–IV), obecność inwazji przestrzeni naczyniowo-limfatycznych (LVSI) oraz typ histologiczny guza (endometrioidalny vs. nieendometrioidalny). Ze względu na heterogenny charakter badanej populacji i ograniczoną liczebność poszczególnych podgrup klasyfikacji FIGO, zastosowano uproszczoną klasyfikację, umożliwiającą uchwycenie głównych trendów w progresji choroby.

Długi okres obserwacji pacjentek, którego mediana wyniosła 106,5 miesiąca, pozwolił na wiarygodną ocenę przeżycia pooperacyjnego. W tym czasie zmarło 58 kobiet (45,31% badanej grupy), a kompletne dane przeżycia były dostępne dla wszystkich pacjentek. Tak obszerna baza kliniczno-patologiczna stworzyła solidne podstawy do pogłębionej analizy zależności pomiędzy ekspresją cykliny D1 a przebiegiem choroby.

Dodatkowo, dla potrzeb porównań, utworzono grupę kontrolną złożoną z materiału uzyskanego od 30 pacjentek, które przeszły histerektomię z powodu mięśniaków macicy w tej samej klinice. Wiek kobiet w grupie kontrolnej mieścił się w przedziale od 45 do 71 lat (średnia 60 lat). Badanie histopatologiczne wykazało prawidłową strukturę endometrium, bez cech proliferacji, zapalenia czy zmian nowotworowych.

Analiza immunohistochemiczna (IHC, ang. immunohistochemistry) obejmowała ocenę intensywności barwienia oraz procentowego udziału komórek wykazujących ekspresję białka CCND1 w jądrach komórkowych przy użyciu skali immunoreaktywności IRS (ang. ImmunoReactive Score). Wyniki wskazały na jądrową lokalizację CCND1 zarówno w tkankach prawidłowych, jak i nowotworowych, przy czym najwyższą ekspresję zaobserwowano w przypadkach raka surowiczego. Pomimo zmienności intensywności barwienia pomiędzy poszczególnymi próbkami,

nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w ekspresji CCND1 pomiędzy grupą badaną a kontrolą, ani w poszczególnych podtypach histologicznych.

Wysoka ekspresja białka CCND1 była obserwowana w większości przypadków, niezależnie od cech kliniczno-patologicznych, takich jak wiek, stopień histologiczny, zaawansowanie pT, obecność przerzutów do węzłów chłonnych (ang. Regional lymph nodes status, pN) czy obecność naciekania naczyń (ang. Lymphovascular Space Invasion, LVSI). Co istotne, zaobserwowano tendencję do wykazania zależności pomiędzy wysoką ekspresją CCND1 a gorszym przeżyciem całkowitym (ang. overall survival, OS), jednak zależność ta nie osiągnęła poziomu istotności statystycznej.

Równolegle przeprowadzone analizy *in silico* oparte o dane z bazy TCGA wykazały istotnie wyższą ekspresję mRNA CCND1 w rakach endometrium w porównaniu do tkanek prawidłowych, co potwierdza znaczenie tego genu w procesie karcynogenezy endometrium. Co ciekawe, analiza przeżycia wskazała, że niższy poziom transkryptów CCND1 wiązał się z gorszym rokowaniem u pacjentek z typem endometrioidalnym raka, co pozostaje w kontraście do wyników na poziomie białka. Taka rozbieżność podkreśla złożoność regulacji cykliny D1, z możliwym udziałem mechanizmów posttranskrypcyjnych, takich jak mikroRNA czy białka wiążące RNA, a także zmienności w translacji i stabilności białka.

Rozwinięta część bioinformatyczna pracy obejmowała identyfikację genów współekspresowanych z CCND1 oraz analizę szlaków biologicznych, w których uczestniczą. Wśród silnie skorelowanych genów znalazły się m.in. gen *SPRY2* (ang. Sprouty RTK signaling antagonist 2, *SPRY2*), gen *SPRY4* (ang. Sprouty RTK signaling antagonist 4, *SPRY4*) i czynnik transkrypcyjny ETS variant 4 (ang. ETS Variant Transcription Factor 4, *ETV4*), a analizy funkcjonalne wskazały na istotny udział cykliny D1 w szlakach transdukcji sygnału, degradacji kolagenu, kaskadach MAPK (ang. Mitogen-Activated Protein Kinase pathway) oraz oddziaływaniach z integrzynami. Dodatkowo, analizy sieci interakcji białkowych (ang. Protein-Protein Interaction, PPI) oraz szlaków sygnalizacyjnych z bazy wiedzy o szlakach biologicznych (ang. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) uwiaryściły potencjalne mechanizmy prowadzące do nadekspresji CCND1

w raku endometrium, w tym aktywację szlaku Wnt/ β -katenina w typie I oraz zaburzenia w szlakach p53 i ErbB w typie II.

Podsumowując, publikacja wnosi istotny wkład w zrozumienie roli CCND1 w EC, łącząc wyniki analiz eksperymentalnych z kompleksową oceną bioinformatyczną. Zwraca uwagę na złożoność zależności pomiędzy poziomem białka i mRNA oraz sugeruje, że CCND1 może stanowić potencjalny cel terapeutyczny, zwłaszcza w kontekście nowotworów o agresywnym przebiegu i słabej odpowiedzi na standardowe terapie. Jednocześnie, wyniki pracy wskazują na konieczność dalszych badań funkcjonalnych i walidacyjnych, które pozwolą na pełne zrozumienie mechanizmów regulujących ekspresję i funkcję cykliny D1 w tym nowotworze.

7.2. Publikacja nr 2

Druga publikacja wchodząca w skład cyklu rozprawy doktorskiej stanowi pracę badawczą pt. „Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and *In Silico* Analysis” opublikowaną w czasopiśmie *Cancers* w 2025 roku (doi: 10.3390/cancers17050792). W ramach realizacji celów rozprawy doktorskiej skoncentrowano się na analizie ekspresji cykliny K (CCNK) w raku endometrium oraz ocenie jej znaczenia prognostycznego z wykorzystaniem metod immunohistochemicznych i bioinformatycznych w oparciu o dane z The Cancer Genome Atlas (TCGA).

CCNK, będąca regulatorem transkrypcji i cyklu komórkowego, coraz częściej wskazywana jest jako potencjalny czynnik prognostyczny i terapeutyczny w nowotworach. Jej nadekspresja została wcześniej opisana w raku płuca, prostaty i piersi, gdzie wiązała się z nasileniem agresywności nowotworu i opornością na terapię. Jednak do momentu publikacji niniejszej pracy, rola CCNK w raku endometrium pozostawała nieznaną.

W badaniu wykorzystano archiwalny materiał tkankowy pochodzący z Katedry Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, obejmujący 128 przypadków EC oraz materiał kontrolny od 30 pacjentek po histerektomii z powodu mięśniaków macicy. Analizie poddano zarówno podtypy endometrioidalne, jak i nieendometrioidalne EC. Materiał poddano ocenie immunohistochemicznej z zastosowaniem skali immunoreaktywności IRS, a wyniki zestawiono

z danymi kliniczno-patologicznymi pacjentek. Równolegle przeprowadzono analizy transkryptomiczne w oparciu o dane TCGA, obejmujące ekspresję mRNA *CCNK* oraz analizy funkcjonalne współekspresowanych genów i sieci interakcji białkowych.

Wyniki jednoznacznie wykazały istotnie wyższą ekspresję *CCNK* w tkankach nowotworowych w porównaniu do tkanek prawidłowych. Szczególnie wysoka ekspresja białka *CCNK* była skorelowana z zaawansowanym stadium nowotworu (ang. pathological Tumor stage, pT) oraz wyższym stopniem zaawansowania FIGO, co sugeruje jej rolę w progresji choroby. Co istotne, analiza OS wykazała, że wysoka ekspresja *CCNK* była istotnie związana z gorszym rokowaniem w całej kohorcie pacjentek z rakiem endometrium, a zjawisko to było szczególnie widoczne w podtypach nieendometrioidalnych, cechujących się bardziej agresywnym przebiegiem klinicznym. W podtypach endometrioidalnych nie zaobserwowano tej zależności.

Część bioinformatyczna potwierdziła zróżnicowaną ekspresję mRNA *CCNK* pomiędzy podtypami histologicznymi. Szczególnie istotna była wyższa ekspresja transkryptu *CCNK* w podtypach nieendometrioidalnych w porównaniu do tkanek prawidłowych, co dodatkowo wskazuje na możliwą rolę *CCNK* w patogenezie agresywnych form EC. Analizy korelacji ujawniły silne powiązania *CCNK* z genami biorącymi udział w metabolizmie RNA, regulacji transkrypcji oraz organizacji chromatyny, m.in. z genem związanym z demetylacją DNA (ang. AlkB Homolog 1, *ALKBH1*) i czynnikiem transkrypcyjnym Yin Yang 1 (ang. Yin Yang 1, *YY1*). Co więcej, analiza szlaków biologicznych wskazała na udział *CCNK* w kluczowych procesach takich jak transkrypcja zależna od polimerazy RNA II, naprawa DNA oraz kontrola podziałów komórkowych.

Dodatkowym wnioskiem z pracy jest wskazanie, że *CCNK* – poprzez swoje powiązania z CDK12 i CDK13 – może uczestniczyć w regulacji genów odpowiedzialnych za odpowiedź na uszkodzenia DNA, co czyni ją potencjalnym celem terapeutycznym, szczególnie w kontekście nowotworów opornych na leczenie. Analiza sieci interakcji białkowych dodatkowo uwypukliła znaczenie białek takich jak białko szoku cieplnego 90 α (ang. Heat Shock Protein 90 Alpha Family Class A Member 1, *HSP90AA1*) czy podjednostka B polimerazy RNA (ang. RNA polymerase II subunit B, *PIIOLR2B*), które mogą stabilizować kompleksy transkrypcyjne, wspierając przeżywalność komórek nowotworowych.

Podsumowując, publikacja wnosi nową wartość do zrozumienia roli CCNK w EC, ukazując jej związek z zaawansowaniem choroby i rokowaniem, zwłaszcza w niekorzystnych podtypach histologicznych. Wyniki sugerują, że CCNK może stanowić użyteczny marker prognostyczny oraz potencjalny cel terapeutyczny, wymagający dalszych badań funkcjonalnych. Komentarz w kolejnych częściach powinien skupić się na szczegółowej analizie uzyskanych wyników w odniesieniu do dotychczasowej literatury oraz omówieniu implikacji praktycznych dla diagnostyki i terapii EC.

8. Wnioski

Wyniki obu badań wnoszą cenny wkład w wiedzę o roli regulatorów cyklu komórkowego w raku endometrium (EC), podkreślając ich znaczenie prognostyczne i potencjalne implikacje terapeutyczne.

Na podstawie przyjętych założeń badawczych, wyniki obu analiz dostarczyły bezpośrednich dowodów na różnice w ekspresji cyklin K (CCNK) i D1 (CCND1) w tkankach EC w porównaniu do zdrowych tkanek, a także na ich związek z cechami kliniczno-patologicznymi i przeżyciem pacjentek.

W literaturze sugeruje się, że nadekspresja CCND1 może stanowić wczesne zdarzenie karcynogenezy, szczególnie w przypadkach złożonej hiperplazji i raka endometrioidalnego. W analizie immunohistochemicznej przedstawionego badania nie stwierdzono jednak statystycznie istotnych różnic ekspresji CCND1 pomiędzy rakiem endometrium a histologicznie normotypową błoną śluzową trzonu macicy, ani pomiędzy podtypami histologicznymi EC. Zaobserwowano natomiast zróżnicowany poziom ekspresji CCND1 w poszczególnych przypadkach, przy czym obniżona ekspresja była częstsza w agresywnych podtypach, takich jak rak surowiczy. W przeciwieństwie do doniesień literaturowych sugerujących udział CCND1 w początkowych stadiach karcynogenezy, w niniejszym badaniu nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic ekspresji tego białka w zależności od podtypu histologicznego, stopnia zróżnicowania czy innych parametrów klinicznych.

Wykazano również znaczną nadekspresję cykliny K (CCNK) w tkankach EC, szczególnie w podtypach nieendometrioidalnych, gdzie wysokie poziomy CCNK korelowały z gorszym przeżyciem pacjentek. Te obserwacje potwierdzają założenie o potencjale prognostycznym CCNK oraz sugerują jej udział w mechanizmach regulujących transkrypcję i stabilność genomu.

Analiza *in silico* wykazała, że poziomy mRNA CCNK i CCND1 korelują z typem histologicznym, stopniem zaawansowania choroby oraz – w przypadku CCNK – z przeżyciem pacjentek. Dla CCND1, immunohistochemiczna analiza białka nie potwierdziła tych zależności. Wyniki badań wspierają hipotezę o potencjalnym znaczeniu CCNK jako biomarkera

prognostycznego oraz wskazują na konieczność dalszych badań nad rolą CCND1 w raku endometrium, szczególnie w kontekście złożonych mechanizmów regulacji ekspresji genu i białka. Otrzymane dane otwierają nowe perspektywy dla spersonalizowanych strategii leczenia EC.

Pomimo innowacyjnego charakteru badań, są one obciążone licznymi ograniczeniami wynikającymi z niewielkiej próby badawczej (tylko 128 pacjentek), jej heterogenności (różne podtypy histologiczne), jak również wynikające z metodologii: badanie opiera się na analizie *in silico*, co oznacza, że chociaż podejścia bioinformatyczne zapewniają szerokie możliwości porównawcze, brakuje im walidacji poprzez badania eksperymentalne *in vivo* lub *in vitro* i nie obejmują eksperymentów mających na celu bezpośrednią ocenę biologicznej roli obu cyklin w progresji EC. Pomimo skorelowania danych molekularnych z wynikami klinicznymi, brak było możliwości dokonania analizy wpływu metod leczenia i przeżycia pacjentek zależnie od poziomu ekspresji badanych cyklin. Stąd konieczne są również dalsze badania nad biologiczną rolą CCNK i CCND1 w progresji EC.

Podsumowując, przeprowadzone badania pozwalają wnioskować, że:

1. Zarówno CCND1 (na poziomie mRNA), jak i CCNK (na poziomie mRNA i białka) wykazują zmienioną ekspresję w EC w porównaniu do histologicznie prawidłowej błony śluzowej trzonu macicy, co potwierdza ich udział w patogenezie nowotworu.
2. Ekspresja obu cyklin jest związana z cechami kliniczno-patologicznymi EC, przy czym CCNK korelowała istotnie z zaawansowaniem choroby, natomiast CCND1 wykazywała zmienność ekspresji bez istotnych powiązań statystycznych z parametrami klinicznymi.
3. Wysoka ekspresja CCNK istotnie korelowała z gorszym rokowaniem pacjentek, szczególnie w agresywnych, nieendometrioidalnych podtypach EC, natomiast w przypadku CCND1 zaobserwowano jedynie tendencję do takiej zależności.
4. Analizy *in silico* potwierdziły podwyższoną ekspresję mRNA CCNK i CCND1 w EC, przy czym w przypadku CCND1 wykazano rozbieżność pomiędzy poziomem transkryptu a białkiem, co może sugerować istnienie złożonych mechanizmów regulacji potranskrypcyjnej.

5. Zarówno CCND1, jak i CCNK są zaangażowane w szlaki regulujące cykl komórkowy, transkrypcję i odpowiedź na uszkodzenia DNA, co wskazuje na ich potencjalną rolę w progresji EC i oporności na leczenie.
6. Oba białka mogą stanowić potencjalne cele terapeutyczne, szczególnie w kontekście nowotworów o agresywnym przebiegu i ograniczonej skuteczności standardowego leczenia.
7. Istnieje potrzeba dalszych analiz funkcjonalnych i walidacyjnych, które pozwolą dokładniej określić mechanizmy działania CCND1 i CCNK oraz ich przydatność jako biomarkerów prognostycznych w EC.

9. Piśmiennictwo

- [1] Green RW, Fischerová D, Testa AC, Franchi D, Frühauf F, Lindqvist PG, di Legge A, Cibula D, Fruscio R, Haak LA, Opolskiene G, Vidal Urbinati AM, Timmerman D, Bourne T, van den Bosch T, Epstein E. Sonographic, Demographic, and Clinical Characteristics of Pre- and Postmenopausal Women with Endometrial Cancer; Results from a Post Hoc Analysis of the IETA4 (International Endometrial Tumor Analysis) Multicenter Cohort. *Diagnostics* 2024;14:1.
<https://doi.org/10.3390/diagnostics14010001>
- [2] Endometrial cancer statistics. World Cancer Res Fund
<https://www.wcrf.org/preventing-cancer/cancer-statistics/endometrial-cancer-statistics/>
(accessed March 23, 2025)
- [3] Baekelandt MM, Castiglione M, ESMO Guidelines Working Group. Endometrial carcinoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2009;20 Suppl 4:29–31.
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdp120>
- [4] Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E, Vergote I. Endometrial cancer. *Lancet Lond Engl* 2005;366:491–505.
[https://doi.org/10.1016/S01406736\(05\)67063-8](https://doi.org/10.1016/S01406736(05)67063-8)
- [5] Practice Bulletin No. 149: Endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 2015;125:1006–26.
<https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000462977.61229.de>
- [6] Goldstein RB, Bree RL, Benson CB, Benacerraf BR, Bloss JD, Carlos R, Fleischer AC, Goldstein SR, Hunt RB, Kurman RJ, Kurtz AB, Laing FC, Parsons AK, Smith-Bindman R, Walker J. Evaluation of the woman with postmenopausal bleeding: Society of Radiologists in Ultrasound-Sponsored Consensus Conference statement. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med* 2001;20:1025–36.
<https://doi.org/10.7863/jum.2001.20.10.1025>
- [7] Al-Talib A, Nezhat F, Tulandi T. The role of hysteroscopy in diagnosis and management of endometrial cancer. *Gynecol Surg* 2010;7:211–6.
<https://doi.org/10.1007/s10397-010-0604-1>

- [8] Vitale SG, Riemma G, Carugno J, Chiofalo B, Vilos GA, Cianci S, Budak MS, Lasmar BP, Raffone A, Kahramanoglu I. Hysteroscopy in the management of endometrial hyperplasia and cancer in reproductive aged women: new developments and current perspectives. *Transl Cancer Res* 2020;9:7767–77.
<https://doi.org/10.21037/tcr-20-2092>
- [9] Bús D, Nagy G, Póka R, Vajda G. Clinical Impact of Preoperative Magnetic Resonance Imaging in the Evaluation of Myometrial Infiltration and Lymph-Node Metastases in Stage I Endometrial Cancer. *Pathol Oncol Res* 2021;27:611088.
<https://doi.org/10.3389/pore.2021.611088>
- [10] ASTEC study group, Kitchener H, Swart AMC, Qian Q, Amos C, Parmar MKB. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet Lond Engl* 2009;373:125–36.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61766-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61766-3)
- [11] Nout RA, Smit VT, Putter H, Jürgenliemk-Schulz IM, Jobsen JJ, Lutgens LC, van der Steen-Banasik EM, Mens JW, Slot A, Kroese MC, van Bunningen BN, Ansink AC, van Putten WL, Creutzberg CL; PORTEC Study Group. Vaginal brachytherapy versus pelvic external beam radiotherapy for patients with endometrial cancer of high-intermediate risk (PORTEC-2): an open-label, non-inferiority, randomised trial. *Lancet Lond Engl* 2010;375:816–23.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)62163-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)62163-2)
- [12] Randall ME, Filiaci VL, Muss H, Spirtos NM, Mannel RS, Fowler J, Thigpen JT, Benda JA; Gynecologic Oncology Group Study. Randomized phase III trial of whole-abdominal irradiation versus doxorubicin and cisplatin chemotherapy in advanced endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2006;24:36–44.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2004.00.7617>
- [13] Berek JS, Matias-Guiu X, Creutzberg C, Fotopoulou C, Gaffney D, Kehoe S, Lindemann K, Mutch D, Concin N; Endometrial Cancer Staging Subcommittee, FIGO Women's Cancer Committee. FIGO staging of endometrial cancer: 2023. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet* 2023;162:383–94.

<https://doi.org/10.1002/ijgo.14923>

- [14] Jak wygląda leczenie raka endometrium? Onkol Cent Kryzysowe
<https://centrumkryzysowe.org.pl/rak-endometrium/jak-wyglada-leczenie-raka-endometrium/>
(accessed March 31, 2025)
- [15] Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martín A, Ledermann J, Marth C, Nout R, Querleu D, Mirza MR, Sessa C; ESMO-ESGO-ESTRO Endometrial Consensus Conference Working Group. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2016;27:16–41.
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdv484>
- [16] Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I, Cibula D, Mirza MR, Marnitz S, Ledermann J, Bosse T, Chargari C, Fagotti A, Fotopoulou C, Gonzalez Martin A, Lax S, Lorusso D, Marth C, Morice P, Nout RA, O'Donnell D, Querleu D, Raspollini MR, Sehouli J, Sturdza A, Taylor A, Westermann A, Wimberger P, Colombo N, Planchamp F, Creutzberg CL. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc* 2021;31:12–39.
<https://doi.org/10.1136/ijgc-2020-002230>
- [17] Levine DA. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013;497:67–73.
<https://doi.org/10.1038/nature12113>
- [18] Ginekologia po Dyplomie - Klasyfikacja molekularna raka endometrium a oceny ryzyka...
<https://podyplomie.pl/ginekologia/37559,klasyfikacja-molekularna-raka-endometrium-a-oceny-ryzyka-wznowy?srsId=AfmBOoo5bOTaS94dkyt7d3HVUsdCKc2I7o4BNmFUXKui3cshKyYQonD1>
(accessed March 31, 2025)
- [19] Sznurkowski JJ, Rys J, Kowalik A, Zolciak-Siwinska A, Bodnar L, Chudecka-Glaz A, Blecharz P, Zielinska A, Marszalek A, Bidzinski M, Sawicki W. The Polish Society of Gynecological Oncology Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Endometrial Carcinoma (2023). *J Clin Med* 2023;12:1480.

<https://doi.org/10.3390/jcm12041480>

- [20] Giannone G, Tuninetti V, Ghisoni E, Genta S, Scotto G, Mittica G, Valabrega G. Role of Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors in Endometrial Cancer. *Int J Mol Sci* 2019;20:2353.
<https://doi.org/10.3390/ijms20092353>
- [21] Pellarin I, Dall'Acqua A, Favero A, Segatto I, Rossi V, Crestan N, Karimbayli J, Belletti B, Baldassarre G. Cyclin-dependent protein kinases and cell cycle regulation in biology and disease. *Signal Transduct Target Ther* 2025;10:1–62.
<https://doi.org/10.1038/s41392-024-02080-z>
- [22] Alber AB, Suter DM. Dynamics of protein synthesis and degradation through the cell cycle. *Cell Cycle* 2019;18:784–94.
<https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1598725>
- [23] Ding L, Cao J, Lin W, Chen H, Xiong X, Ao H, Yu M, Lin J, Cui Q. The Roles of Cyclin-Dependent Kinases in Cell-Cycle Progression and Therapeutic Strategies in Human Breast Cancer. *Int J Mol Sci* 2020;21:1960.
<https://doi.org/10.3390/ijms21061960>
- [24] Łukasik P, Załuski M, Gutowska I. Cyclin-Dependent Kinases (CDK) and Their Role in Diseases Development–Review. *Int J Mol Sci* 2021;22:2935.
<https://doi.org/10.3390/ijms22062935>
- [25] Rona G, Miwatani-Minter B, Zhang Q, Goldberg HV, Kerzhnerman MA, Howard JB, Simoneschi D, Lane E, Hobbs JW, Sassani E, Wang AA, Keegan S, Lavery DJ, Piatt CG, Pongor LS, Xu ML, Andrade J, Thomas A, Sicinski P, Askenazi M, Ueberheide B, Fenyö D, Nagel ZD, Pagano M. CDK-independent role of D-type cyclins in regulating DNA mismatch repair. *Mol Cell* 2024;84(7):1224–1242.e13.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2024.02.010>
- [26] Wang Z. Regulation of Cell Cycle Progression by Growth Factor-Induced Cell Signaling. *Cells* 2021;10:3327.
<https://doi.org/10.3390/cells10123327>
- [27] Lemonnier T, Dupré A, Jessus C. The G2-to-M transition from a phosphatase perspective: a new vision of the meiotic division. *Cell Div* 2020;15:9.

- <https://doi.org/10.1186/s13008-020-00065-2>
- [28] Benanti JA. Coordination of Cell Growth and Division by the Ubiquitin-Proteasome System. *Semin Cell Dev Biol* 2012;23:492–8.
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2012.04.005>
- [29] Malumbres M. Cyclin-dependent kinases. *Genome Biol* 2014;15:122.
<https://doi.org/10.1186/gb4184>
- [30] Lim S, Kaldis P. Cdks, cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation. *Development* 2013;140:3079–93.
<https://doi.org/10.1242/dev.091744>
- [31] Carneiro AK, Montessoro P da F, Fusaro AF, Araújo BG, Hemerly AS. Plant CDKs—Driving the Cell Cycle through Climate Change. *Plants* 2021;10:1804.
<https://doi.org/10.3390/plants10091804>
- [32] Arora M, Moser J, Hoffman TE, Watts LP, Min M, Musteanu M, Rong Y, Ill CR, Nangia V, Schneider J, Sanclemente M, Lapek J, Nguyen L, Niessen S, Dann S, VanArsdale T, Barbacid M, Miller N, Spencer SL. Rapid adaptation to CDK2 inhibition exposes intrinsic cell-cycle plasticity. *Cell* 2023;186:2628-2643.e21.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.05.013>
- [33] Nakagami H, Kawamura K, Sugisaka K, Sekine M, Shinmyo A. Phosphorylation of Retinoblastoma-Related Protein by the Cyclin D/Cyclin-Dependent Kinase Complex Is Activated at the G1/S-Phase Transition in Tobacco. *Plant Cell* 2002;14:1847–57.
<https://doi.org/10.1105/tpc.002550>
- [34] Kim S, Leong A, Kim M, Yang HW. CDK4/6 initiates Rb inactivation and CDK2 activity coordinates cell-cycle commitment and G1/S transition. *Sci Rep* 2022;12:16810.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-20769-5>
- [35] Blazek D, Kohoutek J, Bartholomeeusen K, Johansen E, Hulinkova P, Luo Z, Cimermanic P, Ule J, Peterlin BM. The Cyclin K/Cdk12 complex maintains genomic stability via regulation of expression of DNA damage response genes. *Genes Dev* 2011;25:2158–72.
<https://doi.org/10.1101/gad.16962311>
- [36] Grimm M, Wang Y, Mund T, Cilensek Z, Keidel EM, Waddell MB, Jäkel H, Kullmann M,

- Kriwacki RW, Hengst L. Cdk-inhibitory activity and stability of p27Kip1 are directly regulated by oncogenic tyrosine kinases. *Cell* 2007;128:269–80.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.11.047>
- [37] Susanti NMP, Tjahjono DH. Cyclin-Dependent Kinase 4 and 6 Inhibitors in Cell Cycle Dysregulation for Breast Cancer Treatment. *Molecules* 2021;26:4462.
<https://doi.org/10.3390/molecules26154462>
- [38] Ghafouri-Fard S, Khoshbakht T, Hussen BM, Dong P, Gassler N, Taheri M, Baniahmad A, Dilmaghani NA. A review on the role of cyclin dependent kinases in cancers. *Cancer Cell Int* 2022;22:325.
<https://doi.org/10.1186/s12935-022-02747-z>
- [39] Csergeová L, Krbušek D, Janoštiak R. CIP/KIP and INK4 families as hostages of oncogenic signaling. *Cell Div* 2024;19:11.
<https://doi.org/10.1186/s13008-024-00115-z>
- [40] Cerqueira A, Martín A, Symonds CE, Odajima J, Dubus P, Barbacid M, Santamaría D. Genetic characterization of the role of the Cip/Kip family of proteins as cyclin-dependent kinase inhibitors and assembly factors. *Mol Cell Biol* 2014;34.
<https://doi.org/10.1128/MCB.01163-13>
- [41] Quereda V, Porlan E, Cañamero M, Dubus P, Malumbres M. An essential role for Ink4 and Cip/Kip cell-cycle inhibitors in preventing replicative stress. *Cell Death Differ* 2016;23:430–41.
<https://doi.org/10.1038/cdd.2015.112>
- [42] Gorospe M, Wang X, Holbrook NJ. Functional Role of p21 During the Cellular Response to Stress. *Gene Expr* 2018;7:377–88.
- [43] Wang L, Han H, Dong L, Wang Z, Qin Y. Function of p21 and its therapeutic effects in esophageal cancer (Review). *Oncol Lett* 2021;21:1–1.
<https://doi.org/10.3892/ol.2020.12397>
- [44] Engeland K. Cell cycle regulation: p53-p21-RB signaling. *Cell Death Differ* 2022;29:946–60.
<https://doi.org/10.1038/s41418-022-00988-z>
- [45] Al Bitar S, Gali-Muhtasib H. The Role of the Cyclin Dependent Kinase Inhibitor p21cip1/waf1

- in Targeting Cancer: Molecular Mechanisms and Novel Therapeutics. *Cancers* 2019;11:1475.
<https://doi.org/10.3390/cancers11101475>
- [46] Romagosa C, Simonetti S, López-Vicente L, Mazo A, Lleona ME, Castellvi J, Ramon y Cajal S. p16Ink4a overexpression in cancer: a tumor suppressor gene associated with senescence and high-grade tumors. *Oncogene* 2011;30:2087–97.
<https://doi.org/10.1038/onc.2010.614>
- [47] Schirripa A, Sexl V, Kollmann K. Cyclin-dependent kinase inhibitors in malignant hematopoiesis. *Front Oncol.* 2022 Aug 11;12:916682.
<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.916682>
- [48] Hu Y, Gao J, Wang M, Li M. Potential Prospect of CDK4/6 Inhibitors in Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Manag Res* 2021;Volume 13:5223–37.
<https://doi.org/10.2147/CMAR.S310649>
- [49] Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2017;17:93–115.
<https://doi.org/10.1038/nrc.2016.138>
- [50] Piezzo M, Cocco S, Caputo R, Cianniello D, Gioia GD, Lauro VD, Fusco G, Martinelli C, Nuzzo F, Pensabene M, De Laurentiis M. Targeting Cell Cycle in Breast Cancer: CDK4/6 Inhibitors. *Int J Mol Sci* 2020;21:6479.
<https://doi.org/10.3390/ijms21186479>
- [51] Laderian B, Fojo T. CDK4/6 Inhibition as a therapeutic strategy in breast cancer: palbociclib, ribociclib, and abemaciclib. *Semin Oncol* 2017;44:395–403.
<https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2018.03.006>
- [52] Rampioni Vinciguerra GL, Sonogo M, Segatto I, Dall'Acqua A, Vecchione A, Baldassarre G, Belletti B. CDK4/6 Inhibitors in Combination Therapies: Better in Company Than Alone: A Mini Review. *Front Oncol* 2022;12:891580.
<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.891580>
- [53] Szymański M, Bonowicz K, Antosik P, Jerka D, Głowacka M, Soroka M, Steinbrink K, Kleszczyński K, Gagat M. Role of Cyclins and Cytoskeletal Proteins in Endometriosis: Insights into Pathophysiology. *Cancers* 2024;16:836.

- <https://doi.org/10.3390/cancers16040836>
- [54] PubChem. CCND1 - cyclin D1 (human)
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/gene/CCND1/human>
 (accessed March 28, 2025)
- [55] Topacio BR, Zatulovskiy E, Cristea S, Xie S, Tambo CS, Rubin SM, Sage J, Kõivomägi M, Skotheim JM. Cyclin D-Cdk4,6 Drives Cell-Cycle Progression via the Retinoblastoma Protein's C-Terminal Helix. *Mol Cell* 2019;74:758-770.e4.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.03.020>
- [56] Shanabag A, Armand J, Son E, Yang HW. Targeting CDK4/6 in breast cancer. *Exp Mol Med* 2025;57:312–22.
<https://doi.org/10.1038/s12276-025-01395-3>
- [57] Qie S, Diehl JA. Cyclin D1, cancer progression, and opportunities in cancer treatment. *J Mol Med Berl Ger* 2016;94:1313–26.
<https://doi.org/10.1007/s00109-016-1475-3>
- [58] Grant GD, Cook JG. The Temporal Regulation of S Phase Proteins During G1. *Adv Exp Med Biol* 2017;1042:335–69.
https://doi.org/10.1007/978-981-10-6955-0_16
- [59] Rankin BD, Rankin S. The MCM2-7 Complex: Roles beyond DNA Unwinding. *Biology* 2024;13:258.
<https://doi.org/10.3390/biology13040258>
- [60] Nishitani H, Morino M, Murakami Y, Maeda T, Shiomi Y. Chromatin fractionation analysis of licensing factors in mammalian cells. *Methods Mol Biol Clifton NJ* 2014;1170:517–27.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0888-2_28
- [61] Cyclin D - an overview | ScienceDirect Topics
<https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/cyclin-d>
 (accessed March 28, 2025)
- [62] Chen S, Li L. Degradation strategy of cyclin D1 in cancer cells and the potential clinical application. *Front Oncol* 2022;12.

<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.949688>

- [63] Nishimura Y, Watanabe J, Jobo T, Kato N, Fujisawa T, Kamata Y, Kuramoto H. Cyclin D1 expression in endometrioid-type endometrial adenocarcinoma is correlated with histological grade and proliferative activity, but not with prognosis. *Anticancer Res* 2004;24:2185–91.
- [64] Liang S, Mu K, Wang Y, Zhou Z, Zhang J, Sheng Y, Zhang T. CyclinD1, a prominent prognostic marker for endometrial diseases. *Diagn Pathol* 2013;8:138.
<https://doi.org/10.1186/1746-1596-8-138>
- [65] Sangwan K, Garg M, Pathak N, Bharti L. Expression of Cyclin D1 in Hyperplasia and Carcinoma of Endometrium and Its Correlation with Histologic Grade, Tumor Type, and Clinicopathological Features. *J Lab Physicians* 2020;12:165–70.
<https://doi.org/10.1055/s-0040-1721150>
- [66] Yoshida A, Phillips-Mason P, Tarallo V, Avril S, Koivisto C, Leone G, Diehl JA. Non-phosphorylatable cyclin D1 mutant potentiates endometrial hyperplasia and drives carcinoma with Pten loss. *Oncogene* 2022;41:2187–95.
<https://doi.org/10.1038/s41388-022-02243-8>
- [67] Klemba A, Kukwa W, Bartnik E, Krawczyk T, Scińska A, Golik P, Czarnecka AM. [Molecular biology of endometrial carcinoma]. *Postepy Hig Med Doswiadczalnej Online* 2008;62:420–32.
- [68] CCNK cyclin K [Homo sapiens (human)] - Gene – NCBI
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8812>
(accessed March 28, 2025)
- [69] Żuryń A, Opacka A, Krajewski A, Zielińska W, Grzanka A. The Less Known Cyclins—Uncovered. *Appl Sci* 2021;11:2320.
<https://doi.org/10.3390/app11052320>
- [70] Thomas KL, Bouguenina H, Miller DSJ, Sialana FJ, Hayhow TG, Choudhary JS, Rossanese OW, Bellenie BR. Degradation by Design: New Cyclin K Degradere from Old CDK Inhibitors. *ACS Chem Biol* 2024;19:173–84.
<https://doi.org/10.1021/acscchembio.3c00616>

- [71] Houles T, Boucher J, Lavoie G, MacLeod G, Lin S, Angers S, Roux PP. The CDK12 inhibitor SR-4835 functions as a molecular glue that promotes cyclin K degradation in melanoma. *Cell Death Discov* 2023;9:459.
<https://doi.org/10.1038/s41420-023-01754-x>
- [72] Xiao Y, Dong J. Coming of Age: Targeting Cyclin K in Cancers. *Cells* 2023;12:2044.
<https://doi.org/10.3390/cells12162044>
- [73] Sun R, Wei T, Ding D, Zhang J, Chen S, He HH, Wang L, Huang H. CYCLIN K down-regulation induces androgen receptor gene intronic polyadenylation, variant expression and PARP inhibitor vulnerability in castration-resistant prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2022;119:e2205509119.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2205509119>
- [74] Lei T, Zhang P, Zhang X, Xiao X, Zhang J, Qiu T, Dai Q, Zhang Y, Min L, Li Q, Yin R, Ding P, Li N, Qu Y, Mu D, Qin J, Zhu X, Xiao ZX, Li Q. Cyclin K regulates prereplicative complex assembly to promote mammalian cell proliferation. *Nat Commun* 2018;9:1876.
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-04258-w>

10. Streszczenie

Patogeneza raka endometrium (EC, ang. endometrial cancer) ma charakter wieloczynnikowy i obejmuje szereg zaburzeń genetycznych oraz molekularnych, prowadzących do niekontrolowanej proliferacji komórek endometrium. Wśród nich szczególne zainteresowanie budzi dysregulacja białek regulatorowych cyklu komórkowego, zwłaszcza cyklin. Cyklina D1, odgrywająca kluczową rolę w przejściu komórek z fazy G1 do fazy S, została szeroko przebadana w kontekście różnych nowotworów, w tym również EC. Z kolei cyklina K, choć dotąd mniej poznana, wydaje się pełnić istotną funkcję w regulacji transkrypcji oraz kontroli cyklu komórkowego. Niniejsza rozprawa doktorska koncentruje się na roli cykliny D1 (CCND1) i cykliny K (CCNK) w EC, analizując ich mechanizmy molekularne, powiązania ze stopniem zaawansowania choroby, znaczenie kliniczne oraz wartość prognostyczną.

W pierwszym badaniu – „Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study” – przeanalizowano rolę CCND1 w progresji i rokowaniu EC. Badanie IHC wykazało obecność jądrowej ekspresji CCND1 w tkankach nowotworowych, zróżnicowaną między podtypami EC. Analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic w ekspresji CCND1 pomiędzy EC a histologicznie prawidłową błoną śluzową trzonu macicy, ani korelacji z wiekiem, stopniem złośliwości czy stadiem FIGO. Analiza poziomu mRNA oparta na danych TCGA wykazała jednak istotną nadekspresję *CCND1* w EC względem tkanki prawidłowej. Analiza wzbogacenia funkcjonalnego wskazała na udział szlaków sygnałowych Wnt, MAPK i ERBB w deregulacji CCND1. Analiza przeżycia metodą Kaplana-Meiera wykazała nieistotną statystycznie tendencję do gorszego przeżycia pacjentek z wysoką ekspresją *CCND1*.

Drugie badanie – „Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis” – dotyczyło roli CCNK w progresji i rokowaniu EC. Badanie IHC wykazało istotnie wyższą ekspresję CCNK w EC w porównaniu z histologicznie prawidłową błoną śluzową trzonu macicy ($p < 0,0001$). Wysoka ekspresja CCNK korelowała z bardziej zaawansowanym stopniem T ($p = 0,0499$) oraz wyższym stadiem FIGO ($p = 0,0433$), co sugeruje jej udział w progresji nowotworu. Analiza przeżycia metodą Kaplana-Meiera wykazała, że wysoka ekspresja CCNK wiązała się z gorszym przeżyciem

pacjentek, szczególnie z EC nieendometrioidalnym ($p = 0,02$). Ekspresja mRNA *CCNK* była istotnie podwyższona w tym podtypie EC ($p = 0,0445$), podczas gdy w EC endometrioidalnym różnice nie były istotne. Analiza wzbogacenia funkcjonalnego wykazała udział CCNK w takich procesach jak metabolizm RNA, regulacja transkrypcji oraz organizacja chromatyny.

Podsumowując, zarówno CCND1, jak i CCNK są zaangażowane w szlaki regulujące cykl komórkowy, transkrypcję i odpowiedź na uszkodzenia DNA, co wskazuje na ich potencjalną rolę w progresji EC i oporności na leczenie. Oba białka mogą stanowić potencjalne cele terapeutyczne, szczególnie w kontekście nowotworów o agresywnym przebiegu i ograniczonej skuteczności standardowego leczenia. Jednakże istnieje potrzeba dalszych analiz funkcjonalnych i walidacyjnych, które pozwolą dokładniej określić mechanizmy działania CCND1 i CCNK oraz ich przydatność jako biomarkerów prognostycznych w EC.

11. Summary

The pathogenesis of endometrial cancer (EC) is multifactorial and involves a range of genetic and molecular disturbances that lead to uncontrolled proliferation of endometrial cells. Among these, particular attention is drawn to the dysregulation of regulatory proteins in the cell cycle, especially cyclins. Cyclin D1, which plays a key role in the transition of cells from the G1 phase to the S phase, has been extensively studied in the context of various cancers, including EC. Cyclin K, although less well-known, seems to play a significant role in transcription regulation and cell cycle control. This doctoral dissertation focuses on the role of cyclin D1 (CCND1) and cyclin K (CCNK) in EC, analyzing their molecular mechanisms, associations with disease progression, clinical significance, and prognostic value.

In the first study – “Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study” – the role of CCND1 in EC progression and prognosis was analyzed. Immunohistochemical (IHC) analysis revealed nuclear expression of CCND1 in tumor tissues, varying among EC subtypes. Statistical analysis showed no significant differences in CCND1 expression between EC and histologically normal endometrial tissue, nor correlations with age, malignancy grade, or FIGO stage. However, mRNA analysis based on TCGA data revealed significant overexpression of CCND1 in EC compared to normal tissue. Functional enrichment analysis indicated the involvement of Wnt, MAPK, and ERBB signaling pathways in CCND1 dysregulation. Kaplan-Meier survival analysis showed a statistically insignificant trend toward poorer survival for patients with high CCND1 expression.

The second study – “Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis” – focused on the role of CCNK in EC progression and prognosis. IHC analysis showed significantly higher expression of CCNK in EC compared to histologically normal endometrial tissue ($p < 0.0001$). High CCNK expression correlated with more advanced T stage ($p = 0.0499$) and higher FIGO stage ($p = 0.0433$), suggesting its involvement in tumor progression. Kaplan-Meier survival analysis indicated that high CCNK expression was associated with poorer survival, particularly in non-endometrioid EC ($p = 0.02$). CCNK mRNA expression was significantly elevated in this EC subtype ($p = 0.0445$), while in endometrioid EC, the differences were not significant. Functional

enrichment analysis showed that CCNK is involved in processes such as RNA metabolism, transcription regulation, and chromatin organization.

In conclusion, both CCND1 and CCNK are involved in pathways regulating the cell cycle, transcription, and DNA damage response, indicating their potential role in EC progression and treatment resistance. Both proteins could serve as potential therapeutic targets, especially in aggressive cancers with limited effectiveness of standard treatments. However, further functional and validation studies are needed to more precisely define the mechanisms of action of CCND1 and CCNK and their utility as prognostic biomarkers in EC.

12. Załączniki

12.1. Kopie prac stanowiących cykl publikacji

12.1.1. Publikacja nr 1



Article

Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study

Marcin Szymański ¹, Dominika Jerka ¹, Klaudia Bonowicz ^{1,2}, Paulina Antosik ³ and Maciej Gagat ^{1,2,*}

¹ Department of Histology and Embryology, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Toruń, 85-092 Bydgoszcz, Poland; md.marcinszymanski@gmail.com (M.S.); dominika.jerka@cm.umk.pl (D.J.); klaudia.bonowicz@cm.umk.pl (K.B.)

² Faculty of Medicine, Collegium Medicum, Mazovian Academy in Płock, 09-402 Płock, Poland

³ Department of Clinical Pathomorphology, Faculty of Medicine, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Toruń, 85-094 Bydgoszcz, Poland; paulina.antosik@cm.umk.pl

* Correspondence: mgagat@cm.umk.pl

Abstract: Endometrial cancer (EC) is the sixth most common cancer in women worldwide, with rising incidence, particularly in economically developed countries where obesity and type 2 diabetes are prevalent risk factors. EC comprises various histological subtypes with distinct behaviors: Type I tumors are generally estrogen-driven with favorable prognosis, while Type II tumors are hormone-independent, aggressive, and associated with poorer outcomes. Dysregulation of the cell cycle, particularly through cyclin-dependent kinases (CDKs) and their regulators like Cyclin D1 (CCND1), plays a crucial role in EC progression and recurrence. Cyclin D1 overexpression is often observed in the early stages of endometrioid carcinoma and complex hyperplasia, marking potential early carcinogenic events, while lower expression levels are common in high-grade subtypes like serous carcinoma. Although CDK inhibitors targeting Cyclin D1/CDK4/6 complexes have shown therapeutic potential in cancers such as breast and lung, their role in EC remains underexplored. This study integrates immunohistochemical evaluations of Cyclin D1 expression in EC patient samples with data from The Cancer Genome Atlas (TCGA) to assess its prognostic significance across EC subtypes. By correlating molecular, histopathological, and clinical outcomes, we aim to clarify the impact of Cyclin D1 dysregulation on EC progression and recurrence. Our findings may inform more personalized therapeutic approaches, particularly for high-grade and treatment-resistant forms of EC.

Keywords: CCND1; endometrial cancer; prognostic factor



Academic Editor: Georgios Valsamakis

Received: 19 December 2024

Revised: 14 January 2025

Accepted: 19 January 2025

Published: 22 January 2025

Citation: Szymański, M.; Jerka, D.; Bonowicz, K.; Antosik, P.; Gagat, M. Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 890. <https://doi.org/10.3390/ijms26030890>

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/>).

1. Introduction

EC ranks as the sixth most common cancer in women globally. In 2019 alone, 435,041 new cases were recorded, along with 91,641 related deaths worldwide [1]. In 2020, there were approximately 417,000 new cases, and this number has risen sharply over the past two decades [2]. With endometrial cancer often diagnosed around the seventh decade of life, many women may live another 10 to 25 years post-treatment, making its impact on their long-term quality of life a crucial consideration [3]. The rise in endometrial cancer is most notable in economically developed countries, where obesity and type 2 diabetes—key factors linked to its development—have become more prevalent. Encouragingly, most diagnoses occur when the disease is still localized; around 20% involve regional spread, while only 9% present with distant metastases [4]. Notably, the 5-year relative survival rate for EC is 81% overall but differs significantly across racial groups—84% for

white women versus 63% for black women [5]. EC originates from the inner epithelial lining of the uterus, exhibiting diverse histological subtypes and molecular phenotypes. Traditionally, it has been classified into two main types based on hormonal influences and cellular characteristics. Type I EC is associated with unopposed estrogen exposure, typically involving low-grade, well-differentiated endometrioid adenocarcinomas (grades I and II) that are more common and associated with a favorable prognosis. Conversely, Type II EC is not estrogen-driven and is generally more aggressive, encompassing high-grade tumors such as grade III endometrioid adenocarcinomas, serous clear cell, undifferentiated carcinomas, and carcinosarcomas, which are less common but linked to a poorer prognosis [6].

EC progression and recurrence are closely linked to dysregulation in the cell cycle, which is orchestrated by CDKs and their regulatory cyclins. Among these, Cyclin D1 and its associated CDK4/6 complexes play a crucial role in driving cells through the G1 phase of the cell cycle, facilitating the transition to the S phase and, subsequently, DNA replication [7]. Aberrant overexpression of Cyclin D1 has been observed in various cancers, including endometrial cancer, and is often associated with unchecked cellular proliferation, tumor progression, and poor prognosis [8]. In EC specifically, Cyclin D1 overexpression may represent an early event in carcinogenesis, often marking the transition from normal endometrial tissue through hyperplastic stages to carcinoma. Studies have shown that Cyclin D1 is particularly overexpressed in complex hyperplasia and endometrioid carcinoma, whereas lower expression is more commonly associated with high-grade subtypes like serous carcinoma, which may follow alternative oncogenic pathways [9]. In recent years, the therapeutic potential of CDK inhibitors has been explored across several cancer types, such as breast and lung cancers, with promising results, particularly in targeting advanced or resistant forms [10]. However, the role of CDK dysregulation in EC remains understudied despite evidence linking altered Cyclin D1/CDK4/6 activity to EC cell proliferation and survival [11]. Understanding the precise role of Cyclin D1 and CDK regulation in different subtypes of EC is essential, as it could uncover new treatment strategies, especially for high-grade and recurrent cases that are resistant to conventional therapies [12].

In this study, we aim to integrate immunohistochemical evaluations of Cyclin D1 expression in EC patients with data from the Cancer Genome Atlas (TCGA) to provide a comprehensive analysis of its prognostic value across different EC subtypes. By comparing patient outcomes with molecular and histopathological data, this research seeks to clarify the role of Cyclin D1 dysregulation in EC progression and recurrence, potentially guiding more personalized therapeutic approaches.

2. Results

2.1. CCND1 Immunoexpression in Endometrial Cancer and Adjacent Normal Tissue

CCND1 staining demonstrated nuclear localization in both normal and cancerous endometrial tissues. Negative control staining in normal endometrial tissue showed no detectable expression (Figure 1A), confirming the absence of nonspecific antibody binding. In endometrioid carcinoma, CCND1 expression ranged from low to strong, as illustrated in (Figure 1B) and (Figure 1C), respectively, demonstrating variability in expression within this histological subtype. In serous carcinoma, high nuclear expression of CCND1 was detected in several samples (Figure 1D), while other serous carcinoma cases showed low CCND1 expression (Figure 1E). These images reflect distinct expression patterns observed in tumor samples, indicating varying levels of CCND1 in different histological subtypes of endometrial cancer.

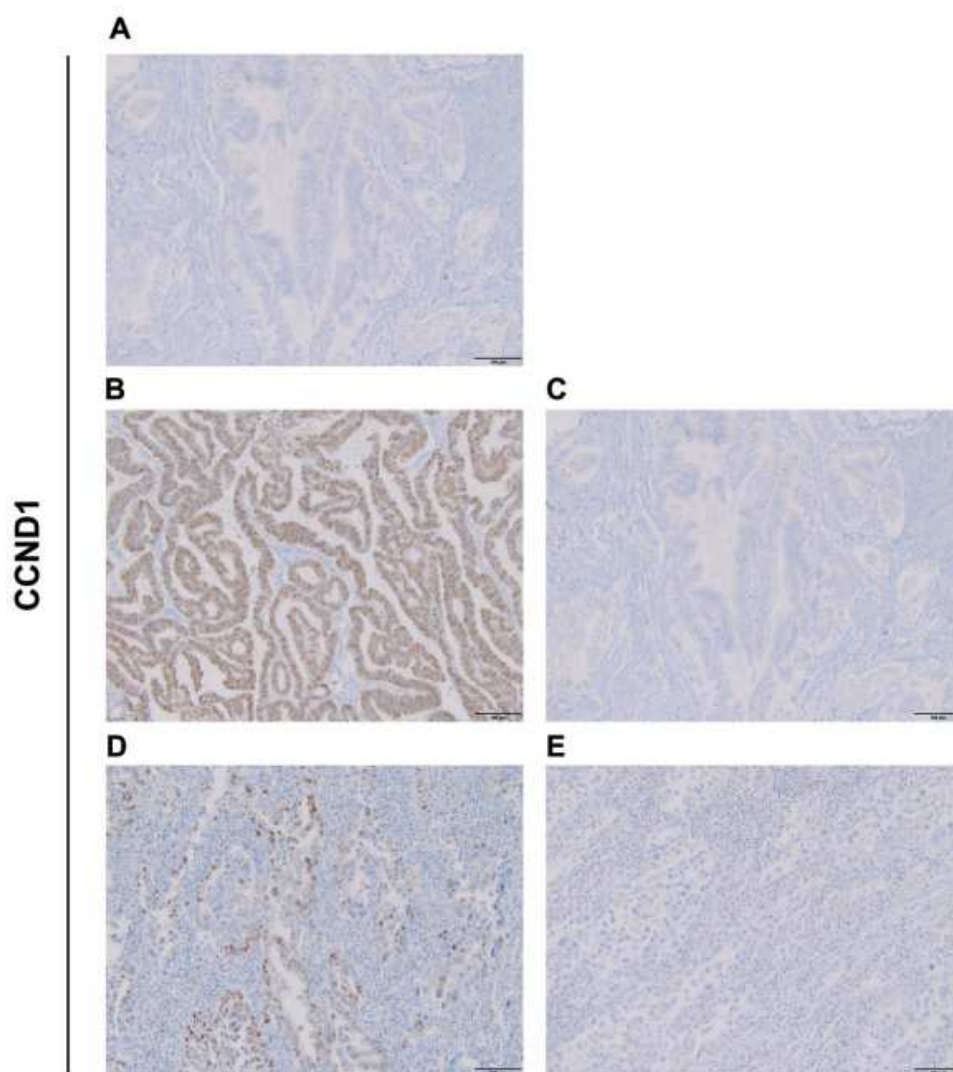


Figure 1. Representative photographs showing immunohistochemical expression of CCND1 in EC. (A) Negative control for Cyclin D1, showing no detectable staining in normal endometrial tissue. (B) Endometrioid carcinoma with low CCND1 expression. (C) Endometrioid carcinoma with strong CCND1 expression. (D) Serous carcinoma with high CCND1 expression. (E) Serous carcinoma with low CCND1 expression. Original magnification 20 $\times$.

When analyzed as continuous variables, there was no significant difference in CCND1 staining intensity between the tumor and adjacent normal tissues for endometrial carcinoma overall ($p = 0.48$, Mann–Whitney test; Figure 2A). Similarly, for endometrioid adenocarcinoma, no statistically significant change was observed between the tumor and adjacent normal tissues ($p = 0.66$, Mann–Whitney test; Figure 2B). In non-endometrioid adenocarcinoma, CCND1 staining intensity also showed no significant difference between the tumor and adjacent tissues ($p = 0.2$, Mann–Whitney test; Figure 2C). Descriptive statistics for CCND1 staining across these subgroups are summarized in Table 1.

When the established definition of low and high expression for each category was applied, 98 (76.56%) and 30 (23.44%) cases demonstrated high- and low-intensity staining tumors for CCND1, respectively. When the percentage of staining was scored, 13 (10.16%) cases exhibited a high percentage of cell staining for CCND1, while the remaining 115 (89.84%) cases showed a low percentage of staining. Based on the formula for assessing the total immunoscore, 11 (8.59%) cases had tumors that presented CCND1 overexpression, while the remaining 117 (91.4%) cases displayed underexpression of this protein.

Table 1. Characteristics of the study population by CCND1 immunoexpression groups. The upward arrow (↑) represents high expression, while the downward arrow (↓) denotes low expression of CCND1.

Cyclin D1				
Variables	Number (%) n = 128	↑n = 98	↓n = 30	p-Value
Age				
≤60	41 (32.03)	31 (75.61)	10 (24.39)	0.8613
>60	87 (67.97)	67 (77.01)	20 (22.99)	
Histological grade				
G1	9 (7.03)	5 (55.56)	4 (44.45)	0.2090
G2	73 (57.03)	59 (80.82)	14 (46.67)	
G3	46 (35.94)	34 (73.91)	12 (26.08)	
pT status				
T1	70 (54.69)	53 (75.71)	17 (24.29)	0.7741
T2	36 (28.12)	29 (80.56)	7 (19.44)	
T3	17 (13.28)	13 (76.47)	4 (23.53)	
T4	5 (3.91)	3 (60)	2 (40)	
pN status				
N0	106 (82.81)	80 (75.47)	26 (24.54)	0.7823
N1	22 (17.19)	18 (81.82)	4 (18.18)	
pM status				
M0	116 (90.63)	88 (75.86)	28 (25.14)	0.7307
M1	12 (9.37)	10 (83.33)	2 (16.67)	
FIGO				
I	61 (47.66)	46 (75.41)	15 (24.59)	0.6862
II	30 (23.44)	23 (76.67)	7 (23.33)	
III	26 (20.31)	19 (73.08)	7 (26.92)	
IV	11 (8.59)	10 (90.9)	1 (9.09)	
LVSI				
N	103 (80.47)	77 (74.76)	26 (25.24)	0.4347
T	25 (19.53)	21 (84.00)	4 (16.00)	
Histological type				
Endometrioid cancer	102 (79.69)	79 (77.45)	23 (22.55)	0.6136
Non-endometrioid cancer	26 (20.31)	19 (73.08)	7 (26.92)	

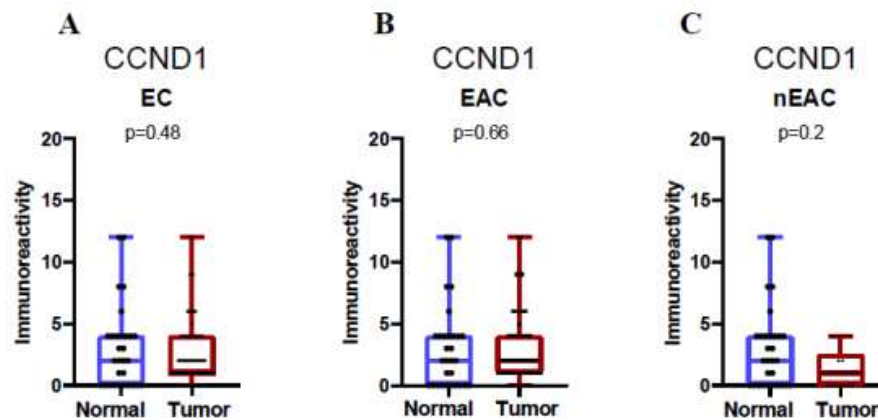


Figure 2. Immunoreactivity of CCND1 in EC. The X-axis of the plot represents histologically normal endometrial tissue vs. cancerous endometrial tissue. Data for all endometrial cancers (A), endometrioid cancer (B), and non-endometrioid cancer (C). The Y-axis represents immunoreactivity IRS. The top and bottom of the error bars represent the maximum and minimum values of data, respectively.

2.2. Tumor Characteristics with Respect to CCND1 Immunoreactivity

We evaluated whether CCND1 reactivity varied based on the clinicopathological features of the patients. When the established definition of low and high expression for each category was applied, 98 (76.56%) patients demonstrated high CCND1 expression, while 30 (23.44%) showed low expression. Among patients aged ≤ 60 years, 31 (75.61%) exhibited high CCND1 expression, compared to 67 (77.01%) in patients aged > 60 years. Regarding histological grade, 5 (55.56%), 59 (80.82%), and 34 (73.91%) patients with G1, G2, and G3 tumors, respectively, demonstrated high CCND1 expression. For pT status, high expression was observed in 35 (75.77%), 29 (80.56%), and 13 (76.47%) patients with T1, T2, and T3 + T4 tumors, respectively. Among histological types, 79 (77.45%) endometrioid cancers and 19 (73.08%) non-endometrioid cancers exhibited high CCND1 expression. Overall, while high CCND1 expression was prevalent across the categories, the analysis showed no significant associations between CCND1 expression and variables such as age, histologic grade, pT status, pN status, pM status, FIGO stage, LVSI, or histological type ($p = 0.05$, Fisher's exact test; Table 1).

2.3. Analysis of CCND1 Protein Expression in Relation to Overall Survival

Kaplan–Meier survival analysis revealed that CCND1 immunohistochemical expression, defined using a cut-off value of 1, demonstrated a potential association with OS in endometrial cancer patients. Patients with CCND1 expression levels exceeding this threshold were classified as having high expression, whereas those with levels equal to or below 1 were categorized as having low expression. The median survival time for patients with high and low levels of CCND1 expression was 106.5 days. Among all endometrial cancer cases, high CCND1 expression exhibited a trend toward poorer OS compared to low expression; however, this difference was not statistically significant ($p = 0.12$; Figure 3A). In the endometrioid subtype, CCND1 expression levels showed a non-significant trend toward poorer OS with high expression ($p = 0.31$; Figure 3B). Similarly, within the non-endometrioid subtype, high CCND1 expression was associated with poorer survival outcomes, but this trend was also not statistically significant ($p = 0.22$; Figure 3C). In all cases, high CCND1 expression correlated with worse survival times, but none of the associations reached statistical significance.

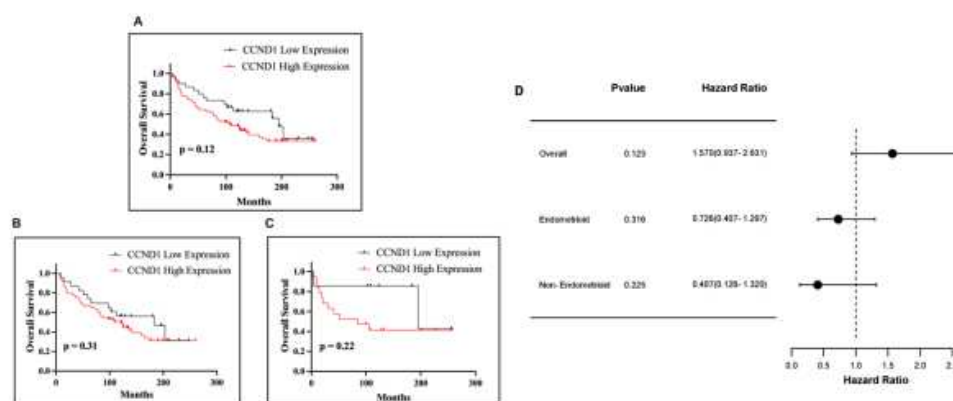


Figure 3. Kaplan–Meier curves presenting the OS of EC patients based on immunohistochemical CCND1 expression for all cases combined (A), endometrioid subtype (B), and non-endometrioid subtype (C). Forest plot of hazard ratios (HR) with 95% confidence intervals (CI) for CCND1 expression in EC (D). Green dots represent statistically significant results ($p < 0.05$) with a HR > 1 , while black dots indicate non-significant results ($p > 0.05$) regardless of whether HR > 1 or HR < 1 . The same annotation scheme applies to all Kaplan–Meier survival curves.

2.4. CCND1 mRNA Expression in Endometrial Cancer and Normal Tissue Based on TCGA Databases

Next, we analyzed publicly available expression data from TCGA for normal endometrial tissue and endometrial cancer. The analysis revealed that CCND1 mRNA expression levels were significantly upregulated in endometrial cancer compared to normal endometrial tissues (p -values shown in Figure 4, Mann–Whitney test). High expression levels were observed in endometrioid adenocarcinoma (EAC) and non-endometrioid adenocarcinoma (nEAC) subtypes, with distinct patterns between these groups.

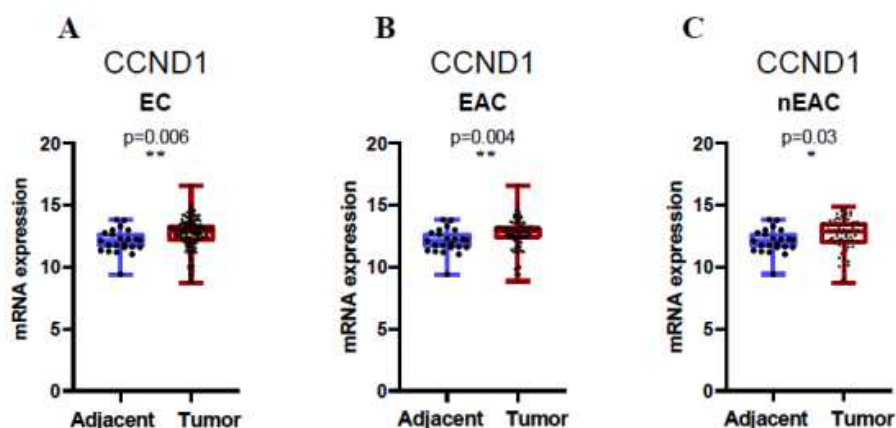


Figure 4. mRNA expression of CCND1 in endometrial cancer subtypes. mRNA expression data were retrieved from the Cancer Genome Atlas (TCGA). The X-axis of the plot represents adjacent normal tissue vs. cancer tissue, and the Y-axis represents normalized mRNA expression levels. All ECs (A), endometrioid adenocarcinoma (EAC) (B), and non-endometrioid adenocarcinoma (nEAC) (C). The top and bottom of the error bars represent the maximum and minimum values of the data, respectively. Asterisks indicate statistical significance (** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, Mann–Whitney test).

2.5. Functional Enrichment Analysis

The top 50 genes positively correlated with CCND1 were identified using the TCGA dataset through the cBioPortal platform. Correlation analyses were performed using Spearman's rank correlation. The highest positive correlations were observed for SPRY2 ($\rho = 0.519$, $p = 1.08 \times 10^{-37}$), SPRY4 ($\rho = 0.465$, $p = 1.27 \times 10^{-29}$), ETV4 ($\rho = 0.440$, $p = 2.59 \times 10^{-26}$), SPRY1 ($\rho = 0.420$, $p = 6.26 \times 10^{-24}$), and ETV5 ($\rho = 0.418$, $p = 1.00 \times 10^{-23}$) (Table 2). All listed genes demonstrated moderate positive correlations, with p -values indicating strong statistical associations.

Table 2. Genes positively correlated with CCND1.

CCND1 (+) Correlated Gene	Cytoband	Spearman's Correlation	p -Value	CCND1 (+) Correlated Gene	Cytoband	Spearman's Correlation	p -Value
SPRY2	13q31.1	0.519	1.08×10^{-37}	SMIM3	5q33.1	0.332	4.72×10^{-15}
SPRY4	5q31.3	0.465	1.27×10^{-29}	MIDN	19p13.3	0.332	4.74×10^{-15}
ETV4	17q21.31	0.440	2.59×10^{-26}	PRAG1	8p23.1	0.332	4.91×10^{-15}
SPRY1	4q28.1	0.420	6.26×10^{-24}	SHC4	15q21.1	0.332	5.02×10^{-15}
ETV5	3q27.2	0.418	1.00×10^{-23}	AKAP13	15q25.3	0.332	5.19×10^{-15}
MYEOV	11q13.3	0.418	1.17×10^{-23}	INHBA	7p14.1	0.330	7.93×10^{-15}
PHLDA1	12q21.2	0.417	1.33×10^{-23}	LRRC8A	9q34.11	0.329	8.46×10^{-15}
DUSP6	12q21.33	0.403	5.27×10^{-22}	SPRED1	15q14	0.328	1.03×10^{-14}
PMEPA1	20q13.31	0.400	1.24×10^{-21}	RPAP52	12q14.3	0.328	1.08×10^{-14}
DUSP4	8p12	0.388	1.99×10^{-20}	N4BP1	16q12.1	0.327	1.44×10^{-14}
KIF26B	1q44	0.366	4.16×10^{-18}	CBARP	19p13.3	0.324	2.41×10^{-14}
MMP2	16q12.2	0.360	1.44×10^{-17}	SPRED2	2p14	0.323	2.91×10^{-14}
BAMBI	10p12.1	0.359	1.66×10^{-17}	TLE3	15q23	0.321	4.56×10^{-14}
TNS4	17q21.2	0.355	4.53×10^{-17}	AP1S3	2q36.1	0.319	6.47×10^{-14}
COL1A2	7q21.3	0.354	5.85×10^{-17}	SIGLEC15	18q21.1	0.319	6.85×10^{-14}
PLK2	5q11.2	0.353	7.21×10^{-17}	SHB	9p13.1	0.317	8.60×10^{-14}
HIVEP3	1p34.2	0.351	9.31×10^{-17}	PIF5K1C	19p13.3	0.317	9.81×10^{-14}
TGFA	2p13.3	0.349	1.46×10^{-16}	ETV1	7p21.2	0.317	9.94×10^{-14}
HMGA2	12q14.3	0.340	1.04×10^{-15}	PDGFB	22q13.1	0.316	1.01×10^{-13}
FBN1	15q21.1	0.339	1.13×10^{-15}	CYGB	17q25.1	0.316	1.13×10^{-13}
CNN2	19p13.3	0.339	1.33×10^{-15}	PDGFRB	5q32	0.315	1.32×10^{-13}
COL1A1	17q21.33	0.338	1.50×10^{-15}	COL5A1	9q34.3	0.315	1.38×10^{-13}
HAS3	16q22.1	0.337	1.68×10^{-15}	EDAR	2q13	0.313	1.78×10^{-13}
CHPF	2q35	0.336	2.04×10^{-15}	PRDM1	6q21	0.313	1.97×10^{-13}
FRMD6	14q22.1	0.335	2.73×10^{-15}	COL6A3	2q37.3	0.313	2.09×10^{-13}

Similarly, the analysis identified the top 50 genes negatively correlated with CCND1 using the TCGA dataset through the cBioPortal platform. Negative correlations were evaluated using Spearman's rank correlation, as with the positively correlated genes. The most pronounced negative correlations were observed for CDKN2B-AS1 ($\rho = -0.400$, $p = 1.20 \times 10^{-21}$), MCCC1 ($\rho = -0.354$, $p = 5.83 \times 10^{-17}$), PTGS1 ($\rho = -0.352$, $p = 8.03 \times 10^{-17}$), CEP70 ($\rho = -0.346$, $p = 2.67 \times 10^{-16}$), and SVOPL ($\rho = -0.346$, $p = 3.03 \times 10^{-16}$) (Table 3). All these genes displayed moderate negative correlations, with p -values confirming strong statistical associations.

Reactome pathway analysis was performed to explore the biological functions of genes positively correlated with CCND1 in Uterine Corpus Endometrial Carcinoma (UCEC). The analysis revealed several highly enriched pathways, including "Immune System", "Signal Transduction", "Gene Expression (Transcription)", "Extracellular Matrix Organization", and "Cell Cycle", indicating the involvement of these genes in key biological processes relevant to cancer progression (Figure 5A). Additionally, Reactome pathway analysis for CCND1 demonstrated that positively correlated genes with CCND1 were primarily

associated with “Signaling by Receptor Tyrosine Kinases” ($p = 1.03 \times 10^{-10}$), “Signal Transduction” ($p = 1.28 \times 10^{-8}$), “Collagen Degradation” ($p = 6.59 \times 10^{-6}$), “MAPK Family Signaling Cascades” ($p = 8.78 \times 10^{-6}$), and “Integrin Cell Surface Interactions” ($p = 1.89 \times 10^{-5}$) (Figure 5B).

Table 3. Genes negatively correlated with CCND1.

CCND1 (–) Correlated Gene	Cytoband	Spearman's Correlation	p-Value	CCND1 (–) Correlated Gene	Cytoband	Spearman's Correlation	p-Value
CDKN2B-AS1	9p21.3	−0.400	1.20×10^{-21}	DDO	6q21	−0.289	1.36×10^{-11}
MCCC1	3q27.1	−0.354	5.83×10^{-17}	CEP43	6q27	−0.289	1.38×10^{-11}
PTGS1	9q33.2	−0.352	8.03×10^{-17}	IL12A	3q25.33	−0.288	1.49×10^{-11}
CEP70	3q22.3	−0.346	2.67×10^{-16}	MX1	21q22.3	−0.284	3.34×10^{-11}
SVOPL	7q34	−0.346	3.03×10^{-16}	CCNE1	19q12	−0.282	4.14×10^{-11}
CDKN2A	9p21.3	−0.331	5.79×10^{-15}	APOA1	11q23.3	−0.281	4.91×10^{-11}
ERBB4	2q34	−0.328	1.15×10^{-14}	OPTN	10p13	−0.281	5.15×10^{-11}
KATNAL2	18q21.1	−0.325	1.93×10^{-14}	PDHA1	Xp22.12	−0.280	6.09×10^{-11}
PLAAT1	3q29	−0.315	1.37×10^{-13}	NHLRC1	6p22.3	−0.279	6.69×10^{-11}
HIBADH	7p15.2	−0.314	1.63×10^{-13}	GEMIN8P4	1p22.2	−0.277	9.21×10^{-11}
RTP4	3q27.3	−0.311	2.90×10^{-13}	IQCC	1p35.2	−0.276	1.08×10^{-10}
AIFM1	Xq26.1	−0.309	4.09×10^{-13}	FABP3	1p35.2	−0.276	1.14×10^{-10}
NRG4	15q24.2	−0.309	4.26×10^{-13}	FAAH2	Xp11.21	−0.276	1.23×10^{-10}
SAYS1	6p21.2	−0.302	1.42×10^{-12}	CAND2	3p25.2	−0.275	1.32×10^{-10}
TMEM14B	6p24.2	−0.300	2.18×10^{-12}	HERC5	4q22.1	−0.275	1.42×10^{-10}
CHTOP	1q21.3	−0.299	2.22×10^{-12}	RUVEL1	3q21.3	−0.274	1.52×10^{-10}
RIOX2	3q11.2	−0.297	3.58×10^{-12}	NFS1	20q11.22	−0.274	1.68×10^{-10}
ERICH5	8q22.2	−0.295	4.50×10^{-12}	ICA1L	2q33.2	−0.273	1.75×10^{-10}
KLHL32	6q16.1	−0.293	6.72×10^{-12}	PRKCD	3p21.1	−0.272	2.19×10^{-10}
SEMA6D	15q21.1	−0.291	9.11×10^{-12}	HSPBAP1	3q21.1	−0.272	2.33×10^{-10}
VPS45	1q21.2	−0.291	9.15×10^{-12}	NIT2	3q12.2	−0.269	3.52×10^{-10}
FBXO43	8q22.2	−0.291	9.59×10^{-12}	PARP12	7q34	−0.269	3.69×10^{-10}
CR1L	1q32.2	−0.291	1.01×10^{-11}	CP	3q24-q25.1	−0.269	3.72×10^{-10}
VNN3P	6q23.2	−0.291	1.03×10^{-11}	PLIN5	19p13.3	−0.269	3.73×10^{-10}
MBOAT1	6p22.3	−0.289	1.26×10^{-11}	NECTIN3	3q13.13	−0.268	4.21×10^{-10}

Similarly, Reactome pathway analysis was conducted for genes negatively correlated with CCND1 in UCEC, revealing enrichment in pathways such as “Signal Transduction”, “Gene Expression (Transcription)”, “Metabolism”, “Cell Cycle”, and “Immune System” (Figure 6A). Reactome pathway analysis for CCND1 also demonstrated that negatively correlated genes with CCND1 were primarily associated with “SHC1 Events in ERBB2 Signaling” ($p = 4.23 \times 10^{-7}$), “Oncogene Induced Senescence” ($p = 8.96 \times 10^{-7}$), “ERBB2 Activates PTK6 Signaling” ($p = 1.02 \times 10^{-6}$), “ERBB2 Regulates Cell Motility” ($p = 1.26 \times 10^{-6}$), and “Nuclear Signaling by ERBB4” ($p = 1.55 \times 10^{-6}$) (Figure 6B).

The protein–protein interaction (PPI) networks for positively correlated genes with CCND1 were constructed using STRING and Cytoscape. The analysis identified 50 nodes forming a network with 470 edges, with strong enrichment (PPI enrichment p -value $< 1.0 \times 10^{-16}$) and a local clustering coefficient of 0.639. In the PPI network (Figure 7A), genes strongly interacting with CCND1 are shown, forming a well-connected network. Using the Cytoscape plugin cytoHubba, hub genes were ranked based on their degree of interaction. The top hub genes in this network are highlighted in red, indicating their higher connectivity and importance. The analysis of positively correlated genes with CCND1 identified the top 10 hub genes (Figure 7B).

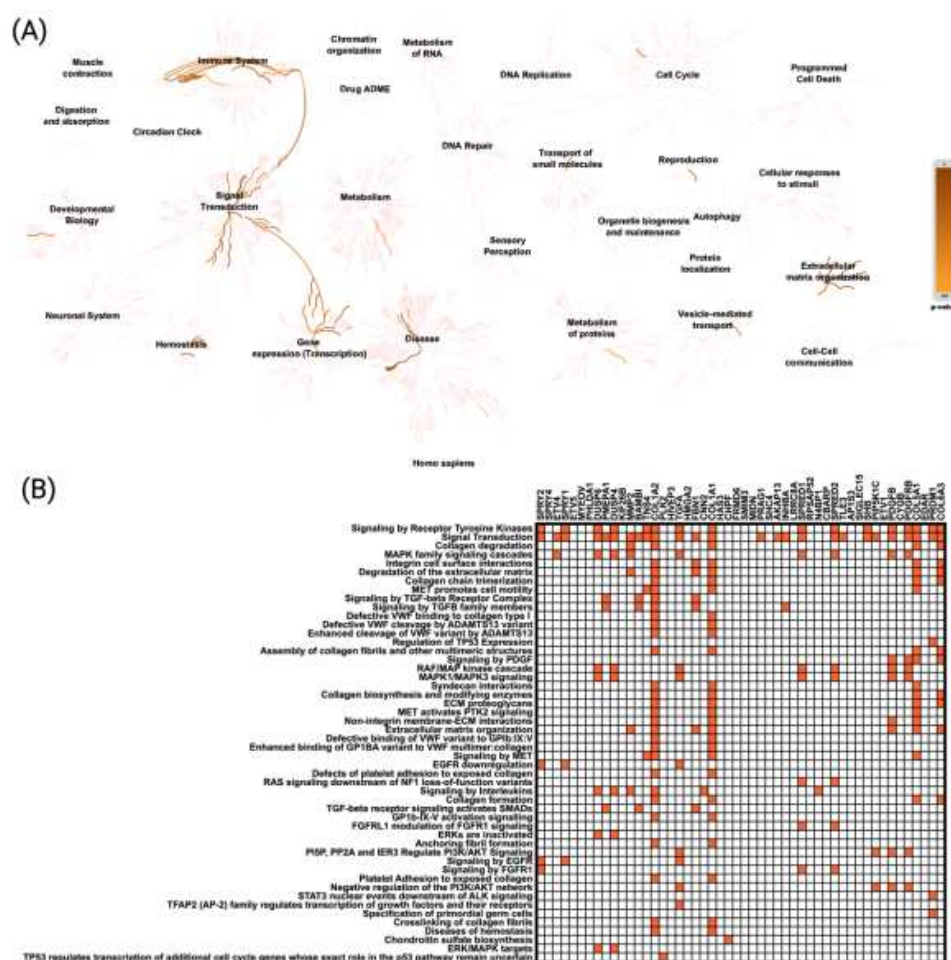
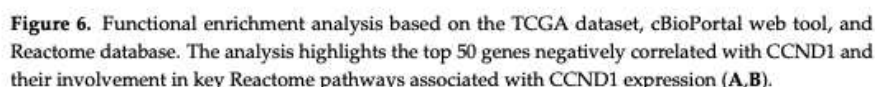


Figure 5. Functional enrichment analysis based on the TCGA dataset, cBioPortal web tool, and Reactome database. The analysis highlights the top 50 genes positively correlated with CCND1 and their involvement in key Reactome pathways associated with CCND1 expression (A,B).

Similarly, the PPI network for CCND1 negatively correlated genes identified 50 nodes, 324 edges, and a local clustering coefficient of 0.652, with strong enrichment (PPI enrichment p -value $< 1.0 \times 10^{-16}$). The network illustrates key genes interacting with CCND1, forming a tightly connected system (Figure 8A). The analysis of negatively correlated genes with CCND1 identified the top 10 hub genes (Figure 8B).

Using the KEGG PATHWAY Database, a schematic representation of signaling pathways involved in the development and progression of EC was constructed, with a focus on the regulation of CCND1. In Type I endometrioid adenocarcinoma, mutations in PTEN, K-Ras, and β -Catenin lead to the activation of key pathways such as PI3K-Akt, MAPK, and Wnt, which promote CCND1 overexpression through β -Catenin-mediated TCF/LEF transcription and activation of c-Myc [13–16]. In Type II serous adenocarcinoma, Her2/neu amplification and p53 mutations drive tumor progression through the ErbB and p53 signaling pathways, respectively (Figure 9) [17–19].



GO functional enrichment analysis was conducted on genes positively correlated with CCND1, assessing their roles in biological processes (BP), cellular components (CC), and molecular functions (MF) using the DAVID tool. Significant enrichment was observed in BP terms, including GO:0070373 (negative regulation of ERK1 and ERK2 cascade), GO:1902747 (negative regulation of lens fiber cell differentiation), and GO:0030512 (negative regulation of TGF- β receptor signaling pathway) (Figure 10A). Furthermore, enriched CC terms included GO:0062023 (collagen-containing extracellular matrix), GO:0005788 (endoplasmic reticulum lumen), and GO:0005581 (collagen trimer) (Figure 10B). Notable MF terms identified were GO:0048407 (platelet-derived growth factor binding), GO:0005515 (protein

binding), and GO:0030020 (extracellular matrix structural constituent conferring tensile strength) (Figure 10C). These results highlight the critical functional roles of genes positively correlated with CCND1 in cellular regulation and structural dynamics.

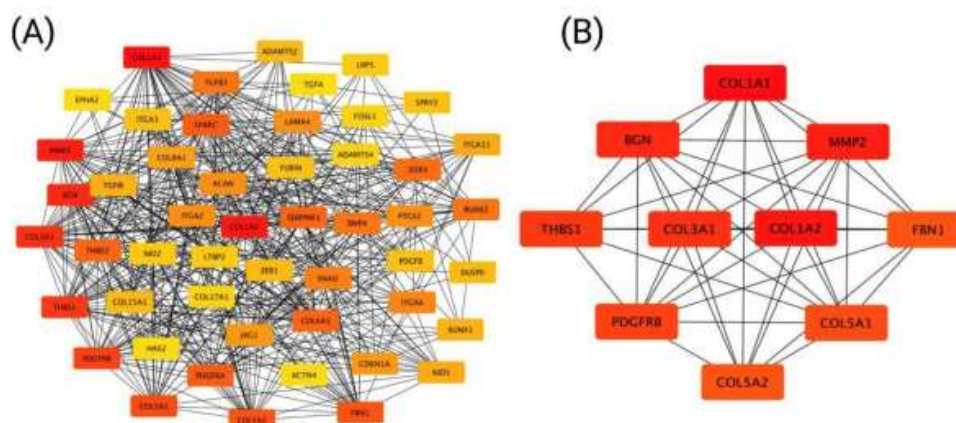


Figure 7. Protein–protein interaction network for genes positively correlated with CCND1. Network of the top 50 genes (A) and the top 10 hub genes (B).

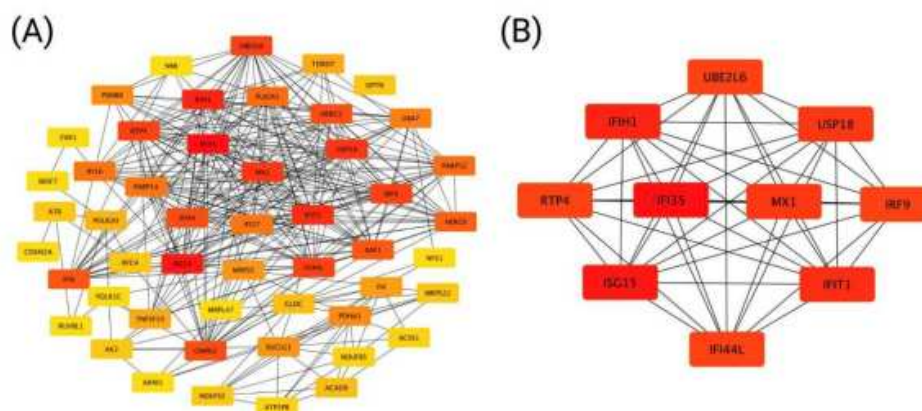


Figure 8. Protein–protein interaction network for genes negatively correlated with CCND1. Network of the top 50 genes (A) and the top 10 hub genes (B).

Similarly, GO functional enrichment analysis was conducted on genes negatively correlated with CCND1, evaluating their roles in biological processes (BP), cellular components (CC), and molecular functions (MF) using the DAVID tool. Key enriched terms in BP included GO:1902510 (regulation of apoptotic DNA fragmentation), GO:0038138 (ERBB4–ERBB4 signaling pathway), and GO:0050821 (protein stabilization) (Figure 11A). Within the CC category, significant terms were GO:0005634 (nucleus), GO:0005737 (cytoplasm), and GO:0005813 (centrosome) (Figure 11B). In the MF category, the most enriched terms included GO:0005515 (protein binding), GO:0048018 (receptor ligand activity), and GO:0016706 (2-oxoglutarate-dependent dioxygenase activity) (Figure 11C). These results emphasize the regulatory and structural roles of genes negatively correlated with CCND1 in cellular processes.

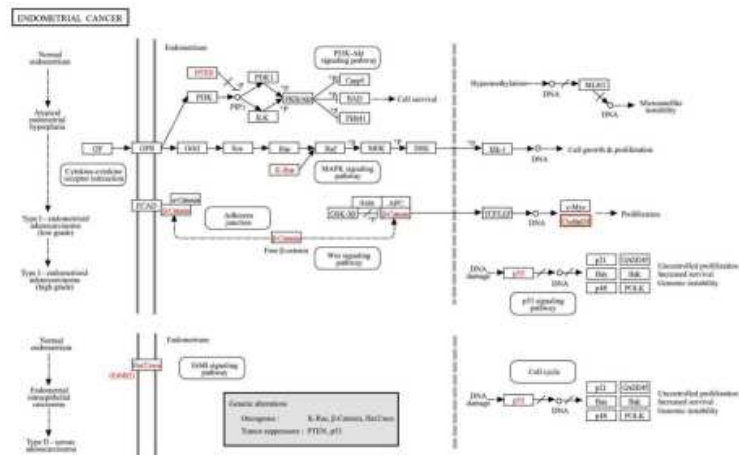


Figure 9. The Figure illustrates simplified pathways involved in the development and progression of EC based on KEGG BRITE data (BRITE accession ID: K04503, pathway map ID: map05213). It outlines the molecular alterations in signaling pathways and genetic changes leading to Type I (endometrioid adenocarcinoma) and Type II (serous adenocarcinoma) EC, with a focus on Cyclin D1 overexpression. In Type I EC, Cyclin D1 is upregulated through β -Catenin-mediated TCF/LEF transcription in the Wnt signaling pathway and is influenced by the MAPK pathway. In Type II EC, Cyclin D1 overexpression is associated with alterations in the p53 and ErbB signaling pathways.

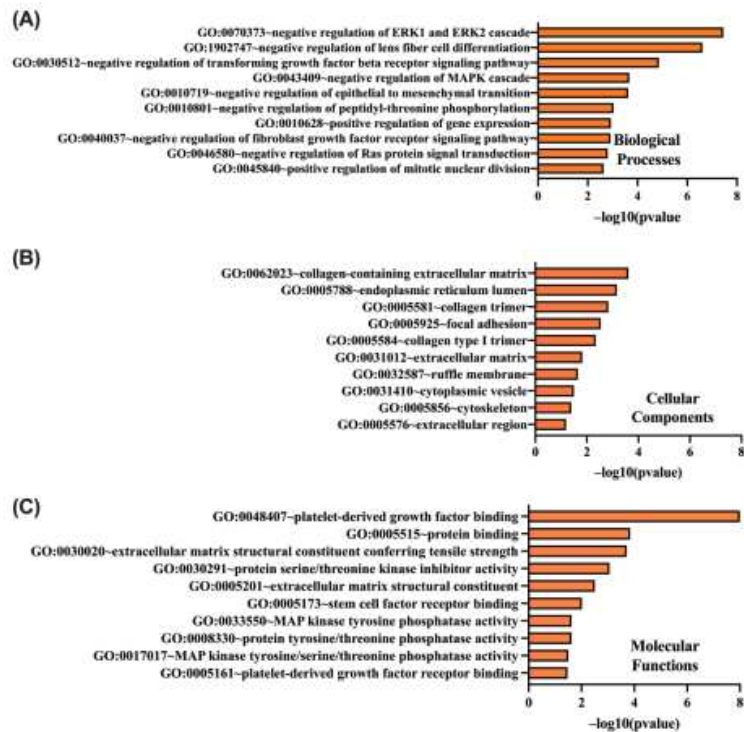


Figure 10. DAVID functional Gene Ontology (GO) analysis of positively correlated genes with CCND1, categorized into BP (A), CC (B), and MF (C). The top 10 GO terms are shown for each category, with p -values calculated and ranked based on $-\log_{10}(p\text{-value})$.

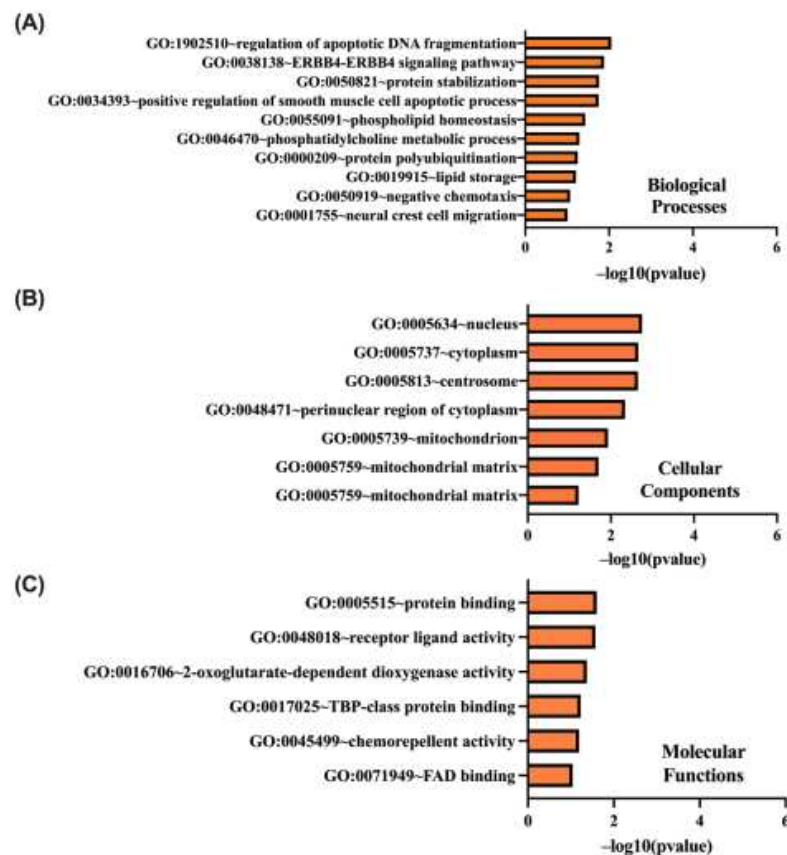


Figure 11. DAVID functional Gene Ontology (GO) analysis of negatively correlated genes with CCND1, categorized into BP (A), CC (B), and MF (C). GO terms are ranked based on $-\log_{10}(p\text{-value})$, highlighting significant enrichment in each category.

2.6. Relationships to Survival

The prognostic significance of CCND1 mRNA expression was evaluated across multiple survival outcomes, including OS, Progression-Free Survival (PFS), Disease-Specific Survival (DSS), and Disease-Free Survival (DFS), using a uniform cut-off value of 12.22 for all analyses. Kaplan–Meier survival analysis demonstrated a statistically significant association between CCND1 expression and OS in the overall endometrial cancer cohort ($p = 0.029$; Figure 12A). In the endometrioid subtype, low CCND1 expression was significantly correlated with poorer survival outcomes compared to high expression ($p = 0.0004$; Figure 12B). Conversely, no statistically significant relationship was observed between CCND1 expression and OS in the non-endometrioid subtype ($p = 0.71$; Figure 12C). Notably, significant differences in survival were observed between the endometrioid and non-endometrioid subtypes, with high CCND1 expression consistently associated with improved survival outcomes across the significant analyses.

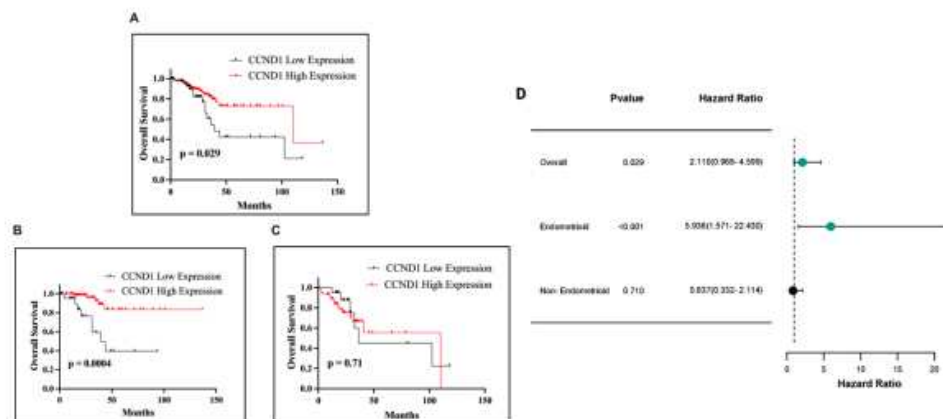


Figure 12. Kaplan–Meier survival curves illustrating OS in EC patients based on CCND1 expression. OS in all EC patients (A), in patients with the endometrioid subtype (B), and in patients with the non-endometrioid subtype (C). Forest plot of HR with 95% CI for CCND1 expression in EC (D).

Subsequently, we conducted an analysis to evaluate the impact of CCND1 mRNA expression on PFS in patients with endometrial cancer. Kaplan–Meier survival analysis demonstrated a significant association between CCND1 expression and PFS in the overall cohort ($p = 0.02$; Figure 13A) and in the endometrioid subtype ($p = 0.006$; Figure 13B). However, in the non-endometrioid subtype, no statistically significant relationship was observed ($p = 0.72$; Figure 13C). High CCND1 expression was consistently linked to improved PFS outcomes across significant analyses.

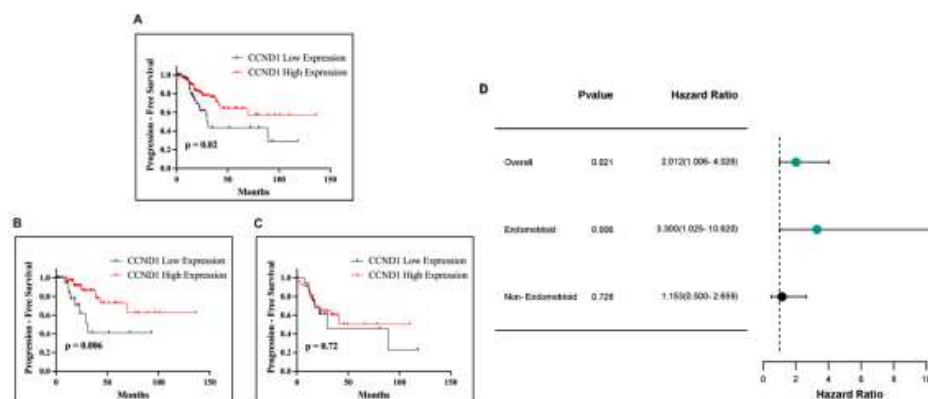


Figure 13. Kaplan–Meier survival curves illustrating PFS in EC patients based on CCND1 expression. PFS in all EC patients (A), in patients with the endometrioid subtype (B), and in patients with the non-endometrioid subtype (C). Forest plot of HR with 95% CI for CCND1 expression in EC (D).

Following this, we analyzed the impact of CCND1 mRNA expression on DFS in patients with EC. Kaplan–Meier survival analysis showed a significant association between CCND1 expression and DFS in the overall cohort ($p = 0.009$; Figure 14A). In the endometrioid subtype, no statistically significant association was observed ($p = 0.19$; Figure 14B). Similarly, in the non-endometrioid subtype, the relationship between CCND1 expression and DFS did not reach statistical significance ($p = 0.06$; Figure 14C). Although high CCND1 expression was linked to better outcomes, statistical significance was only observed in the overall cohort.

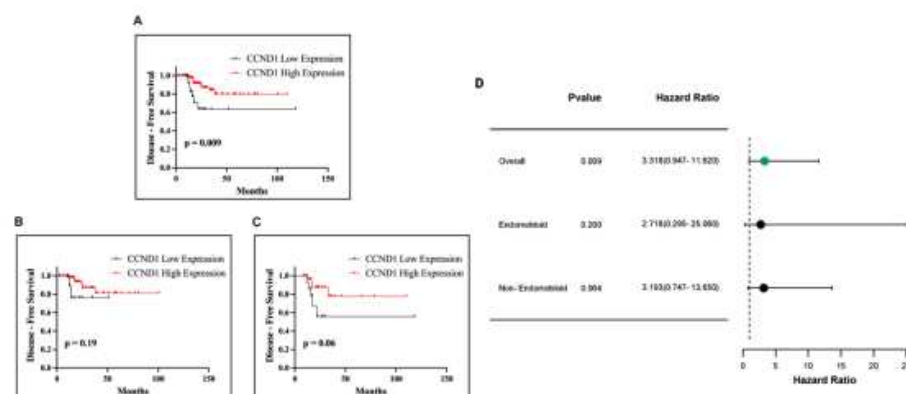


Figure 14. Kaplan–Meier survival curves illustrating DFS in EC patients based on CCND1 expression. DFS in all EC patients (A), in patients with the endometrioid subtype (B), and in patients with the non-endometrioid subtype (C). Forest plot of HR with 95% CI for CCND1 expression in EC (D).

Building on these findings, we next assessed the impact of CCND1 mRNA expression on DSS in EC patients. Kaplan–Meier survival analysis demonstrated a significant association in the overall cohort ($p = 0.03$; Figure 15A) and in the endometrioid subtype ($p = 0.0029$; Figure 15B). In contrast, no statistically significant relationship was observed in the non-endometrioid subtype ($p = 0.87$; Figure 15C). High CCND1 expression was consistently linked to improved survival outcomes across significant analyses.

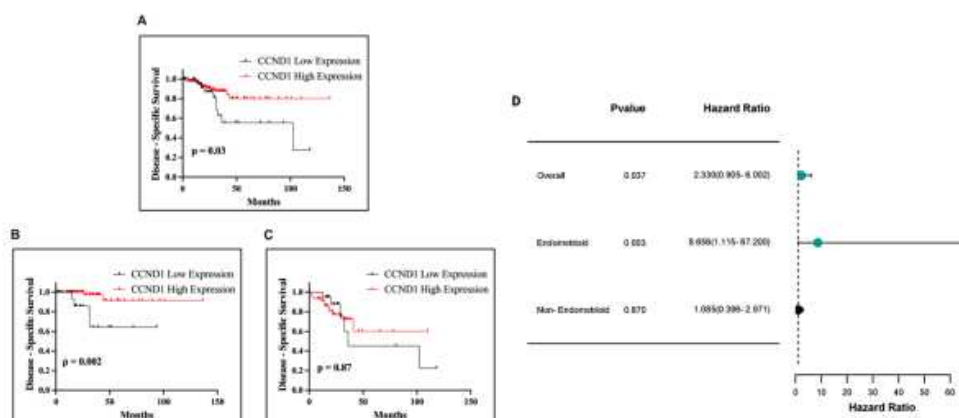


Figure 15. Kaplan–Meier survival curves illustrating DSS in EC patients based on CCND1 expression. DSS in all EC patients (A), in patients with the endometrioid subtype (B), and in patients with the non-endometrioid subtype (C). Forest plot of HR with 95% CI for CCND1 expression in EC (D).

3. Discussion

In the present study, we aimed to investigate the utility of CCND1 expression as a prognostic marker in EC by analyzing both our own patient cohort and publicly available in silico datasets in relation to clinicopathological features and patient survival. Initially, we evaluated the immunohistochemical expression of CCND1 protein in tissue samples from EC patients to assess its association with selected clinicopathological traits and overall survival. Subsequently, we performed similar analyses using CCND1 mRNA expression data retrieved from public datasets. Lastly, genes coexpressed with CCND1 in EC were

identified and subjected to functional annotation to explore their biological roles and potential pathways involved in cancer progression.

In our study, immunohistochemical analysis revealed that CCND1 expression was predominantly localized to the nuclear compartment, consistent with its anticipated localization in malignant cells. In line with our findings, Tsuda et al. observed weak positive nuclear staining of Cyclin D1 in endometrial cancer tissues [20]. Similarly, Quddus et al., Sangwan et al., and Xu et al. reported nuclear localization of Cyclin D1 in endometrial carcinoma tissues, consistently identifying the nucleus as the primary site of its expression in tumor cells across different cohorts and methodologies [9,21,22].

Kaplan–Meier survival analysis from our study indicated that elevated CCND1 protein levels are more likely to be associated with worse survival outcomes. Similarly, Zapiecki et al. demonstrated that higher Cyclin D1 expression was significantly associated with poorer survival outcomes ($p = 0.042$) [23]. In a related study, Berg et al. further confirmed that high CCND1 expression was linked to worse disease-specific survival, emphasizing its prognostic value in aggressive endometrial cancer cases ($p = 0.008$) [24]. However, Khabaz et al. reported that low Cyclin D1 expression was associated with better survival, while negative Cyclin D1 staining corresponded to significantly poorer survival outcomes, with survival distributions differing markedly between staining categories when adjusted for disease recurrence ($p = 0.011$) [11]. Moreover, Liang et al. highlighted the prognostic relevance of Cyclin D1, reporting that patients with negative expression exhibited higher overall survival rates than those with positive expression ($p < 0.05$) [25]. These findings collectively suggest that Cyclin D1 expression levels play a complex and context-dependent prognostic role in endometrial cancer. While high expression is consistently associated with worse survival outcomes, the absence or low expression of Cyclin D1 appears to have variable effects, potentially influenced by differences in tumor biology, molecular subtypes, and methodological approaches across studies.

Notably, our mRNA analysis revealed a survival trend that contrasts with protein expression patterns. Elevated CCND1 protein levels were associated with worse survival outcomes. Conversely, in the mRNA analysis, lower CCND1 expression significantly correlated with poorer survival, specifically in the endometrioid subtype of endometrial cancer ($p = 0.0004$). In contrast, no significant association was observed in the non-endometrioid subtype ($p = 0.71$). Additionally, CCND1 mRNA expression showed borderline statistical relevance for overall survival in the general endometrial cancer cohort ($p = 0.029$), indicating a limited prognostic value across all subtypes. The discrepancy between CCND1 protein and mRNA survival trends in endometrial cancer may result from post-transcriptional regulation, including mRNA stability controlled by microRNAs or RNA-binding proteins [26,27]. Additionally, differences in protein translation efficiency and degradation through the ubiquitin–proteasome system could explain reduced protein levels despite high mRNA expression [28–30]. Methodological factors, such as differences in detection techniques (Immunohistochemical (IHC) vs. RNA sequencing), may further contribute to these variations. These findings underscore the importance of integrating multi-omics approaches combining transcriptomic, proteomic, and clinical data to better understand the regulatory dynamics and prognostic implications of CCND1 in endometrial cancer.

Our analysis of CCND1 expression revealed a gradual increase in positivity with histological grade, from 55.56% in Grade 1 tumors to 73.91% in Grade 3 tumors; however, these differences were not statistically significant ($p = 0.2090$). Similarly, Tsuda et al. observed an increase in Cyclin D1 positivity with higher histological grade, from 17.6% in Grade 1 tumors to 38.5% in Grade 2 and 40.0% in Grade 3 tumors. However, consistent with our findings, these differences were not statistically significant [20]. Supporting these observations, Khabaz et al. also found no significant differences in Cyclin D1 expression

across tumor grades [11]. In the same context, Sangwan et al. reported no statistically significant differences in Cyclin D1 expression across tumor grades [9]. Likewise, Yildirim et al. reported a statistically significant increase in Cyclin D1 expression with advancing histological grade, observing 61% positivity in Grade 1 tumors, 94% in Grade 2, and 100% in Grade 3 ($p < 0.001$) [31]. These findings collectively suggest that while Cyclin D1 expression may correlate with tumor grade, its significance could depend on cohort-specific factors, such as sample size, methodology, or tumor heterogeneity.

For FIGO stages, our immunohistochemical analysis demonstrated the highest CCND1 positivity in Stage IV tumors (90.9%), with lower levels in Stage I (75.41%) and Stage II (76.67%), though these differences were not statistically significant ($p = 0.6862$). Notably, Khabaz et al. observed a statistically higher frequency of negative Cyclin D1 staining in FIGO stages III and IV, suggesting a potential shift in Cyclin D1 expression patterns with disease progression ($p = 0.029$) [11]. Zapiecki et al. reported a similar trend, where Cyclin D1 expression, quantified as the mean percent positive nuclear area (PPNA), was significantly higher in advanced stages (Stage I: 4.3, Stage IV: 17.5; $p = 0.013$), indicating its potential role in tumor progression [23]. Yildirim et al. observed an increase in positivity with advancing FIGO stages, reporting 60% in Stage I, 93% in Stage II, and 92% in Stage III ($p < 0.001$) [31]. Similarly, Berg et al. found high CCND1 expression predominantly in FIGO stages III and IV, with 57.1% and 75% positivity, respectively, compared to only 19.4% in Stage I ($p < 0.001$) [24]. Our findings, along with results reported in other studies, demonstrate a general trend of increasing CCND1 expression with higher FIGO stages. Most studies observed elevated CCND1 levels in advanced-stage tumors, supporting its potential role in promoting tumor progression through increased proliferative signaling and survival mechanisms. Despite some variability due to methodological differences and limited statistical significance, the overall trend indicates that CCND1 upregulation may be linked to more aggressive tumor behavior in advanced endometrial cancer stages, warranting further investigation in larger, well-defined cohorts.

For lymph node status (pN), our study showed comparable CCND1 positivity between N0 cases (75.47%) and N1 cases (81.82%), with no statistically significant difference ($p = 0.7823$). By comparison, Yildirim et al. observed a statistically significant increase in CCND1 positivity in N1 cases (92%) compared to N0 cases (75%), indicating a strong association with lymph node invasion ($p < 0.001$) [31]. Similarly, Berg et al. demonstrated a statistically significant link between high CCND1 expression and lymph node metastases ($p < 0.001$) [24]. Although our findings did not reach statistical significance, we observed a trend toward increased CCND1 expression in cases with lymph node metastases, consistent with significant associations reported in other studies, suggesting a potential role for CCND1 in promoting tumor progression.

Regarding histological type, high CCND1 expression in our cohort was similar between endometrioid (77.45%) and non-endometrioid cancers (73.08%), with no statistically significant difference observed ($p = 0.6136$). In contrast, Khabaz et al. reported statistically significant differences in Cyclin D1 expression across histological subtypes, with higher expression in endometrioid adenocarcinomas (20.3%) [11]. Zapiecki et al. found that Cyclin D1 expression varied across histological subtypes, being most pronounced in adenosquamous carcinomas, with a mean PPNA of 14.8 ($p = 0.028$), highlighting subtype-specific differences [23]. Atram et al. further distinguished Cyclin D1 expression by Type I and Type II endometrial cancer classifications, reporting that Cyclin D1 expression was predominantly associated with Type I tumors, corresponding to endometrioid adenocarcinomas, particularly those with poor differentiation. In their cohort of 124 EC cases, 87.09% were classified as Type I (endometrioid) and 12.89% as Type II (non-endometrioid), with an overall Cyclin D1 positivity of 53.22% [32]. Yildirim et al., however, reported significantly

higher Cyclin D1 expression in endometrioid carcinoma (78%) compared to precursor lesions, such as simple hyperplasia (30%) and endometrial intraepithelial neoplasia (62%) ($p < 0.001$) [31]. While most studies focus on the protein expression of Cyclin D1, Lapke et al. highlighted alterations in CCND1 at the genetic level, particularly changes in copy number variations (CNVs). These alterations were observed less frequently in endometrioid endometrial cancer compared to other subtypes, such as high-grade serous carcinomas, where CCND1 CNVs were significantly more common ($p = 0.007$) [33]. Notably, this aligns with the observation that endometrioid tumors often exhibit less genomic instability compared to serous subtypes [34]. These findings suggest that genetic changes in CCND1 may not always translate directly into alterations in protein-level expression.

Our findings indicated no significant association between Cyclin D1 expression and patient age, as positivity was observed in 75.61% of patients aged ≤ 60 years and 77.01% of patients aged > 60 years ($p > 0.8613$). In contrast, Khabaz et al. reported that high Cyclin D1 expression was more prevalent in younger patients (< 40 years old) and decreased with age ($p = 0.0001$), highlighting a potential demographic influence on Cyclin D1 expression in endometrial cancer [11]. These results suggest that the relationship between Cyclin D1 expression and patient age may be context-dependent, potentially influenced by tumor-specific molecular characteristics and individual patient factors.

The pathway enrichment analysis of genes coexpressed with CCND1 suggests its involvement in processes beyond cell cycle regulation, particularly in pathways related to signal transduction, immune modulation, and extracellular matrix remodeling. These findings imply that CCND1 may influence both tumor-intrinsic mechanisms, such as cell survival and proliferation, and tumor-extrinsic processes, including interactions with the microenvironment that facilitate immune evasion and metastatic progression. The association with ERBB signaling pathways among negatively correlated genes points to a potential compensatory mechanism in more aggressive tumor subtypes, where alternative oncogenic pathways might become activated in response to changes in CCND1 expression. Additionally, the enrichment of immune-related pathways raises the possibility that CCND1 plays a role in shaping the tumor immune microenvironment, which could impact immune surveillance and response to therapies. Although CCND1 is primarily associated with cell cycle regulation, our findings indicate that its role may extend to processes beyond proliferation control, particularly in pathways that influence tumor adaptability, immune interactions, and progression in endometrial cancer.

This study has several limitations that should be acknowledged. The analysis was based on both protein and mRNA expression data, which were not derived from the same experimental samples, and the retrospective nature of the datasets may introduce bias. Additionally, while the study identified significant prognostic associations of CCND1 expression in endometrial cancer, the functional mechanisms underlying these observations were not experimentally validated. Moreover, the lack of experimental verification limits the interpretation of the biological role of CCND1 in tumor progression. It is also important to note that missing values within publicly available datasets could reduce the statistical power of some analyses, potentially affecting the representativeness of the findings. Therefore, further studies on larger, independent cohorts with complete and prospectively collected data are warranted to confirm our observations and better understand the molecular mechanisms related to CCND1 in endometrial cancer.

4. Materials and Methods

4.1. Patients and Tissue Material

This study was conducted using archived tissue material from the Department of Clinical Pathomorphology, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University

in Toruń, with ethical approval from the Institutional Ethics Committee (KB/87/2020). The study group comprised 128 patients histologically diagnosed with EC who underwent abdominal hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy and lymphadenectomy at the Department of Obstetrics, Gynecological Diseases, and Oncological Gynecology at Dr. Jan Biziel University Hospital No. 2 in Bydgoszcz. The patients ranged in age from 40 to 84 years, with a mean age of 66.2 years and a median age of 66 years. Postoperative histopathological examination confirmed the diagnosis of EC. To account for the heterogeneous nature of the study group and the limited number of cases within specific categories of the International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) classification, a simplified classification was applied to reflect trends in disease progression. Key clinical and pathological variables included age (≤ 60 vs. >60 years), histologic grade (G1, G2, G3), pathological T stage (pT1–pT4), pathological N stage (pN0–pN1), pathological M stage (pM0–pM1), FIGO staging (I–IV), lymphovascular space invasion (LVSI; present vs. absent), and tumor histology (endometrioid vs. non-endometrioid type). The date of 13 April 2022, was set as the cut-off for overall survival (OS) analysis, defined as the time from diagnosis to the last follow-up or death. The median follow-up duration was 106.5 months, during which 58 patients (45.31%) passed away. Postsurgical survival data were available for all patients.

The control group consisted of material obtained from 30 patients who had previously undergone surgical hysterectomy due to uterine fibroids at the same department. The patients' ages ranged from 45 to 71 years, with a mean age of 60 years. Histopathological examination of the control tissue revealed normal endometrial tissue with no findings associated with proliferation, inflammation, or neoplastic changes.

4.2. Immunohistochemistry

Immunohistochemical analysis of CCND1 expression was conducted using tissue macroarrays (TMAs) prepared from tumor-enriched sections of paraffin-embedded blocks and corresponding histologically normal tissues. Four-micrometer-thick sections were generated using a manual rotary microtome (Accu-Cut, Sakura, Torrance, CA, USA) and mounted on adhesion-coated slides (SuperFrost Plus, Menzel-Gläser, Braunschweig, Germany). Sections were dried at 60 °C for 30 min before further processing. Tissue sections were dewaxed using xylene, rehydrated through graded ethanol series, and subjected to antigen retrieval using Ventana high-pH CC1 buffer (Roche Diagnostics/Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA) for 64 min. The samples were incubated with a ready-to-use rabbit monoclonal anti-CCND1 antibody (SP4-R, VENTANA) for 24 min. Antigen-antibody complexes were visualized using the UltraView Universal DAB Detection Kit (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA). Counterstaining was performed with hematoxylin to highlight nuclear structures, followed by dehydration through graded ethanol concentrations (80%, 90%, 96%, 99.8%), clearing in xylene, and coverslipping with Dako mounting medium (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Positive control sections were selected based on antibody datasheets and the Human Protein Atlas (<http://www.proteinatlas.org>, accessed on 12 September 2021), while negative controls were prepared by omitting the primary antibody to confirm staining specificity. Microscopic evaluation of CCND1 expression was performed using an ECLIPSE E400 microscope (Nikon, Tokyo, Japan), focusing on the intensity and localization of staining. Morphometric analysis was conducted at 20 $\times$ magnification, selecting three representative areas per sample to ensure reproducibility and precision in detecting CCND1 expression across all evaluated specimens. This standardized protocol provided reliable and consistent results for CCND1 immunohistochemical assessment.

4.3. Immunohistochemical Scoring

Immunohistochemical scoring for CCND1 expression was conducted using the Immunoreactive Score (IRS), which combines the immunointensity score (IS) and immunopercentage score (PS) to provide a semiquantitative evaluation of protein expression levels. Tumor sections were reviewed under a light microscope (ECLIPSE E400, Nikon Instruments Europe, Amsterdam, The Netherlands) at 20× magnification by an experienced pathologist blinded to the clinical and pathological data. For each sample, three randomly selected fields were assessed, and the mean IRS value was calculated. The immunointensity score (IS) represented the staining strength and was graded as follows: 0 = no staining, 1 = weak positive, 2 = moderate positive, and 3 = strong positive. The immunopercentage score (PS) reflected the proportion of positively stained cells, categorized as 0 = no positive cells, 1 = 5–24% positive cells, 2 = 25–49% positive cells, 3 = 50–74% positive cells, and 4 = ≥75% positive cells. The final IRS was calculated by multiplying IS and PS, resulting in values ranging from 0 to 12. High expression of CCND1 was defined as $IRS \geq 1$, while low expression corresponded to $IRS < 1$. To dichotomize expression levels, optimal cut-off points were determined using the cutpoint function of the Evaluate Cutpoints application in R (version 3.4.1, Medical University of Lodz, Lodz, Poland) [35]. This approach allowed for the stratification of samples into “high” and “low” expression groups for subsequent correlation analyses with clinicopathological features and OS. This scoring system provided a standardized and reproducible method for evaluating CCND1 expression in tumor tissues.

4.4. Database Analysis

Gene expression data were obtained from the UCSC Xena platform as RSEM expected counts (DESeq2 standardized), preprocessed using the STAR aligner and RSEM quantification, and normalized via DESeq2. The Cancer Genome Atlas (TCGA) cohort comprised 174 samples diagnosed with endometrial cancer and 23 samples of non-cancerous endometrial tissues, which served as controls. Among the 174 cancer samples, 105 were classified as Uterine Endometrioid Carcinoma, while 69 were identified as non-endometrioid subtypes, including 13 cases of Mixed Serous and Endometrioid Carcinoma and 56 cases of Serous Endometrial Adenocarcinoma. In the analyses of protein expression using IHC staining, a cut-off point of 1 was applied, with expression levels equal to or above 1 classified as high expression and below 1 classified as low expression. RNA sequencing (RNA-seq) transcriptome data were retrieved through the UCSC Xena Browser (<http://xena.ucsc.edu/> (accessed on 5 October 2024)) and subsequently normalized using the DESeq2 normalization method. The mRNA expression levels were stratified into high and low groups based on cut-off points identified using the Evaluate Cutpoints software. Values below 12.22 for CCND1 were classified as low gene expression, whereas values equal to or exceeding the established cut-off point were considered indicative of high expression. Further analysis was conducted to identify the top 50 genes positively correlated with CCND1 UCEC utilizing the cBioPortal web resource (<https://www.cbioportal.org/> (accessed on 9 January 2024)) and the TCGA dataset. Pathway enrichment and visualization were performed using the Reactome Pathway Database (<https://reactome.org> (accessed on 10 January 2024)), while the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) Pathway Database (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html> (accessed on 15 November 2024)) was used to explore the pathways associated with the development and progression of endometrial carcinoma. The STRING database (<https://string-db.org> (accessed on 10 January 2024)) and Cytoscape software (version 3.10.3, Cytoscape Consortium, San Diego, CA, USA) with the cytoHubba plugin facilitated the construction of a PPI network for the top 50 CCND1-coexpressed genes. The analysis was conducted with a medium confidence score of 0.700, incorporating 300 positively correlated genes and 300 negatively correlated genes.

To determine the Gene Ontology (GO) categories, including cellular component (CC), biological process (BP), and molecular function (MF) shared by these genes, the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID; <https://david.ncifcrf.gov> (accessed on 11 January 2024)) was employed.

4.5. Statistical Analysis

All statistical analyses were conducted using GraphPad Prism software (version 7.01, GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) and SPSS Statistics Data Editor (version 26.0, IBM Corporation, Chicago, IL, USA). The Shapiro–Wilk test was applied to assess the normality of the data. Due to the non-normal distribution of the analyzed variables, group comparisons were performed using the Mann–Whitney U test for continuous variables. Fisher’s exact test and the Chi-square test were employed to analyze associations between categorical clinical parameters and the expression of CCND1, which is classified as a categorical variable. Survival analyses were performed using the Kaplan–Meier method, and comparisons between survival curves were made with the Log–Rank test. To investigate the effect of CCND1 expression on OS, a Cox proportional hazards regression model was used. Univariate analyses were conducted to calculate hazard ratios (HR) with 95% confidence intervals (95% CI). Spearman’s rank correlation coefficient was used to assess the relationships between CCND1 expression and clinical variables, as well as other biomarkers. Correlation strength was classified according to Guilford’s scale, ranging from no correlation ($r = 0$) to a full correlation ($r = 1$). Statistical significance was defined as $p < 0.05$. These methods ensured a comprehensive and rigorous analysis of CCND1 expression and its clinical significance.

5. Conclusions

This study highlights the multifaceted role of CCND1 in endometrial cancer, suggesting its involvement in pathways beyond cell cycle regulation, including apoptosis, immune response, and tumor microenvironment modulation. Although our analyses identified potential links between CCND1 overexpression and advanced disease stages, the lack of statistical significance in some results reflects the complexity of its prognostic relevance. Notable limitations include the use of independent protein and mRNA datasets, the retrospective nature of the study, and the absence of experimental validation, which may have impacted data consistency and interpretability. Despite these constraints, our findings lay a foundation for future research aimed at the mechanistic exploration of CCND1 and its associated pathways. To fully elucidate the role of CCND1 in endometrial cancer progression and its potential as a prognostic biomarker, further studies integrating functional assays, multi-omics approaches, and prospectively collected cohorts will be essential.

Author Contributions: Conceptualization: M.G., P.A. and M.S.; writing—original draft preparation: M.S., D.J. and K.B.; formal analysis: M.S., D.J. and K.B.; visualization: D.J., K.B. and M.S.; staining evaluation: M.S. and P.A.; investigation: M.S., D.J., K.B. and P.A.; methodology: M.G. and P.A.; project administration: M.G.; writing—review and editing: P.A. and M.G.; funding acquisition: M.G. 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 Institutional Ethics Committee of Nicolaus Copernicus University in Toruń, Collegium Medicum in Bydgoszcz (KB/87/2020, Approval date: 25 February 2020).

Informed Consent Statement: Patient consent was waived due to the retrospective nature of the study. The requirement for informed consent was waived by the Institutional Ethics Committee of Nicolaus Copernicus University in Toruń, Collegium Medicum in Bydgoszcz.

Data Availability Statement: Publicly available datasets were analyzed in this study. These data can be found here: https://www.cbioportal.org/results/coexpression?cancer_study_list=ucec_tcga_pan_can_atlas_2018&tab_index=tab_visualize&case_set_id=ucec_tcga_pan_can_atlas_2018_all&Action=Submit&gene_list=CCND1&pathways_source=PathwayMapper&comparison_subtab=mrna (accessed on 9 January 2024); <https://xenabrowser.net> (accessed on 5 October 2024). Our own data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to ethical restrictions.

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

References

- Mazidimoradi, A.; Momenimovahed, Z.; Khalajinia, Z.; Allahqoli, L.; Salehiniya, H.; Alkatout, I. The Global Incidence, Mortality, and Burden of Uterine Cancer in 2019 and Correlation with SDI, Tobacco, Dietary Risks, and Metabolic Risk Factors: An Ecological Study. *Health Sci. Rep.* **2024**, *7*, e1835. [CrossRef]
- Crosbie, E.J.; Kitson, S.J.; McAlpine, J.N.; Mukhopadhyay, A.; Powell, M.E.; Singh, N. Endometrial Cancer. *Lancet* **2022**, *399*, 1412–1428. [CrossRef]
- Uterine Cancer Statistics. Available online: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/uterine-cancer> (accessed on 13 January 2025).
- Markowska, A.; Baranowski, W.; Pityński, K.; Chudecka-Głaz, A.; Markowska, J.; Sawicki, W. Metastases and Recurrence Risk Factors in Endometrial Cancer—The Role of Selected Molecular Changes, Hormonal Factors, Diagnostic Methods and Surgery Procedures. *Cancers* **2023**, *16*, 179. [CrossRef]
- Saglam, O. Uncommon Morphologic Types of Endometrial Cancer and Their Mimickers: How Much Does Molecular Classification Improve the Practice for Challenging Cases? *Life* **2024**, *14*, 387. [CrossRef]
- Makker, V.; MacKay, H.; Ray-Coquard, I.; Levine, D.A.; Westin, S.N.; Aoki, D.; Oaknin, A. Endometrial Cancer. *Nat. Rev. Dis. Primer* **2021**, *7*, 88. [CrossRef]
- Malumbres, M.; Barbacid, M. Cell Cycle, CDKs and Cancer: A Changing Paradigm. *Nat. Rev. Cancer* **2009**, *9*, 153–166. [CrossRef]
- Moreno-Bueno, G.; Rodríguez-Perales, S.; Sánchez-Estévez, C.; Hardisson, D.; Sarrió, D.; Prat, J.; Cigudosa, J.C.; Matias-Guiu, X.; Palacios, J. Cyclin D1 Gene (CCND1) Mutations in Endometrial Cancer. *Oncogene* **2003**, *22*, 6115–6118. [CrossRef]
- Sangwan, K.; Garg, M.; Pathak, N.; Bharti, L. Expression of Cyclin D1 in Hyperplasia and Carcinoma of Endometrium and Its Correlation with Histologic Grade, Tumor Type, and Clinicopathological Features. *J. Lab. Physicians* **2020**, *12*, 165–170. [CrossRef]
- Goel, S.; DeCristo, M.J.; McAllister, S.S.; Zhao, J.J. CDK4/6 Inhibition in Cancer: Beyond Cell Cycle Arrest. *Trends Cell Biol.* **2018**, *28*, 911–925. [CrossRef]
- Khabaz, M.N.; Abdelrahman, A.S.; Butt, N.S.; Al-Maghrabi, B.; Al-Maghrabi, J. Cyclin D1 Is Significantly Associated with Stage of Tumor and Predicts Poor Survival in Endometrial Carcinoma Patients. *Ann. Diagn. Pathol.* **2017**, *30*, 47–51. [CrossRef]
- Stefanoudakis, D.; Karopoulou, E.; Matsas, A.; Katsampoula, G.A.; Tsarna, E.; Stamoula, E.; Christopoulos, P. Immunotherapy in Cervical and Endometrial Cancer: Current Landscape and Future Directions. *Life* **2024**, *14*, 344. [CrossRef]
- Fatima, I.; Barman, S.; Rai, R.; Thiel, K.W.; Chandra, V. Targeting Wnt Signaling in Endometrial Cancer. *Cancers* **2021**, *13*, 2351. [CrossRef]
- Lei, Z.-N.; Teng, Q.-X.; Tian, Q.; Chen, W.; Xie, Y.; Wu, K.; Zeng, Q.; Zeng, L.; Pan, Y.; Chen, Z.-S.; et al. Signaling Pathways and Therapeutic Interventions in Gastric Cancer. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2022**, *7*, 358. [CrossRef]
- Parrish, M.L.; Broaddus, R.R.; Gladden, A.B. Mechanisms of Mutant β -Catenin in Endometrial Cancer Progression. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, 1009345. [CrossRef]
- Song, P.; Gao, Z.; Bao, Y.; Chen, L.; Huang, Y.; Liu, Y.; Dong, Q.; Wei, X. Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway in Carcinogenesis and Cancer Therapy. *J. Hematol. Oncol.* **2024**, *17*, 46. [CrossRef]
- Jayraj, A.S.; Abdul-Aziz, S.; Mburu, A.; Upadhyay, A.; Singh, N.; Ghatage, P. Narrative Review on the Evolving Role of HER2/Neu Targeting in Uterine Serous Cancers. *Ann. Transl. Med.* **2024**, *12*, 69. [CrossRef] [PubMed]
- Lopez, S.; Zeybek, B.; Santin, A.D. Targeting Her2/Neu in Uterine Serous Carcinoma: A Paradigm Shift in Management. *Oncotarget* **2018**, *9*, 36652–36653. [CrossRef]
- Sarmadi, S.; Izadi-mood, N.; Mansourzadeh, N.; Motevalli, D. Evaluation of HER2/Neu Expression in High-Grade Endometrial Carcinoma and Its Clinicopathological Correlation. *Iran. J. Pathol.* **2019**, *14*, 322–328. [CrossRef]

20. Tsuda, H.; Yamamoto, K.; Inoue, T.; Uchiyama, I.; Umesaki, N. The Role of P16-Cyclin D/CDK-pRb Pathway in the Tumorigenesis of Endometrioid-Type Endometrial Carcinoma. *Br. J. Cancer* **2000**, *82*, 675–682. [\[CrossRef\]](#)
21. Quddus, M.R.; Latkovich, P.; Castellani, W.J.; Sung, C.J.; Steinhoff, M.M.; Briggs, R.C.; Miranda, R.N. Expression of Cyclin D1 in Normal, Metaplastic, Hyperplastic Endometrium and Endometrioid Carcinoma Suggests a Role in Endometrial Carcinogenesis. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **2002**, *126*, 459–463. [\[CrossRef\]](#)
22. Xu, J.; Lin, D.I. Oncogenic C-Terminal Cyclin D1 (CCND1) Mutations Are Enriched in Endometrioid Endometrial Adenocarcinomas. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0199688. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Zapiecki, K.; Manahan, K.J.; Miller, G.A.; Geisler, J.P. Cyclin E Is Overexpressed by Clear Cell Carcinomas of the Endometrium and Is a Prognostic Indicator of Survival. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* **2015**, *36*, 114–116.
24. Berg, H.F.; Ju, Z.; Myrvold, M.; Fasmer, K.E.; Halle, M.K.; Hoivik, E.A.; Westin, S.N.; Trovik, J.; Haldorsen, I.S.; Mills, G.B.; et al. Development of Prediction Models for Lymph Node Metastasis in Endometrioid Endometrial Carcinoma. *Br. J. Cancer* **2020**, *122*, 1014–1022. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Liang, S.; Mu, K.; Wang, Y.; Zhou, Z.; Zhang, J.; Sheng, Y.; Zhang, T. CyclinD1, a Prominent Prognostic Marker for Endometrial Diseases. *Diagn. Pathol.* **2013**, *8*, 138. [\[CrossRef\]](#)
26. Dolicka, D.; Sobolewski, C.; Correia de Sousa, M.; Gjorgjieva, M.; Foti, M. mRNA Post-Transcriptional Regulation by AU-Rich Element-Binding Proteins in Liver Inflammation and Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 6648. [\[CrossRef\]](#)
27. Panda, A.C.; Abdelmohsen, K.; Martindale, J.L.; Di Germanio, C.; Yang, X.; Grammatikakis, I.; Noh, J.H.; Zhang, Y.; Lehmann, E.; Dudekula, D.B.; et al. Novel RNA-Binding Activity of MYF5 Enhances Ccnd1/Cyclin D1 mRNA Translation during Myogenesis. *Nucleic Acids Res.* **2016**, *44*, 2393–2408. [\[CrossRef\]](#)
28. Alam, S.; Zunic, A.; Venkat, S.; Feigin, M.E.; Atanassov, B.S. Regulation of Cyclin D1 Degradation by Ubiquitin-Specific Protease 27X Is Critical for Cancer Cell Proliferation and Tumor Growth. *Mol. Cancer Res.* **2022**, *20*, 1751–1762. [\[CrossRef\]](#)
29. Mohanty, A.; Sandoval, N.; Das, M.; Pillai, R.; Chen, L.; Chen, R.W.; Amin, H.M.; Wang, M.; Marcucci, G.; Weisenburger, D.D.; et al. CCND1 Mutations Increase Protein Stability and Promote Ibrutinib Resistance in Mantle Cell Lymphoma. *Oncotarget* **2016**, *7*, 73558–73572. [\[CrossRef\]](#)
30. Stekel, Z.; Sheng, Y.; Zhang, W. The Multifaceted Role of the Ubiquitin Proteasome System in Pathogenesis and Diseases. *Biomolecules* **2022**, *12*, 925. [\[CrossRef\]](#)
31. Yildirim, H.T.; Nergiz, D.; Sadullahoglu, C.; Akgunduz, Z.; Yildirim, S.; Dogan, S.; Sezer, C. The Extent of Cyclin D1 Expression in Endometrial Pathologies and Relevance of Cyclin D1 with the Clinicopathological Features of Endometrioid Endometrial Carcinoma. *Indian J. Pathol. Microbiol.* **2020**, *63*, 412–417. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Atram, M.A.; Shivkumar, V.B.; Gangane, N.M. Immunohistochemical Analysis Of Novel Biomarkers Cyclin D1, P53 And Ki67 In Endometrial Carcinoma: Clinicopathological Significance And Prognostic Value. *Gulf J. Oncolog.* **2022**, *1*, 15–23. [\[PubMed\]](#)
33. Lapke, N.; Chen, C.-H.; Chang, T.-C.; Chao, A.; Lu, Y.-J.; Lai, C.-H.; Tan, K.T.; Chen, H.-C.; Lu, H.-Y.; Chen, S.-J. Genetic Alterations and Their Therapeutic Implications in Epithelial Ovarian Cancer. *BMC Cancer* **2021**, *21*, 499. [\[CrossRef\]](#)
34. Habermann, J.K.; Bündgen, N.K.; Gemoll, T.; Hautaniemi, S.; Lundgren, C.; Wangsa, D.; Doering, J.; Bruch, H.-P.; Nordstroem, B.; Roblick, U.J.; et al. Genomic Instability Influences the Transcriptome and Proteome in Endometrial Cancer Subtypes. *Mol. Cancer* **2011**, *10*, 132. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Ogłuszka, M.; Orzechowska, M.; Jędraszka, D.; Witas, P.; Bednarek, A.K. Evaluate Cutpoints: Adaptable Continuous Data Distribution System for Determining Survival in Kaplan-Meier Estimator. *Comput. Methods Programs Biomed.* **2019**, *177*, 133–139. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

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.

12.1.2. Publikacja nr 2

Article

Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis

Marcin Szymański ¹, Klaudia Bonowicz ^{1,2} , Dominika Jerka ¹ , Maciej Gagat ^{1,2,*}  and Paulina Antosik ³ 

¹ Department of Histology and Embryology, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Toruń, 85-092 Bydgoszcz, Poland; md.marcinszymanski@gmail.com (M.S.); klaudia.bonowicz@cm.umk.pl (K.B.); dominika.jerka@cm.umk.pl (D.J.)

² Faculty of Medicine, Collegium Medicum, Mazovian Academy in Płock, 09-402 Płock, Poland

³ Department of Clinical Pathomorphology, Faculty of Medicine, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Toruń, 85-094 Bydgoszcz, Poland; paulina.antosik@cm.umk.pl

* Correspondence: mgagat@cm.umk.pl

Simple Summary: This study examines the expression of cyclin K (CCNK) in endometrial cancer by comparing immunohistochemical analysis (IHC) with gene expression data from The Cancer Genome Atlas (TCGA) across endometrioid and non-endometrioid types and evaluates its correlation with patient survival outcomes. Our findings indicate that CCNK expression is elevated in endometrial cancer tissues compared to normal endometrial samples. Higher protein and mRNA expression levels were associated with worse overall survival (OS). A functional enrichment analysis of genes linked to CCNK suggests its involvement in transcriptional regulation and RNA metabolism. These results contribute to understanding the potential role of CCNK in tumor biology and its prognostic significance in endometrial cancer.



Academic Editors: Bo R. Rueda and David Mutch

Received: 19 December 2024

Revised: 28 January 2025

Accepted: 23 February 2025

Published: 25 February 2025

Citation: Szymański, M.; Bonowicz, K.; Jerka, D.; Gagat, M.; Antosik, P. Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis. *Cancers* **2025**, *17*, 792. <https://doi.org/10.3390/cancers17050792>

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/>).

Abstract: Background/Objectives: Endometrial cancer (EC) is a heterogeneous gynecological malignancy characterized by varied clinical outcomes and complex molecular mechanisms. The dysregulation of cyclin K (CCNK), a key regulator of transcription and cell cycle progression, has been implicated in cancer development. This study aimed to investigate CCNK expression at the protein level in EC tissues and at the mRNA level using in silico analysis. Additionally, the prognostic significance of CCNK expression in EC was assessed. **Methods:** CCNK expression was evaluated using immunohistochemical analysis and mRNA expression profiling in EC tissues, adjacent non-tumorous tissues, and histologically normal endometrial tissues. Immunohistochemical staining was performed on tissue macroarrays, and protein expression was quantified using the Immunoreactivity Score (IRS). mRNA expression analysis was conducted in silico using TCGA data via UCSC Xena and UALCAN web tool. Pathway enrichment was analyzed using Reactome and DAVID tool, while PPI networks were constructed with STRING and Cytoscape. Statistical analyses, including Mann–Whitney U test, Fisher’s exact test, Chi-square test, Kaplan–Meier survival analysis, and Cox regression, were performed using GraphPad Prism. **Results:** Immunohistochemical analysis revealed significantly elevated CCNK protein expression in tumor tissues, particularly in advanced-stage cases, correlating with adverse pathological features such as higher tumor stage and FIGO grade. High CCNK protein expression was significantly associated with poorer OS in the overall EC cohort and non-endometrioid subtypes, whereas no significant association was observed in endometrioid subtypes. mRNA expression analysis demonstrated significantly higher CCNK levels in non-endometrioid tumors compared to adjacent non-tumorous tissues, but no significant correlation with

OS was observed. Functional enrichment analysis highlighted the involvement of CCNK-associated genes in RNA metabolism and transcriptional regulation. **Conclusions:** These findings emphasize the prognostic value of CCNK expression in EC, particularly in aggressive subtypes. The results suggest that CCNK may serve as a potential therapeutic target, warranting further investigation into its role in EC progression and treatment strategies.

Keywords: CCNK; endometrial cancer; prognostic factor

1. Introduction

EC constitutes 90% of all uterine cancer cases, making it one of the most prevalent gynecological malignancies and a leading cause of cancer among women globally [1]. The majority of patients with endometrial cancer are diagnosed at an early stage, where standard treatment typically involves surgical intervention, possibly combined with adjuvant radiotherapy or chemotherapy based on the assessed risk of disease recurrence [2]. EC is associated with hyperestrogenism-related factors such as early menarche, late menopause, polycystic ovary syndrome (PCOS), infertility, obesity, and diabetes. Estrogens stimulate endometrial growth and proliferation, playing a key role in EC development. Additionally, genetic predisposition contributes to EC risk, with Lynch syndrome being a notable factor in hereditary cases [3]. Significant progress has been made in improving the management of endometrial cancer, including in early-stage cases. Key advancements such as sentinel lymph node mapping, which detects low-volume metastatic disease, molecular profiling based on The Cancer Genome Atlas (TCGA) framework, and an updated staging system have refined prognostic assessments, paving the way for more personalized treatment strategies [4]. Despite medical advancements, 15% of patients are diagnosed at advanced stages of endometrial cancer. In these stages, specifically International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) stages III and IVA-B, the five-year OS rates significantly decline to 40–65% for stage III and 15–17% for stages IVA-B, respectively. Until recently, women with recurrent or metastatic disease (FIGO stage IVC) faced limited therapeutic options, primarily restricted to chemotherapy, which often diminishes in effectiveness after the first line of treatment [5,6].

CDKs play key roles in cancer progression, making them important targets for cancer therapy, as evidenced by several approved CDK4/6 inhibitors in breast and lung cancer and ongoing clinical trials in other tumor types [7]. CDKs are essential for driving cell cycle progression, requiring interaction with regulatory cyclin subunits to achieve catalytic activity [8].

Cyclin K plays a pivotal role in cell division, DNA replication, and genomic stability, supporting cancer cell proliferation and therapy resistance [9–11]. Encoded by the CCNK gene, it belongs to the transcription cyclin family and regulates gene expression [12]. Its expression is consistently detected in various cancers, indicating its potential as a biomarker. Cyclin K loss in prostate cancer drives androgen receptor (AR) variant expression and therapy resistance, inducing a BRCA-like deficiency (BRCAness) that increases sensitivity to PARP inhibitors, making it a key target in advanced prostate cancer [13]. Additionally, cyclin K is overexpressed in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), correlating with poor survival and promoting G1-S progression via CDC20. Its depletion impairs proliferation *in vivo* and enhances sensitivity to GemTaxol and PARP inhibitors [14]. In lung cancer, cyclin K stabilizes β -catenin and drives cyclin D1 expression, enhancing tumor proliferation and radioresistance. Silencing cyclin K disrupts the G2/M checkpoint, impairing tumor growth and increasing radiosensitivity, highlighting its therapeutic potential in lung

cancer [15]. Cyclin K is increasingly recognized as a key regulator in cancer biology, with studies linking its expression to tumor progression and cell proliferation, underscoring its potential as a therapeutic target [16].

Cyclin K interacts with CDK12 and CDK13 to form active complexes essential for transcription regulation [9]. These complexes are crucial in cell division, and their dysregulation contributes to EC progression [17]. Beyond transcriptional regulation, CDK12 and CDK13 are involved in RNA processing, splicing, and translation control, linking transcription elongation to post-transcriptional modifications [18]. CDK12 ensures proper expression of DNA damage repair genes by preventing premature polyadenylation, while also regulating mitotic genes through direct phosphorylation of translation initiation factors [19]. CDK13 is involved in RNA surveillance, preventing stabilization and translation of aberrant mRNAs, which could contribute to oncogenesis [20]. In BRAF-mutated melanoma, CDK12 activity drives tumor proliferation and genomic stability, while the CDK12/13 inhibitor SR-4835 inhibits DDR gene expression, induces DNA damage, and impairs melanoma growth. SR-4835 also acts as a molecular glue, promoting cyclin K degradation via the CUL4-RBX1-DDB1 ubiquitin ligase complex, with its benzimidazole side-chain being critical for this activity [21].

In this study, we aim to investigate CCNK expression and its potential clinical significance in EC. The initial phase focused on the immunohistochemical evaluation of CCNK expression and distribution in EC tissues and adjacent non-tumor tissues. Protein expression data were analyzed to determine correlations with the clinicopathological features and OS of patients with EC. Additionally, in silico analysis of data from gene expression analyses were performed using datasets from TCGA, comparing CCNK expression in endometrial cancer samples with normal endometrial tissue. These analyses aimed to elucidate the transcriptional landscape of CCNK and its potential regulatory networks in tumor biology. Functional enrichment and pathway analyses were conducted to identify biological processes, molecular functions, and cellular components associated with CCNK expression. By examining gene expression patterns and coexpression networks, we sought to determine potential oncogenic interactions, which may contribute to tumor progression and influence patient prognosis.

2. Materials and Methods

2.1. Patients and Tissue Material

This study was conducted using archived tissue material from the Department of Clinical Pathomorphology, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Toruń, with ethical approval from the Institutional Ethics Committee (KB/87/2020). The study group comprised 128 patients histologically diagnosed with EC, who underwent abdominal hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy and lymphadenectomy at the Department of Obstetrics, Gynecological Diseases, and Oncological Gynecology at Dr. Jan Biziel University Hospital No. 2 in Bydgoszcz. The patients ranged in age from 40 to 84 years, with a mean age of 66.2 years and a median age of 66 years. Postoperative histopathological examination confirmed the diagnosis of EC. To account for the heterogeneous nature of the study group and the limited number of cases within specific FIGO classification categories, a simplified classification was applied to reflect trends in disease progression. Key clinical and pathological variables included age (≤ 60 vs. > 60 years), histologic grade (G1, G2, G3), pathological T stage (pT1–pT4), pathological N stage (pN0–pN1), pathological M stage (pM0–pM1), FIGO staging (I–IV), lymphovascular space invasion (LVSI; present vs. absent), and tumor histology (endometrioid vs. non-endometrioid type). The date of 13 April 2022 was set as the cut-off for OS analysis, defined as the time from diagnosis to the

last follow-up or death. The median follow-up duration was 106.5 months, during which 58 patients (45.31%) passed away. Postsurgical survival data were available for all patients.

The control group consisted of material obtained from 30 patients who had previously undergone surgical hysterectomy due to uterine fibroids at the same department. The patients' ages ranged from 45 to 71 years, with a mean age of 60 years. Histopathological examination of the control tissue revealed normal endometrial tissue with no findings associated with proliferation, inflammation, or neoplastic changes.

2.2. Immunohistochemistry

Immunohistochemical staining for CCNK was performed on tissue macroarrays constructed from tumor-rich representative areas of paraffin blocks and tumor-adjacent histologically normal tissues. Four-micrometer-thick sections were cut from the macroarrays using a manual rotary microtome (Accu-Cut, Sakura, Torrance, CA, USA) and mounted on adhesion-coated slides (SuperFrost Plus, Menzel-Gläser, Braunschweig, Germany). Sections were dried at 60 °C for 30 min before further processing. The slides were dewaxed in xylene, were rehydrated through graded alcohol concentrations, and underwent antigen retrieval in Ventana high-pH CC1 buffer for 64 min (Roche Diagnostics/Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA). The sections were incubated with a rabbit monoclonal anti-CCNK antibody (1:50, HPA077073, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) for 40 min, and antigen-antibody complexes were visualized using the UltraView Universal DAB Detection Kit (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA). Tissue sections were counterstained with hematoxylin for nuclear visualization, dehydrated through graded ethanol concentrations (80%, 90%, 96%, 99.8%), cleared in xylene, and cover-slipped using Dako mounting medium (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Known positive control sections were included, selected based on antibody datasheets and the Human Protein Atlas (<http://www.proteinatlas.org>, accessed on 12 September 2021), and negative controls were prepared by omitting the primary antibody while maintaining all other steps to confirm staining specificity. Microscopic evaluation of CCNK expression was conducted using an ECLIPSE E400 microscope (Nikon, Tokyo, Japan), focusing on the intensity and localization of staining. Morphometric analysis was performed at 20× magnification, with three representative areas per sample selected to ensure accuracy and consistency across all evaluated tissue samples. This standardized procedure ensured the reliable and reproducible detection of CCNK expression in the analyzed specimens.

2.3. Immunohistochemical Scoring

Immunohistochemical scoring for CCNK expression was conducted using the IRS, which combines the immunointensity score (IS) and immunopercantage score (PS) to provide a semiquantitative evaluation of protein expression levels. Tumor sections were reviewed under a light microscope (ECLIPSE E400, Nikon Instruments Europe, Amsterdam, The Netherlands) at 20× magnification by an experienced pathologist blinded to the clinical and pathological data. For each sample, three randomly selected fields were assessed, and the mean IRS value was calculated. IS represented the staining strength and was graded as follows: 0 = no staining; 1 = weak positive; 2 = moderate positive; and 3 = strong positive. PS reflected the proportion of positively stained cells, categorized as follows: 0 = no positive cells; 1 = 5–24% positive cells; 2 = 25–49% positive cells; 3 = 50–74% positive cells; and 4 = ≥75% positive cells. The final IRS was calculated by multiplying the IS and PS, resulting in values ranging from 0 to 12. High expression of CCNK was defined as $IRS \geq 4$, while low expression corresponded to $IRS < 4$. To dichotomize expression levels, optimal cut-off points were determined using the cut-point function of the Evaluate Cutoffs application in R [22]. This approach allowed for the stratification of samples into “high” and “low”

expression groups for subsequent correlation analyses with clinicopathological features and OS. This scoring system provided a standardized and reproducible method for evaluating CCNK expression in tumor tissues.

2.4. Database Analysis

TCGA cohort comprised 174 samples diagnosed with endometrial cancer and 23 samples of non-cancerous endometrial tissues, which served as controls. Among the 174 cancer samples, 105 were classified as uterine endometrioid carcinoma, while 69 were identified as non-endometrioid subtypes, including 13 cases of mixed serous and endometrioid carcinoma and 56 cases of serous endometrial adenocarcinoma. RNA sequencing (RNA-seq) transcriptome data were retrieved through the UCSC Xena Browser (<http://xena.ucsc.edu/> (accessed on 5 October 2024)) and subsequently normalized using the DESeq2 normalization method. The mRNA expression levels were stratified into high and low groups based on cut-off points identified using Evaluate Cutpoints software, version 4.4.2. Values below 11.25 for CCNK were classified as low gene expression, whereas values equal to or exceeding the established cut-off point were considered indicative of high expression. Further analysis was conducted to identify the top 50 genes positively correlated with CCNK in uterine corpus endometrial carcinoma (UCEC) utilizing the UALCAN web resource (<http://ualcan.path.uab.edu/> (accessed on 2 November 2024)) and TCGA dataset. Pathway enrichment and visualization were performed using the Reactome Pathway Database (<https://reactome.org> (accessed on 8 November 2024)), while the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) Pathway Database (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html> (accessed on 15 November 2024)) was used to explore the pathways associated with the development and progression of endometrial carcinoma. The STRING database (<https://string-db.org> (accessed on 18 November 2024)) and Cytoscape software, version 3.10.3 with the cytoHubba plugin facilitated the construction of a protein–protein interaction (PPI) network for the top 50 CCNK-coexpressed genes. To determine the Gene Ontology (GO) categories—including cellular component (CC), biological process (BP), and molecular function (MF) categories—shared by these genes, the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID; <https://david.ncifcrf.gov> (accessed on 20 November 2024)) was employed.

2.5. Statistical Analysis

All statistical analyses were conducted using GraphPad Prism software (version 7.01, GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) and the SPSS Statistics Data Editor (version 26.0, IBM Corporation, Chicago, IL, USA). The Shapiro–Wilk test was applied to assess the normality of the data. Due to the non-normal distribution of the analyzed variables, group comparisons were performed using the Mann–Whitney U test for continuous variables. Fisher’s exact test and the Chi-square test were employed to analyze associations between categorical clinical parameters and the expression of CCNK, classified as a categorical variable. Survival analyses were performed using the Kaplan–Meier method, and comparisons between survival curves were made with the log-rank test. To investigate the effect of CCNK expression on OS, a Cox proportional hazards regression model was used. Univariate analyses were conducted to calculate hazard ratios (HRs) with 95% confidence intervals (95% CIs). Spearman’s rank correlation coefficient was used to assess the relationships between CCNK expression and clinical variables, as well as other biomarkers. Correlation strength was classified according to Guilford’s scale, ranging from no correlation ($r = 0$) to a full correlation ($r = 1$). Statistical significance was defined as $p < 0.05$. These methods ensured the comprehensive and rigorous analysis of CCNK expression and its clinical significance.

3. Results

3.1. CCNK Immunoeexpression in Endometrial Cancer and Adjacent Normal Tissue

No expression of CCNK was detected in normal endometrial tissue, as demonstrated by the negative control, which exhibited an absence of staining (Figure 1A). In serous carcinoma, CCNK expression exhibited significant heterogeneity. Strong nuclear overexpression of CCNK was identified in one case (Figure 1B), while another case showed low nuclear expression (Figure 1C). In both instances of detectable expression, CCNK was localized exclusively within the nucleus. In endometrioid carcinoma, strong nuclear overexpression of CCNK was observed in one sample (Figure 1D), whereas another demonstrated low nuclear expression (Figure 1E).

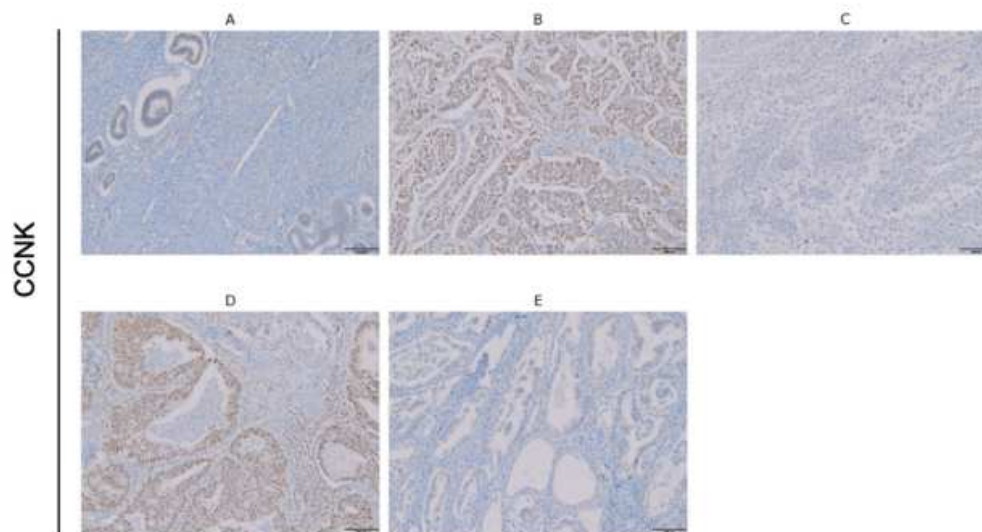


Figure 1. Representative photographs showing immunohistochemical expression of CCNK in EC. Negative control for CCNK, showing no expression (A). Serous carcinoma with strong CCNK expression (B). Serous carcinoma with low CCNK expression (C). Endometrioid carcinoma with strong CCNK expression (D). Endometrioid carcinoma with low CCNK expression (E). Original magnification: 20×.

According to the findings, CCNK immunoreactivity was considerably greater in tumor tissues than in nearby tissues for each of the three endometrial cancer subtypes that was studied: non-endometrioid adenocarcinoma (nEAC), EC, and endometrial adenocarcinoma (EAC). Adjacent tissues displayed incredibly low levels of immunoreactivity for all three comparisons, and for control purposes, their expression levels were set to 0. Highly significant differences between adjacent and tumor tissues were found by statistical analysis using the Mann–Whitney U test ($p < 0.0001$ for all comparisons; Figure 2A–C). This demonstrates how cyclin K is significantly overexpressed in tumor tissues as opposed to nearby non-tumorous tissues.

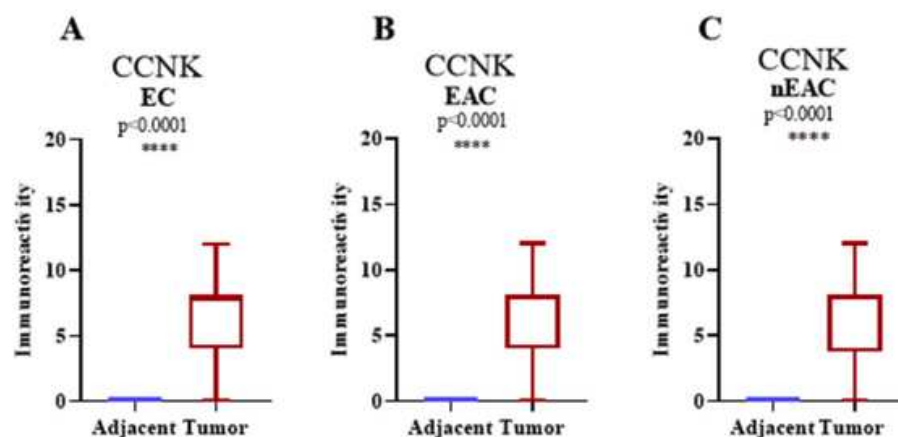


Figure 2. Immunoexpression of CCNK in EC. Immunoexpression of CCNK in histologically normal endometrial tissue compared to all ECs shows significantly higher immunoreactivity in cancerous tissues (A). Immunoexpression of CCNK in EAC reveals significantly elevated levels of immunoreactivity in cancerous tissues compared to histologically normal tissue (B). Immunoexpression of CCNK in nEAC demonstrates significantly higher immunoreactivity in cancerous tissues compared to histologically normal tissue (C). The X-axis represents histologically normal endometrial tissue versus cancerous endometrial tissue, and the Y-axis displays the IRS. Error bars indicate the maximum and minimum values of the data (**** $p < 0.0001$, Mann–Whitney test).

3.2. Tumor Characteristics with Respect to CCNK Immunoexpression

We evaluated whether CCNK reactivity varied based on the clinicopathological features of the patients. When the established definition of low and high expression for each category was applied, 102 (79.69%) patients demonstrated high CCNK expression, while 26 (20.31%) showed low expression. Among patients aged ≤ 60 years, 32 (78.05%) exhibited high CCNK expression, compared to 70 (80.46%) patients aged >60 years. Regarding histological grade, 6 (66.67%), 61 (83.56%), and 35 (76.09%) patients with G1, G2, and G3 tumors, respectively, demonstrated high CCNK expression. For pT status, high expression was observed in 55 (78.57%), 33 (91.67%), and 14 (70.00%) patients with T1, T2, and T3 + T4 tumors, respectively. Among histological types, 82 (80.39%) endometrioid cancers and 20 (76.92%) non-endometrioid cancers exhibited high CCNK expression. Overall, while high CCNK expression was prevalent across the categories, the analysis showed significant associations between CCNK expression and variables such as pT status ($p = 0.0499$) and FIGO stage ($p = 0.0433$), but no significant associations with age, histologic grade, pN status, pM status, LVSI, or histological type (Fisher's exact test; Table 1).

Table 1. Characteristics of study population by CCNK immunoexpression group (statistically non-significant results are denoted as “n.s.”).

Variables	CCNK			p-Value
	Number (%) n = 128	↑n = 102	↓n = 26	
Age				
≤60	41 (32.03)	32 (78.05)	9 (21.95)	n.s.
>60	87 (67.97)	70 (80.46)	17 (19.54)	

Table 1. Cont.

CCNK				
Variables	Number (%) n = 128	↑n = 102	↓n = 26	p-Value
Histological grade				
G1	9 (7.03)	6 (66.67)	3 (33.33)	n.s
G2	73 (57.03)	61 (83.56)	12 (16.44)	
G3	46 (35.94)	35 (76.09)	11 (23.91)	
pT status				
T1	70 (54.69)	55 (78.57)	15 (21.43)	0.0499
T2	36 (28.13)	33 (91.67)	3 (8.33)	
T3	17 (13.28)	10 (58.82)	7 (41.18)	
T4	5 (3.91)	4 (80)	1 (20)	
pN status				
N0	106 (82.81)	84 (79.25)	22 (20.75)	n.s
N1	22 (17)	18 (81.82)	4 (18.18)	
pM status				
M0	116 (90.63)	91 (78.45)	25 (21.55)	n.s
M1	12 (9.38)	11 (91.67)	1 (8.33)	
FIGO				
I	61 (47.66)	49 (80.33)	12 (19.67)	0.0433
II	30 (23.44)	27 (90)	3 (10)	
III	26 (20.31)	16 (61.54)	10 (28.46)	
IV	11 (8.59)	10 (90.9)	1 (9.1)	
LVSI				
N	103 (80.47)	80 (77.67)	23 (22.33)	n.s
T	25 (19.53)	22 (88)	3 (12)	
Bokhman histological type				
I	111 (86.72)	89 (80.18)	22 (19.82)	n.s
II	17 (13.28)	13 (76.47)	4 (23.53)	
Histological type				
Endometrioid cancer	102 (79.69)	82 (80.39)	20 (19.61)	n.s
Non-endometrioid cancer	26 (20.31)	20 (76.92)	6 (23.08)	

3.3. Correlation of Overall Survival with CCNK Immunohistochemical Expression

Kaplan–Meier survival analysis revealed that CCNK immunohistochemical expression, defined using a cut-off value of 4, demonstrated a potential association with OS in patients with endometrial cancer. The median survival time for patients with high and low levels of CCNK expression was 106.5 days. In the overall EC cohort, high CCNK expression was significantly associated with poorer survival times ($p = 0.02$; Figure 3A). This trend was not observed in patients with endometrioid endometrial carcinoma, where no significant differences in OS were detected based on CCNK expression ($p = 0.28$; Figure 3B). However, a significant association was also found in patients with non-endometrioid

endometrial carcinoma, where high CCNK expression correlated with poorer survival ($p = 0.01$; Figure 3C).

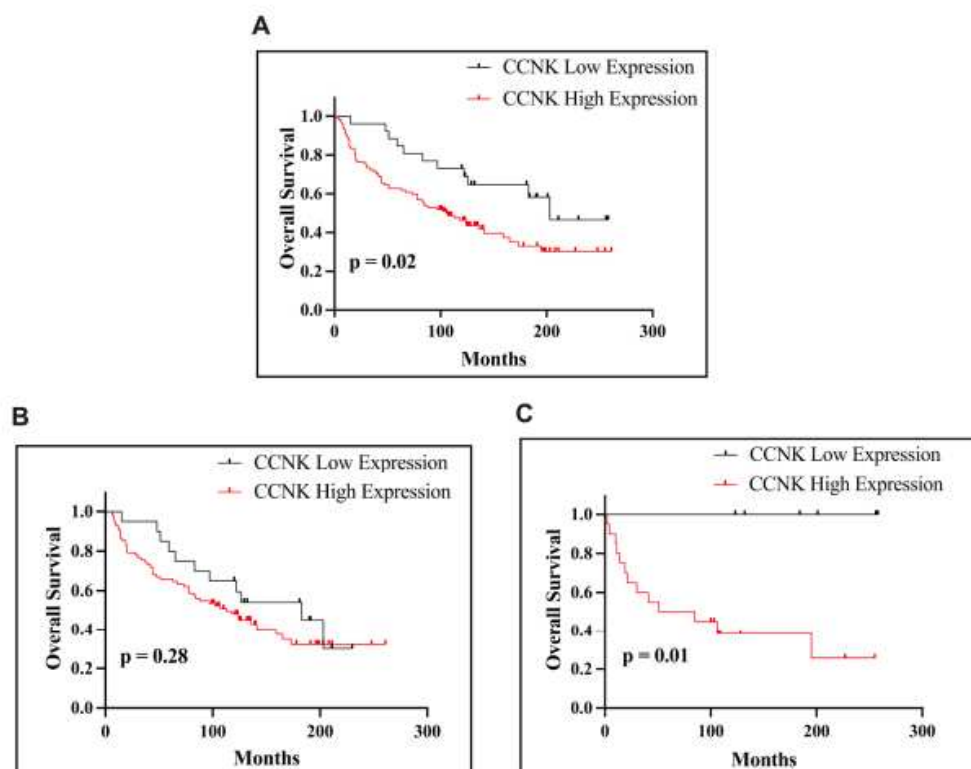


Figure 3. Kaplan–Meier survival curves presenting OS of patients with EC based on CCNK expression. OS according to CCNK immunohistochemical expression in all patients with EC (A). OS of patients with endometrioid subtype based on CCNK immunohistochemical expression (B). OS of patients with non-endometrioid subtype based on CCNK immunohistochemical expression (C). The p -values, calculated using the log-rank test, indicate significant differences in survival between groups with low and high CCNK expression.

3.4. CCNK mRNA Expression in EC and Normal Tissue Based on TCGA Datasets

The Mann–Whitney test was used to compare tumor tissues with nearby normal tissues, with Figure 4 displaying the levels of CCNK mRNA expression in EC, EAC, and nEAC. There were no discernible variations in CCNK mRNA expression in the entire EC cohort ($p = 0.3114$; Figure 4A) or the EAC subtype ($p = 0.8112$; Figure 4B), indicating a consistent expression pattern in both groups. However, in the nEAC subtype, tumor tissues had significantly higher levels of CCNK mRNA expression than nearby normal tissues ($p = 0.0445$; Figure 4C), suggesting that CCNK may play a part in the development or progression of the more aggressive non-endometrioid subtype of endometrial cancer.

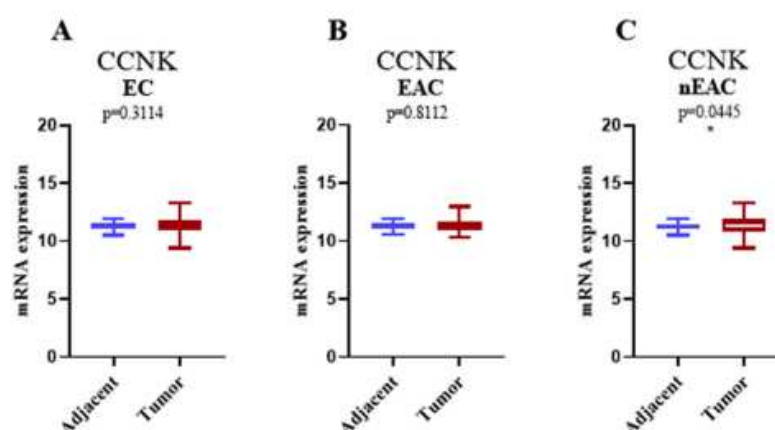


Figure 4. mRNA expression of CCNK in EC. mRNA expression of CCNK in histologically normal endometrial tissue compared to all ECs shows no significant difference ($p = 0.3114$) (A). mRNA expression of CCNK in EAC demonstrates no significant difference between histologically normal tissue and cancerous tissue ($p = 0.8112$) (B). mRNA expression of CCNK in nEAC shows a statistically significant increase in cancerous tissues compared to histologically normal tissue ($*p = 0.0445$) (C). The X-axis represents histologically normal endometrial tissue versus cancerous endometrial tissue, and the Y-axis displays mRNA expression levels. Error bars indicate the maximum and minimum values of the data.

3.5. Expression of CCNK-Related Genes: In Silico Functional Enrichment Analysis

The top genes positively correlated with CCNK were identified using Pearson correlation coefficient and Spearman's rank correlation. The genes *ALKBH1* and *YY1* showed the highest positive correlation with CCNK, with Pearson correlation coefficients of 0.77 and 0.76, respectively. These findings indicate a strong relationship between CCNK and these genes, suggesting potential shared regulatory mechanisms or functional roles in the studied context (Table 2).

Table 2. Top 50 genes positively correlated with CCNK (Pearson coefficient analysis).

CCNK (+)-Correlated Gene	PearsonCC	CCNK (+)-Correlated Gene	PearsonCC
ALKBH1	0.77	RBM16	0.68
YY1	0.76	ARMC8	0.68
PPP2R5E	0.75	KRR1	0.68
SMEK1	0.74	OPA1	0.68
ATXN3	0.73	TRIP11	0.68
RCOR1	0.73	ZBTB11	0.68
C5orf51	0.71	WDR33	0.68
MAPK1IP1L	0.71	DCUN1D1	0.68
CPSF2	0.71	PPIL4	0.68
SETD3	0.7	RBBP4	0.68
FANCM	0.7	PPM1A	0.68
FCF1	0.7	G2E3	0.68
PSMD10	0.69	TRA2B	0.68
EXD2	0.69	SP3	0.68
ZNF410	0.69	CELF1	0.68
KPNA1	0.69	MPP5	0.68
WDR20	0.69	TBCCD1	0.67
SRP54	0.69	GDAP2	0.67
EXOC5	0.69	C10orf18	0.67
HNRNPU	0.69	RBM27	0.67

Table 2. Cont.

CCNK (+)-Correlated Gene	PearsonCC	CCNK (+)-Correlated Gene	PearsonCC
MUDENG	0.69	HP1BP3	0.67
SRRM1	0.69	CDC23	0.67
SIKE1	0.69	ACTR2	0.67
CPSF6	0.69	LIN52	0.67
TAB2	0.68	PPP1R8	0.67

Reactome pathway analysis identified significant biological processes associated with genes positively correlated with CCNK in UCEC including “Metabolism of RNA”, “Chromatin organization”, and “Gene expression (transcription)”. Additional enriched pathways, such as “Signal transduction” and “Metabolism of proteins”, underscore the involvement of CCNK-associated genes in essential cellular mechanisms. Notably, pathways with the most significant enrichment, indicated by darker regions on the map, highlight the pivotal role of CCNK in transcriptional regulation, RNA metabolism, and protein processing within cellular functions and disease pathology (Figure 5A).

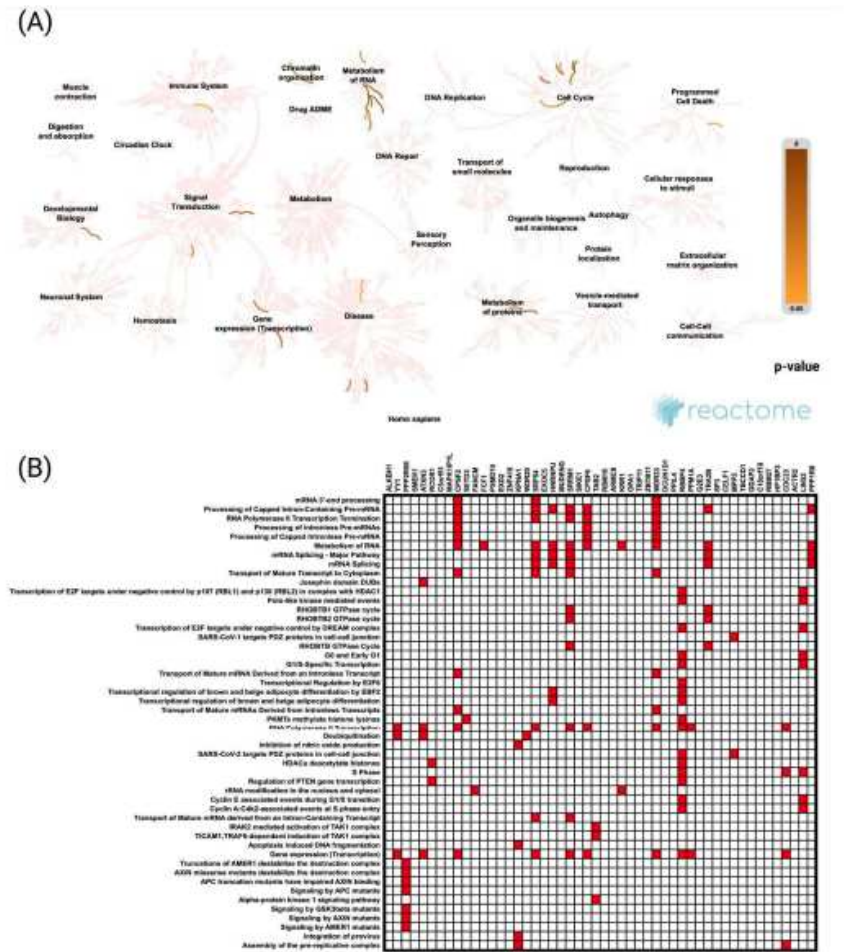


Figure 5. Functional enrichment analysis based on the TCGA dataset and UALCAN web tool. The top 50 genes and reactome pathways positively correlated with CCNK expression (A,B).

Further analysis revealed that co-upregulated genes were predominantly enriched in processes such as “mRNA 3′-end processing”, “Processing of capped intron-containing pre-mRNA”, “RNA Polymerase II transcription termination”, “Processing of intronless pre-mRNAs”, and “Processing of capped intronless pre-mRNA” (Figure 5B).

The protein–protein interaction (PPI) networks for genes positively correlated with CCNK were constructed using STRING and Cytoscape. The analysis identified 50 nodes connected by 487 edges, indicating strong enrichment (PPI enrichment p -value $< 1.0 \times 10^{-16}$) with a local clustering coefficient of 0.568. In the PPI network (Figure 6A), genes strongly interacting with CCNK were identified, forming a densely connected network. Using the Cytoscape plugin cytoHubba, hub genes were ranked based on their degree of interaction. The top hub genes in this network are highlighted in red, indicating their higher connectivity and importance. Figure 6B focuses on the top-ranked hub genes within the CCNK-correlated network, where *HSP90AA1* and *POLR2B* achieved the highest scores. These hub genes may play critical roles in the regulatory pathways associated with CCNK and warrant further investigation for their functional relevance in endometrial cancer progression.

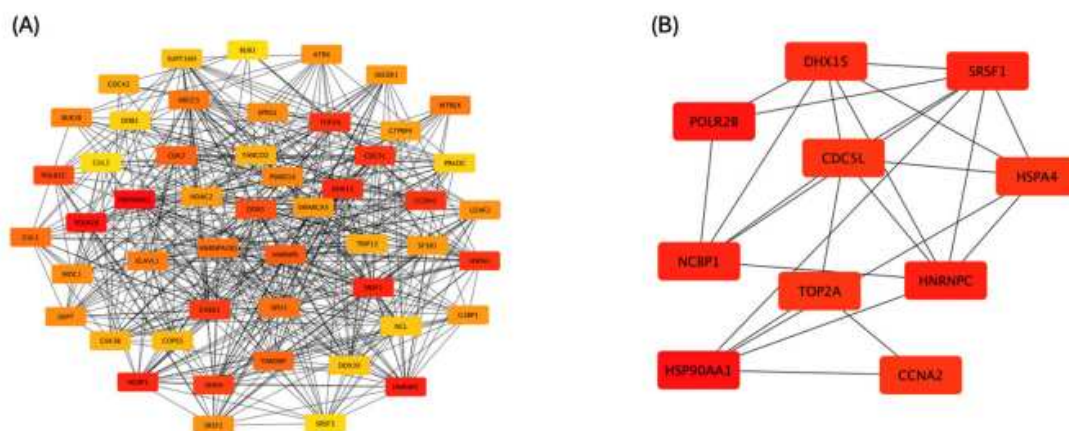


Figure 6. Protein–protein interaction network for genes positively associated with CCNK. (A) illustrates the interaction network of the top 50 genes exhibiting positive correlation with CCNK. Each gene in the network is represented by a node, with its connectivity degree indicated by its color intensity. (B) emphasizes the top 10 hub genes within the CCNK-correlated network, identified using the CytoHubba plugin in Cytoscape. These hub genes are displayed using a gradient from red to yellow, where a deeper red signifies higher connectivity and greater functional enrichment.

GO functional enrichment analysis was performed on genes coexpressed with CCNK, focusing on their involvement in biological processes, cellular components, and molecular functions. Using the DAVID tool, the analysis identified the most significantly enriched ontology terms in each category. For biological processes, the top enriched terms included GO:0006355 (regulation of DNA-templated transcription), GO:0006357 (regulation of transcription by RNA polymerase II), and GO:0051301 (cell division) (Figure 7A). Additional processes such as chromatin remodeling (GO:0006338), DNA repair (GO:0006281), and protein transport (GO:0015031) were also highly represented. In terms of cellular components, the most enriched terms were GO:0005654 (nucleoplasm), GO:0005634 (nucleus), and GO:0005829 (cytosol) (Figure 7B). Other enriched components included centrosome (GO:0005813), nuclear speck (GO:0016604), and chromosome (GO:0005694). For molecular functions, the top enriched terms included GO:0005515 (protein binding), GO:0003723 (RNA binding), and GO:0046872 (metal ion binding) (Figure 7C). Additional functions such

as DNA binding (GO:0003677), RNA polymerase II cis-regulatory region sequence-specific DNA binding (GO:0000978), and ATP hydrolysis activity (GO:0016887) were also prominent. These results highlight the significant roles of *CCNK* and its coexpressed genes in transcription regulation, cellular structural organization, and molecular interactions critical for cellular processes.

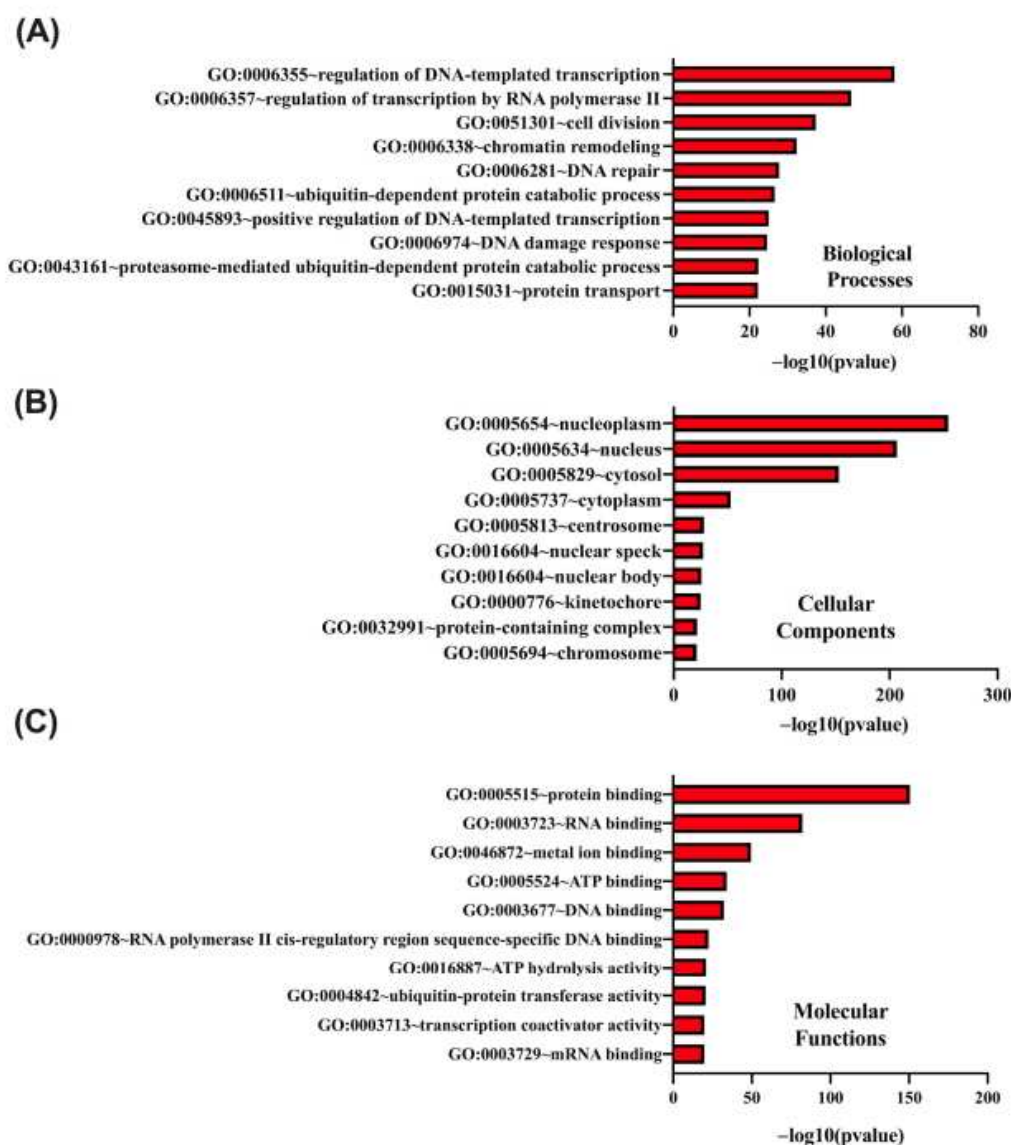


Figure 7. DAVID functional Gene Ontology (GO) analysis of genes co-upregulated with *CCNK*, categorized into BP (A), CC (B), and MF (C). The top 10 GO terms are shown for each category, with p -values calculated and ranked based on $-\log_{10}(p\text{-value})$.

3.6. Correlation of *CCNK* mRNA Expression with Survival

The analysis of *CCNK* mRNA expression, using a cut-off value of 11.25, investigated its prognostic relevance for OS in patients with EC. Kaplan–Meier survival analysis demonstrated a statistically significant association between *CCNK* mRNA expression and OS

in the overall EC cohort ($p = 0.008$; Figure 8A). However, no significant correlation was observed in patients with endometrioid endometrial carcinoma ($p = 0.29$; Figure 8B) or non-endometrioid endometrial carcinoma ($p = 0.07$; Figure 8C). Nevertheless, across all subgroups, elevated CCNK mRNA expression was consistently associated with a trend toward poorer survival outcomes.

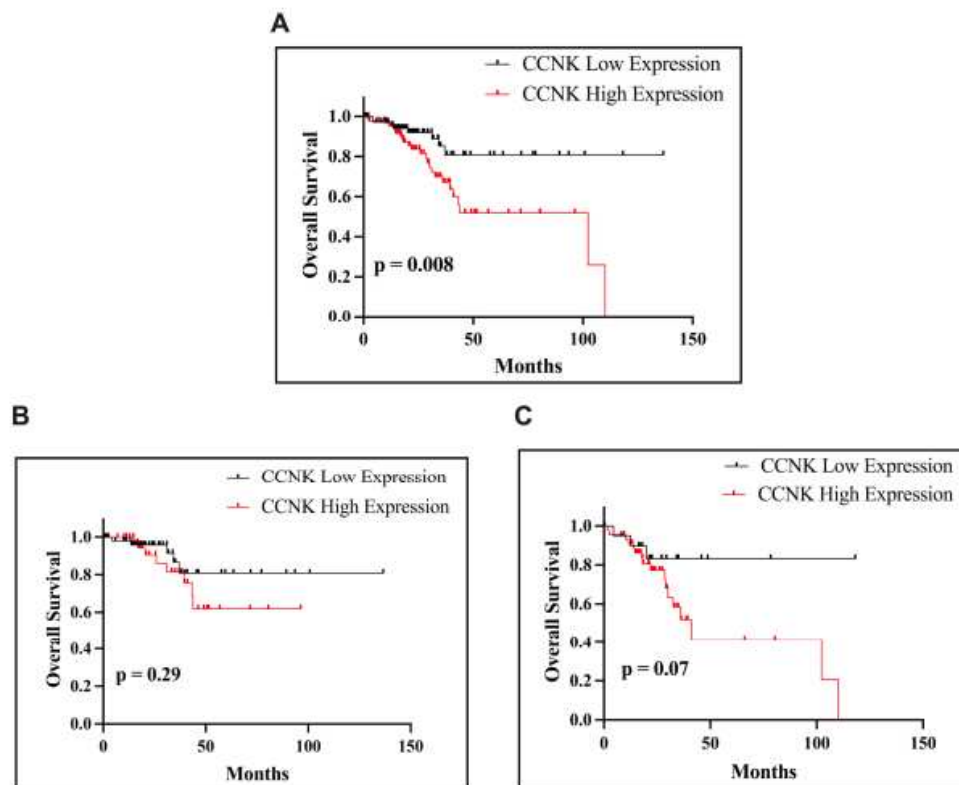


Figure 8. Kaplan–Meier survival curves presenting OS of patients with EC based on CCNK expression. OS according to CCNK mRNA expression in all patients with EC (A). OS of patients with endometrioid subtype based on CCNK mRNA expression (B). OS of patients with non-endometrioid subtype based on CCNK mRNA expression (C). The p -values, calculated using the log-rank test, indicate significant differences in survival between groups with low and high CCNK expression.

4. Discussion

Our study's findings highlight the possible significance of CCNK as a prognostic biomarker for EC. We found significant correlations between CCNK expression levels and clinicopathological parameters and OS outcomes in patients with EC using a combination of IHC analyses and in silico methodologies that leveraged data from TCGA. These results further support the potential usefulness of CCNK in clinical and therapeutic applications by offering fresh insights into its possible roles in the pathophysiology and progression of EC. To the best of our knowledge, this is the first study evaluating the expression of the CCNK protein in endometrial cancer of the uterine corpus. Given the limited availability of studies on CCNK in endometrial cancer, we compare our findings with data from other cancers, such as lung adenocarcinoma, to gain a more comprehensive understanding of the role of CCNK at both the mRNA and protein levels in tumor progression. The literature

data indicate the significant role of cyclin K in the regulation of transcription and control of the cell cycle. Oncogenic activity based on the expression level of the CCNK protein is still poorly understood and requires further research and analysis. Many authors emphasize that cyclin K actively participates in controlling cell proliferation and apoptosis, influencing the development and progression of malignant tumors [23]. To date, the CCNK protein has been studied as a potential biomarker among tumors associated with non-small-cell lung cancer [15,24], the prostate gland [25], the testis [26], and the hematopoietic system [27].

In our study, the nuclear expression of CCNK was observed in endometrial cancer, while no expression was detected in normal endometrial tissue. This is consistent with observations made by other authors who demonstrated that cyclin interacting with CDK9 forms various nuclear complexes and functions as a transcription-regulating factor [28]. In turn, Żuryń et al., in their studies on a non-small-cell lung cancer cell line, demonstrated that the CCNK protein is a newly identified regulator of the Wnt/ β -catenin signaling pathway, responsible for the translocation of β -catenin from the nucleus to the cytoplasm, thereby influencing the progression of lung cancer [15,24]. Among studies on cyclin K, the studies by Yao et al., conducted both in vivo and in vitro, deserve special attention. They demonstrated that cyclin K overexpression correlates with poor prognosis in patients with lung cancer. Furthermore, reduced cyclin K expression was shown to decrease proliferation and increase sensitivity to radiation in lung cancer [15]. Lei et al., while analyzing CCNK expression, highlighted its low levels in non-proliferative tissues, which is consistent with the observations in the present study regarding the control group [16]. In turn, Xiang et al. reported the presence of CCNK in normal testicular tissue [26].

Our results revealed that CCNK is significantly overexpressed in EC tissues compared to normal endometrial tissue. Immunohistochemical analysis identified high CCNK expression in 79.69% of EC cases, with a notable correlation with advanced pathological T stage (pT status) and FIGO classification. Interestingly, in both patients with non-endometrioid subtypes and the entire EC cohort, higher CCNK immunohistochemical expression was linked to worse OS. High CCNK expression is associated with poorer survival in all patients with EC and is particularly relevant in the non-endometrioid subtype, where it may contribute to tumor aggressiveness. However, its role in endometrioid EC appears less significant, reflecting the biological and clinical heterogeneity of endometrial cancer. These findings suggest that CCNK's prognostic impact varies by histological subtype and that it may hold the most promise as a biomarker and therapeutic target in non-endometrioid EC. The findings demonstrated that poor clinical outcomes are associated with high CCNK expression, which is prevalent in endometrial cancer tissues. These results align with earlier research showing that abnormal cyclin expression is frequently linked to the advancement of cancer. Similarly, Yao et al.'s [15] immunohistochemical analysis of lung adenocarcinoma revealed that tumor tissues had significantly higher levels of CCNK protein than nearby normal tissues. Because lower OS was correlated with higher CCNK levels ($p < 0.05$), this overexpression was also linked to a poor prognosis. These similar immunohistochemical results in the two tumors highlight how CCNK promotes tumor growth in an oncogenic manner. The oncogenic role of CCNK is further supported by additional research on breast cancer. In contrast to early-stage lesions like adenosis and fibroadenomas, Lei et al. showed that cyclin K is markedly overexpressed in late-stage invasive ductal and lobular breast carcinomas. One large cohort's immunohistochemical analyses showed a strong correlation between advanced tumor stages and poor OS and high cyclin K expression. With frequencies ranging from 15% to 40%, cyclin K overexpression was seen in a variety of cancer types, which is consistent with its function in promoting tumorigenesis. Additionally, elevated levels of cyclin K were associated with a lower chance of patient survival [16].

The analysis of CCNK mRNA expression in endometrial cancer using the Mann–Whitney test in our study revealed subtype-specific patterns. There were no discernible variations in CCNK mRNA expression between tumor tissues and nearby normal tissues in the entire EC cohort ($p = 0.3114$) or the eEAC subtype ($p = 0.8112$), suggesting that these groups exhibited consistent expression patterns. On the other hand, CCNK mRNA expression was considerably higher in tumor tissues in nEAC than in nearby normal tissues ($p = 0.0445$). This discovery raises the possibility that CCNK has a unique function in the development of nEAC, a more violent form of EC. Furthermore, these outcomes are consistent with our immunohistochemistry data, which showed that higher levels of CCNK expression were associated with worse survival outcomes, especially in instances that were non-endometrioid. It is interesting to note that these results are consistent with those of Yao et al., who showed that CCNK interacts with important signaling pathways to play a major role in the advancement of cancer. They found that cyclin K interacts with β -catenin to stabilize its protein levels and stimulate the expression of cyclin D1, a gene essential for DNA repair and cell cycle advancement. Cyclin K's oncogenic significance and importance as a possible biomarker for tumor development and treatment resistance were supported by their investigation, which showed that it is overexpressed in lung cancer tissues and linked to a poor prognosis [15]. Our results broaden our knowledge by suggesting that transcriptional control and cellular homeostasis mechanisms may also be involved in tumor aggressiveness due to elevated CCNK expression in nEAC. Although Yao et al. discovered that cyclin K controls the β -catenin/cyclin D1 axis as a significant mechanism in lung cancer, more investigation is needed to ascertain whether the distinct role of CCNK in nEAC is due to similar molecular connections. Such research could shed light on the processes behind the aggressive behavior and poor clinical outcomes of this subtype. Another study conducted by Żuryń et al. examined the expression of proteins, including CCNK, in NSCLC cells subjected to treatment with sulforaphane (SFN). Using immunofluorescence, flow cytometry, Western blot, and qRT-PCR techniques, the researchers discovered that SFN led to an increase in CCNK expression, which was found to be localized within the nucleus. The cell cycle arrest induced by SFN resulted in a decrease in cyclin B1 levels, while levels of cyclin D1 and CCNK were found to increase. Elevated levels of CDK12 and CDK13, which form complexes with CCNK, were also associated with worse OS outcomes in patients with adenocarcinoma [24].

Our results indicate that the genes most strongly positively correlated with CCNK were ALKBH1 and YY1, both of which are involved in transcriptional regulation, chromatin remodeling, and DNA repair. Functional enrichment analysis demonstrates that CCNK and the genes with which it is associated play roles in RNA metabolism, the regulation of transcription by RNA polymerase II, and chromatin organization, among other key biological processes. In order to ensure appropriate gene expression and genomic stability, these results are consistent with the function of cyclin K–CDK12/13 complexes, which phosphorylate the carboxy-terminal domain (CTD) of RNA polymerase II and control transcription elongation and RNA processing [9,29]. Based on these findings, CCNK functions as a regulatory hub for maintaining cellular homeostasis, and its dysregulation may encourage carcinogenesis by disrupting these pathways. Pathway analysis revealed enriched biological processes, including mRNA processing, protein transport, and RNA polymerase II transcription termination. These pathways are crucial for maintaining genomic integrity and cellular function, both of which are commonly impaired in cancer. The idea that CCNK dysregulation may result in oncogenesis is further supported by cyclin K–CDK12/13 complexes, which are essential for these processes because they facilitate the expression of DNA damage response genes and enhance RNA stability [9,30]. Notably, the analysis of the protein–protein interaction (PPI) network highlighted the significance of

HSP90AA1 and POLR2B, verifying the function of CCNK in influencing transcriptional activities and aiding tumor development by stabilizing oncogenic transcriptional complexes and regulating essential stress-response pathways for cancer cell survival. Supporting this, other scientific reports identify HSP90 as a promising therapeutic target, underlining its crucial role in preserving the stability of oncogenic proteins and its involvement in the pathways that promote tumorigenesis [31,32].

5. Conclusions

Studies suggest that CCNK may play a significant role in the progression and prognosis of EC. Our findings also indicate this, particularly in non-endometrioid subtypes and overall EC cases. Increased CCNK expression is correlated with advanced pathological features and poorer survival outcomes, underlining its potential as a prognostic biomarker and therapeutic target. These findings illustrate the importance of CCNK in key cellular processes such as transcriptional regulation, RNA metabolism, and chromatin organization, indicating its fundamental role in tumor biology. Pathway enrichment and protein interaction analyses further support the idea that CCNK plays a key role as a regulatory hub in these processes. The combination of immunohistochemical data with *in silico* analyses in this study offers a comprehensive picture of the functional significance of CCNK. Additionally, future research should explore its role in tumor progression and evaluate its potential as a prognostic biomarker, particularly in the context of disease stratification and treatment selection. CCNK expression should also be further examined in the context of its predictive value for treatment response, particularly in patients undergoing chemotherapy or targeted therapies. Identifying its interaction with other molecular markers could help develop combination strategies to improve patient outcomes.

Author Contributions: Conceptualization: M.G., P.A. and M.S.; writing—original draft preparation: M.S., K.B. and D.J.; formal analysis: M.S., K.B. and D.J.; visualization: K.B., D.J. and M.S.; staining evaluation: M.S. and P.A.; investigation: M.S., K.B., D.J. and P.A.; methodology: M.G. and P.A.; project administration: M.G.; writing—review and editing: P.A. and M.G.; funding acquisition: M.G. 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 Institutional Ethics Committee of Nicolaus Copernicus University in Toruń, Collegium Medicum in Bydgoszcz (KB/87/2020; approval date: 25 February 2020).

Informed Consent Statement: Patient consent was waived due to the retrospective nature of the study. The requirement for informed consent was waived by the Institutional Ethics Committee of Nicolaus Copernicus University in Toruń, Collegium Medicum in Bydgoszcz.

Data Availability Statement: Publicly available datasets were analyzed in this study. These data can be found here: <https://ualcan.path.uab.edu/cgi-bin/TCGAExCorrel.pl?genenam=CCNK&cancer=UCEC> (accessed on 2 November 2024); <https://xenabrowser.net> (accessed on 5 October 2024). Our own data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to ethical restrictions.

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

References

- Galant, N.; Krawczyk, P.; Monist, M.; Obara, A.; Gajek, Ł.; Grenda, A.; Nicoś, M.; Kalinka, E.; Milanowski, J. Molecular Classification of Endometrial Cancer and Its Impact on Therapy Selection. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 5893. [CrossRef] [PubMed]
- Yang, Y.; Wu, S.F.; Bao, W. Molecular Subtypes of Endometrial Cancer: Implications for Adjuvant Treatment Strategies. *Int. J. Gynecol. Obstet.* **2024**, *164*, 436–459. [CrossRef] [PubMed]

3. Giannone, G.; Tuninetti, V.; Ghisoni, E.; Genta, S.; Scotto, G.; Mittica, G.; Valabrega, G. Role of Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors in Endometrial Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 2353. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Bogani, G.; Monk, B.J.; Powell, M.A.; Westin, S.N.; Slomovitz, B.; Moore, K.N.; Eskander, R.N.; Raspagliesi, F.; Barretina-Ginesta, M.-P.; Colombo, N.; et al. Adding Immunotherapy to First-Line Treatment of Advanced and Metastatic Endometrial Cancer. *Ann. Oncol.* **2024**, *35*, 414–428. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Han, K.H.; Park, N.; Lee, M.; Lee, C.; Kim, H. The New 2023 FIGO Staging System for Endometrial Cancer: What Is Different from the Previous 2009 FIGO Staging System? *J. Gynecol. Oncol.* **2024**, *35*, e59. [\[CrossRef\]](#)
6. Salmon, A.; Lebeau, A.; Streel, S.; Dheur, A.; Schoenen, S.; Goffin, F.; Gonne, E.; Kridelka, F.; Kakkos, A.; Gennigens, C. Locally Advanced and Metastatic Endometrial Cancer: Current and Emerging Therapies. *Cancer Treat. Rev.* **2024**, *129*, 102790. [\[CrossRef\]](#)
7. Goel, S.; Bergholz, J.S.; Zhao, J.J. Targeting Cyclin-Dependent Kinases 4 and 6 in Cancer. *Nat. Rev. Cancer* **2022**, *22*, 356–372. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Ding, L.; Cao, J.; Lin, W.; Chen, H.; Xiong, X.; Ao, H.; Yu, M.; Lin, J.; Cui, Q. The Roles of Cyclin-Dependent Kinases in Cell-Cycle Progression and Therapeutic Strategies in Human Breast Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 1960. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. Xiao, Y.; Dong, J. Coming of Age: Targeting Cyclin K in Cancers. *Cells* **2023**, *12*, 2044. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
10. Thomas, K.L.; Bouguenina, H.; Miller, D.S.J.; Sialana, F.J.; Hayhow, T.G.; Choudhary, J.S.; Rossanese, O.W.; Bellenie, B.R. Degradation by Design: New Cyclin K Degradors from Old CDK Inhibitors. *ACS Chem. Biol.* **2024**, *19*, 173–184. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
11. Lv, L.; Chen, P.; Cao, L.; Li, Y.; Zeng, Z.; Cui, Y.; Wu, Q.; Li, J.; Wang, J.-H.; Dong, M.-Q.; et al. Discovery of a Molecular Glue Promoting CDK12-DBB1 Interaction to Trigger Cyclin K Degradation. *eLife* **2020**, *9*, e59994. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Fan, Y.; Yin, W.; Hu, B.; Kline, A.D.; Zhang, V.W.; Liang, D.; Sun, Y.; Wang, L.; Tang, S.; Powis, Z.; et al. De Novo Mutations of CCNK Cause a Syndromic Neurodevelopmental Disorder with Distinctive Facial Dysmorphism. *Am. J. Hum. Genet.* **2018**, *103*, 448–455. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Sun, R.; Wei, T.; Ding, D.; Zhang, J.; Chen, S.; He, H.H.; Wang, L.; Huang, H. CYCLIN K Down-Regulation Induces Androgen Receptor Gene Intronic Polyadenylation, Variant Expression and PARP Inhibitor Vulnerability in Castration-Resistant Prostate Cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2022**, *119*, e2205509119. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Xiao, Y.; Dong, J.; Chen, Y. Abstract 3932: Targeting Cyclin K in Pancreatic Cancer. *Cancer Res.* **2023**, *83*, 3932. [\[CrossRef\]](#)
15. Yao, G.; Tang, J.; Yang, X.; Zhao, Y.; Zhou, R.; Meng, R.; Zhang, S.; Dong, X.; Zhang, T.; Yang, K.; et al. Cyclin K Interacts with β -Catenin to Induce Cyclin D1 Expression and Facilitates Tumorigenesis and Radioresistance in Lung Cancer. *Theranostics* **2020**, *10*, 11144–11158. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Lei, T.; Zhang, P.; Zhang, X.; Xiao, X.; Zhang, J.; Qiu, T.; Dai, Q.; Zhang, Y.; Min, L.; Li, Q.; et al. Cyclin K Regulates Prereplicative Complex Assembly to Promote Mammalian Cell Proliferation. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 1876. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Gu, X.; Shen, H.; Bai, W.; Xiang, Z.; Li, X.; Zhang, R.; Shi, F.; Li, H.; Zhu, G.; Guo, S. Endometrial Cancer Prognosis Prediction Using Correlation Models Based on CDK Family Genes. *Front. Genet.* **2022**, *13*, 1021600. [\[CrossRef\]](#)
18. Pitolli, C.; Marini, A.; Sette, C.; Pagliarini, V. Physiological and Pathological Roles of the Transcriptional Kinases CDK12 and CDK13 in the Central Nervous System. *Cell Death Differ.* **2024**, 1–11. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Pellarin, I.; Dall'Acqua, A.; Favero, A.; Segatto, I.; Rossi, V.; Crestan, N.; Karimbayli, J.; Belletti, B.; Baldassarre, G. Cyclin-Dependent Protein Kinases and Cell Cycle Regulation in Biology and Disease. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2025**, *10*, 11. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
20. Insko, M.L.; Abraham, B.J.; Dubbury, S.J.; Kaltheuner, I.H.; Dust, S.; Wu, C.; Chen, K.Y.; Liu, D.; Bellaousov, S.; Cox, A.M.; et al. Oncogenic CDK13 Mutations Impede Nuclear RNA Surveillance. *Science* **2023**, *380*, eabn7625. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. Houles, T.; Boucher, J.; Lavoie, G.; MacLeod, G.; Lin, S.; Angers, S.; Roux, P.P. The CDK12 Inhibitor SR-4835 Functions as a Molecular Glue That Promotes Cyclin K Degradation in Melanoma. *Cell Death Discov.* **2023**, *9*, 459. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Ogłuszka, M.; Orzechowska, M.; Jędraszka, D.; Witas, P.; Bednarek, A.K. Evaluate Cutpoints: Adaptable Continuous Data Distribution System for Determining Survival in Kaplan-Meier Estimator. *Comput. Methods Programs Biomed.* **2019**, *177*, 133–139. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Yoshioka, H.; Noguchi, K.; Katayama, K.; Mitsunashi, J.; Yamagoe, S.; Fujimuro, M.; Sugimoto, Y. Functional Availability of γ -Herpesvirus K-Cyclin Is Regulated by Cellular CDK6 and p16INK4a. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2010**, *394*, 1000–1005. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Żuryń, A.; Krajewski, A.; Klimaszewska-Wiśniewska, A.; Grzanka, A.; Grzanka, D. Expression of Cyclin B1, D1 and K in Non-small Cell Lung Cancer H1299 Cells Following Treatment with Sulforaphane. *Oncol. Rep.* **2019**, *41*, 1313–1323. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Schecher, S.; Walter, B.; Falkenstein, M.; Macher-Goeppinger, S.; Stenzel, P.; Krümpelmann, K.; Hadaschik, B.; Perner, S.; Kristiansen, G.; Duensing, S.; et al. Cyclin K Dependent Regulation of Aurora B Affects Apoptosis and Proliferation by Induction of Mitotic Catastrophe in Prostate Cancer. *Int. J. Cancer* **2017**, *141*, 1643–1653. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

26. Xiang, X.; Deng, L.; Zhang, J.; Zhang, X.; Lei, T.; Luan, G.; Yang, C.; Xiao, Z.-X.; Li, Q.; Li, Q. A Distinct Expression Pattern of Cyclin K in Mammalian Testes Suggests a Functional Role in Spermatogenesis. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e101539. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Marsaud, V.; Tchakarska, G.; Andrieux, G.; Liu, J.-M.; Dembele, D.; Jost, B.; Wdzieczak-Bakala, J.; Renoit, J.-M.; Sola, B. Cyclin K and Cyclin D1b Are Oncogenic in Myeloma Cells. *Mol. Cancer* **2010**, *9*, 103. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Baek, K.; Brown, R.S.; Birrane, G.; Ladias, J.A.A. Crystal Structure of Human Cyclin K, a Positive Regulator of Cyclin-Dependent Kinase 9. *J. Mol. Biol.* **2007**, *366*, 563–573. [[CrossRef](#)]
29. Edwards, M.C.; Wong, C.; Elledge, S.J. Human Cyclin K, a Novel RNA Polymerase II-Associated Cyclin Possessing Both Carboxy-Terminal Domain Kinase and Cdk-Activating Kinase Activity. *Mol. Cell. Biol.* **1998**, *18*, 4291–4300. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Qiu, M.; Yin, Z.; Wang, H.; Lei, L.; Li, C.; Cui, Y.; Dai, R.; Yang, P.; Xiang, Y.; Li, Q.; et al. CDK12 and Integrator-PP2A Complex Modulates LEO1 Phosphorylation for Processive Transcription Elongation. *Sci. Adv.* **2023**, *9*, eadf8698. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Birbo, B.; Madu, E.E.; Madu, C.O.; Jain, A.; Lu, Y. Role of HSP90 in Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 10317. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Specchia, V.; Bozzetti, M.P. The Role of HSP90 in Preserving the Integrity of Genomes Against Transposons Is Evolutionarily Conserved. *Cells* **2021**, *10*, 1096. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

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.

12.2. Pisemne oświadczenia współautorów dotyczące ich indywidualnego wkładu w powstanie prac wchodzących w skład cyklu publikacji stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora

Toruń, dnia 7.04.2025 r.

lek. Marcin Szymański

.....
(tytuł, stopień, imię i nazwisko kandydata/współautora)

.....
(jednostka zatrudniająca kandydat/współautora)

**Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Szymański M, Jerka D, Bonowicz K, Antosik P, Gagat M. Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study. Int J Mol Sci. 2025 Jan 22;26(3):890. doi: 10.3390/ijms26030890. mój udział polegał na współuczestnictwie w opracowaniu koncepcji badania, udziale w badaniach, ocenie barwień, analizie danych, wizualizacji wyników, przygotowaniu oryginalnej wersji manuskryptu.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 50%.

.....

(podpis)

Toruń, dnia 7.04.2025 r.

lek. Marcin Szymański

.....
(tytuł, stopień, imię i nazwisko kandydata/współautora)

.....
(jednostka zatrudniająca kandydata/współautora)

**Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Szymański M, Bonowicz K, Jerka D, Gagat M, Antosik P. Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis. Cancers (Basel). 2025 Feb 25;17(5):792. doi: 10.3390/cancers17050792. mój udział polegał na współuczestnictwie w opracowaniu koncepcji badania, udziale w badaniach, ocenie barwień, analizie danych, wizualizacji wyników, przygotowaniu oryginalnej wersji manuskryptu.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 50%.


.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO”, informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
 - a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
 - b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
 - do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
 - na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
 - na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczystie,
 - na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
 - a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
 - b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowany ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD”, dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.



Toruń, dnia 7.04.2025 r.

mgr Dominika Jerka

.....
(tytuł, stopień, imię i nazwisko kandydata/współautora)

**Katedra Histologii i Embriologii
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

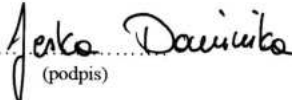
.....
(jednostka zatrudniająca kandydat/współautora)

**Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Szymański M, Jerka D, Bonowicz K, Antosik P, Gagat M. Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study. Int J Mol Sci. 2025 Jan 22;26(3):890. doi: 10.3390/ijms26030890. mój udział polegał na współuczestnictwie w badaniach, analizie danych, wizualizacji wyników, przygotowaniu oryginalnej wersji manuskryptu.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 20%.


.....
(podpis)

Toruń, dnia 7.04.2025 r.

mgr Dominika Jerka

.....
(tytuł, stopień, imię i nazwisko kandydata/współautora)

**Katedra Histologii i Embriologii
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

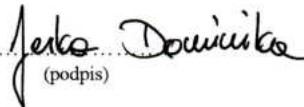
.....
(jednostka zatrudniająca kandydat/współautora)

**Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Szymański M, Bonowicz K, Jerka D, Gagat M, Antosik P. Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis. Cancers (Basel). 2025 Feb 25;17(5):792. doi: 10.3390/cancers17050792. mój udział polegał na współuczestnictwie w badaniach, analizie danych, wizualizacji wyników, przygotowaniu oryginalnej wersji manuskryptu.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 20%.

.....

(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO”, informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
 - a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
 - b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
 - do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
 - na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
 - na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczysto,
 - na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
 - a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
 - b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowany ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD”, dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Jerko Dominiato

Toruń, dnia 7.04.2025 r.

mgr Klaudia Bonowicz

.....
(tytuł, stopień, imię i nazwisko kandydata/współautora)

**Katedra Histologii i Embriologii
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

.....
(jednostka zatrudniająca kandydat/współautora)

**Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Szymański M, Jerka D, Bonowicz K, Antosik P, Gagat M. Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study. Int J Mol Sci. 2025 Jan 22;26(3):890. doi: 10.3390/ijms26030890. mój udział polegał na współuczestnictwie w badaniach, analizie danych, wizualizacji wyników, przygotowaniu oryginalnej wersji manuskryptu.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 20%.


.....
(podpis)

Toruń, dnia 7.04.2025 r.

mgr Klaudia Bonowicz

.....
(tytuł, stopień, imię i nazwisko kandydata/współautora)

**Katedra Histologii i Embriologii
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

.....
(jednostka zatrudniająca kandydat/współautora)

**Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Szymański M, Bonowicz K, Jerka D, Gagat M, Antosik P. Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis. Cancers (Basel). 2025 Feb 25;17(5):792. doi: 10.3390/cancers17050792. mój udział polegał na współuczestnictwie w badaniach, analizie danych, wizualizacji wyników, przygotowaniu oryginalnej wersji manuskryptu.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 20%.

Klaudia Bonowicz
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO”, informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
 - a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
 - b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
 - do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
 - na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
 - na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wiecześnie,
 - na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
 - a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
 - b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowany ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD”, dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Klaudia Banasiuk

Toruń, dnia 7.04.2025 r.

dr Paulina Antosik

.....
(tytuł, stopień, imię i nazwisko kandydata/współautora)

**Katedra Dermatologii i Wenerologii
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

.....
(jednostka zatrudniająca kandydat/współautora)

**Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Szymański M, Jerka D, Bonowicz K, Antosik P, Gagat M. Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study. Int J Mol Sci. 2025 Jan 22;26(3):890. doi: 10.3390/ijms26030890. mój udział polegał na współuczestnictwie w opracowaniu koncepcji badania, opracowaniu metodologii, udziale w badaniach, ocenie barwień oraz redakcji i korekcie manuskryptu.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 5%.


.....
(podpis)

Toruń, dnia 7.04.2025 r.

dr Paulina Antosik

.....
(tytuł, stopień, imię i nazwisko kandydata/współautora)

**Katedra Dermatologii i Wenerologii
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

.....
(jednostka zatrudniająca kandydat/współautora)

**Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Szymański M, Bonowicz K, Jerka D, Gagat M, Antosik P. Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis. Cancers (Basel). 2025 Feb 25;17(5):792. doi: 10.3390/cancers17050792. mój udział polegał na współuczestnictwie w opracowaniu koncepcji badania, opracowaniu metodologii, udziale w badaniach, ocenie barwień oraz redakcji i korekcie manuskryptu.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 5%.


.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO”, informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
 - a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
 - b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
 - do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
 - na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
 - na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
 - na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
 - a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
 - b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowany ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD”, dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

P. Amborh

Toruń, dnia 7.04.2025 r.

dr hab. Maciej Gagat, prof. UMK

.....
(tytuł, stopień, imię i nazwisko kandydata/współautora)

**Katedra Histologii i Embriologii
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

.....
(jednostka zatrudniająca kandydat/współautora)

**Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Szymański M, Jerka D, Bonowicz K, Antosik P, Gagat M. Assessment of Cyclin D1 Expression: Prognostic Value and Functional Insights in Endometrial Cancer: In Silico Study. Int J Mol Sci. 2025 Jan 22;26(3):890. doi: 10.3390/ijms26030890. mój udział polegał na współuczestnictwie w opracowaniu koncepcji badania, opracowaniu metodologii, zarządzaniu projektem, redakcji i korekcie manuskryptu oraz pozyskaniu finansowania.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 5%.

Kierownik
Katedry Histologii i Embriologii

dr hab. Maciej Gagat, prof. UMK
(podpis)

Toruń, dnia 7.04.2025 r.

dr hab. Maciej Gagat, prof. UMK

.....
(tytuł, stopień, imię i nazwisko kandydata/współautora)

**Katedra Histologii i Embriologii
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

.....
(jednostka zatrudniająca kandydat/współautora)

**Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Szymański M, Bonowicz K, Jerka D, Gagat M, Antosik P. Prognostic Evaluation and Functional Characterization of Cyclin K Expression in Endometrial Cancer: Immunohistochemical and In Silico Analysis. Cancers (Basel). 2025 Feb 25;17(5):792. doi: 10.3390/cancers17050792. mój udział polegał na współuczestnictwie w opracowaniu koncepcji badania, opracowaniu metodologii, zarządzaniu projektem, redakcji i korekcie manuskryptu oraz pozyskaniu finansowania.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 5%.

Kierownik
Katedry Histologii i Embriologii

dr hab. Maciej Gagat, prof. UMK
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO”, informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
 - a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
 - b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
 - do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
 - na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
 - na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczystie,
 - na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
 - a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
 - b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowany ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD”, dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Kierownik
Katedry Histologii i Embriologii

dr hab. Maciej Gagat, prof. UMK

12.3. Zgoda Komisji Bioetycznej

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im L. Rydygiera w Bydgoszczy
KOMISJA BIOETYCZNA

Ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel.(052) 585-35-63, fax.(052) 585-38-11

KB 87/2020

Bydgoszcz, 25.02.2020 r.

Działając na podstawie art. 29 Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 roku o zawodzie lekarza (Dz.U. z 1997 r. Nr 28 poz. 152 (wraz z późniejszymi zmianami), zarządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz.U.Nr 47 poz. 480) oraz Zarządzeniem Nr 21 Rektora UMK z dnia 4 marca 2009 r. z późn. zm. w sprawie powołania oraz zasad działania Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy oraz zgodnie z zasadami zawartymi w ICH – GCP

Komisja Bioetyczna przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy

(skład podano w załączeniu), na posiedzeniu w dniu **25.02.2020** r. przeanalizowała wniosek, który złożył kierownik badania:

dr hab. n. med. Dariusz Grzanka, prof. UMK
Katedra Patomorfologii Klinicznej
Collegium Medicum w Bydgoszczy

z zespołem w składzie

- **dr n. med. Maciej Gagat, dr n. med. Anna Klimaszewska-Wiśniewska, mgr Paulina Antosik, dr n. med. Paweł Sadlecki, lek. Paulina Sopońska-Brzozczyk, mgr Justyna Dursiewicz, mgr Joanna Ligmanowska, lek. Jakub Jóźwicki, lek. Marek Zdrenka, mgr Marta Smolińska,**

w sprawie badania:

„Ocena klinicznego znaczenia -wybranych białek o potencjalnej roli w patogenezie raka błony śluzowej trzonu macicy w grupie pacjentek leczonych operacyjnie.”

Po zapoznaniu się ze złożonym wnioskiem i w wyniku przeprowadzonej dyskusji oraz głosowania Komisja podjęła

Uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu wniosku

w sprawie przeprowadzenia badań, w zakresie określonym we wniosku pod warunkiem:

- w odniesieniu do części retrospektywnej badania:
- posiadania zgody osób badanych na wykorzystanie materiału biologicznego do celów naukowych, a w przypadku braku takiej zgody, analizowania jedynie materiału archiwalnego z okresu 2013-2018, zanonimizowanego tj. pozbawionego danych personalnych (zgodnie z RODO).
- w odniesieniu do części prospektywnej badania:
- poinformowania uczestników badania o celu oraz zakresie badań i uzyskania od nich (rodziców/opiekunów prawnych) osobnej, pisemnej, świadomej zgody na udział w badaniu, zgodnie z obowiązującymi przepisami, datowanej najpóźniej na moment rozpoczęcia badania a nie wcześniej niż data uzyskania z Komisji Bioetycznej zgody na takie badanie;
- zachowania tajemnicy wszystkich danych, w tym danych osobowych uczestników badania, umożliwiających ich identyfikację w ewentualnych publikacjach;

- sugerujemy uzyskanie podpisu uczestnika badania pod informacją o badaniu, lub sporządzenie formularza informacji i świadomej zgody na udział w badaniu na jednej kartce.

Jednocześnie informujemy, iż „Zgoda na udział w badaniu” winna zawierać m.in.: imię i nazwisko badanej osoby; Nr historii choroby pacjenta (L.ks.gł. Oddziału/Poradni) oraz datę i podpis badanej osoby (rodziców/opiekunów prawnych), a także klauzulę, że uczestnik badania wyraża zgodę na przetwarzanie danych osobowych dotyczących realizacji tematu badawczego, z wyjątkiem publikacji danych osobowych.

Kierownik badania zobowiązany jest do przechowywania wszystkich dokumentów dotyczących badania przez okres dwudziestu lat.

Zgoda obowiązuje od daty posiedzenia (25.02.2020 r.) do końca 2022 r.

Wydana opinia dotyczy tylko rozpatrywanego wniosku z uwzględnieniem przedstawionego projektu; każda zmiana i modyfikacja wymaga uzyskania odrębnej opinii. Wnioskodawca zobowiązany jest do informowania o wszelkich poprawkach, które mogłyby mieć wpływ na opinię Komisji oraz poinformowania o zakończeniu badania.

Od niniejszej uchwały podmiot zamierzający przeprowadzić eksperyment medyczny, kierownik zakładu opieki zdrowotnej, w której eksperyment medyczny ma być przeprowadzony, mogą wnieść odwołanie do Odwoławczej Komisji Bioetycznej przy Ministrze Zdrowia, za pośrednictwem Komisji Bioetycznej przy Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, w terminie 14 dni od daty otrzymania niniejszej Uchwały.

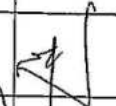
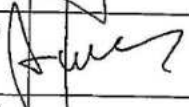
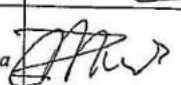
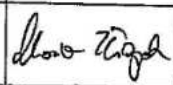
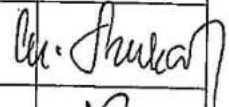
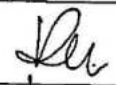
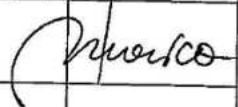
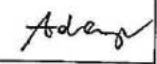
Prof. dr hab. med. Karol Śliwka

Przewodniczący Komisji Bioetycznej

Otrzymuje:

dr hab. n. med. Dariusz Grzanka, prof. UMK
Katedra Patomorfologii Klinicznej
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Lista obecności
na posiedzeniu Komisji Bioetycznej
w dniu 25.02.2020 r.

Lp.	Imię i nazwisko	Funkcja/ Specjalizacja	Podpis
1.	Prof. dr hab. med. Karol Śliwka	Przewodniczący medycyna sądowa	
2.	Mgr prawa Joanna Połetek-Żygas	Z – ca przewodniczącego prawniczka	
3.	Prof. dr hab. med. Mieczysława Czerwionka-Szaflarska	pediatra, alergologia i gastroenterologia dziecięca	
4.	Prof. dr hab. med. Anna Balcar-Boroń	pediatria, nefrologia	
5.	Prof. dr hab. med. Marek Grabiec	położnictwo, ginekologia onkologiczna	
6.	Prof. dr hab. med. Zbigniew Włodarczyk	chirurgia ogólna, transplantologia kliniczna	
7.	Dr hab. n. med. Katarzyna Pawlak-Osińska, prof. UMK	organizacja ochrony zdrowia, otolaryngologia	
8.	Dr hab. n. med. Maria Kłopocka, prof. UMK	choroby wewnętrzne, gastroenterologia	
9.	Ks. dr hab. Wojciech Szukański, prof. UAM	duchowny	
10.	Dr n. med. Radosława Staszak-Kowalska	pediatria, choroby płuc	
11.	Mgr prawa Patrycja Brzezicka	prawniczka	
12.	Mgr farm. Aleksandra Adamczyk	farmaceutka	
13.	Mgr Lidia Iwińska-Tarczykowska	pielęgniarska	

KB 87/2020

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Collegium Medicum im L. Rydygiera w Bydgoszczy

KOMISJA BIOETYCZNA

Ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel.(052) 585-35-63, fax.(052) 585-38-11

KB 87/2020

Bydgoszcz, 17.05.2022 r.

Działając na podstawie art. 29 ustawy z dnia 5.12.1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty Dz.U. z 1997 r. Nr 28 poz. 152 (wraz z późniejszymi zmianami), rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11.05.1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz.U. Nr 47 poz.480) oraz Zarządzenia Nr 21 Rektora UMK z dnia 4.03.2009 r. z późn. zm. w sprawie powołania oraz zasad działania Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy oraz zgodnie z zasadami zawartymi w DH i GCP

Komisja Bioetyczna przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy

(której skład podano w załączeniu) na posiedzeniu w dniu 17.05.2022 r. przeanalizowała prośbę o:

- przedłużenie terminu prowadzenia badań do końca 2025 roku
- poszerzenie zespołu badawczego o: Adrian Drużyński, Sara Szczepanek, Aleksandra Wybierała, Jonasz Podemski, Edyta Trybek, Alicja Kosińska.

którą złożył:

dr hab. n. med. Dariusz Grzanka, prof. UMK
Katedra Patomorfologii Klinicznej
Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu

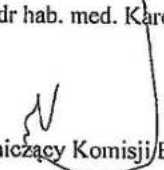
w sprawie badania:

„Ocena klinicznego znaczenia -wybranych białek o potencjalnej roli w patogenezie raka błony śluzowej trzonu macicy w grupie pacjentek leczonych operacyjnie”.

Po zapoznaniu się ze złożonym dokumentem i w wyniku przeprowadzonej dyskusji oraz głosowania jawnego Komisja przyjęła do wiadomości podane informacje i wyraża zgodę na powyższe pod warunkami określonymi w uchwale Komisji podjętej w dniu 25.02.2020 r. oraz w ewentualnych aneksach do tejże uchwały.

Zgoda na kontynuowanie przedmiotowego badania obowiązuje do końca 2025 r.

Prof. dr hab. med. Karol Śliwka


Przewodniczący Komisji Bioetycznej

Otrzymuje:

dr hab. n. med. Dariusz Grzanka, prof. UMK
Katedra Patomorfologii Klinicznej
Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im L. Rydygiera w Bydgoszczy

KOMISJA BIOETYCZNA

Ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel.(052) 585-35-63

KB 87/2020

Bydgoszcz, 22.08.2023 r.

Działając na podstawie art.29 ustawy z dnia 5.12.1996 r. o zawodzie lekarza (Dz.U. z 1997 r. Nr 28 poz. 152, wraz z późniejszymi zmianami), rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 26.01.2023r. w sprawie komisji bioetycznej oraz Odwoławczej Komisji Bioetycznej (Dz. U. 2023 poz. 218) oraz Zarządzenia nr 108 Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu z dnia 31 maja 2023r. w sprawie powołania komisji bioetycznej oraz zgodnie z zasadami zawartymi w DH i GCP.

Komisja Bioetyczna przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy

na posiedzeniu w dniu **22.08.2023 r.** przeanalizowała prośbę o:

- włączenie do badań następujących osób: mgr Laure Blonkowską, mgr Darię Piątkowską

którą złożył:

prof. dr hab. Dariusz Grzanka
Katedra Patomorfologii Klinicznej
Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu

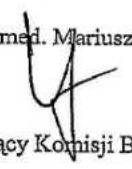
w sprawie badania:

„Ocena klinicznego znaczenia wybranych białek o potencjalnej roli w patogenezie raka błony śluzowej trzonu macicy w grupie pacjentek leczonych operacyjnie”.

Po zapoznaniu się ze złożonym dokumentem i w wyniku przeprowadzonej dyskusji oraz głosowania jawnego Komisja przyjęła do wiadomości podane informacje i wyraża zgodę na powyższe pod warunkami określonymi w uchwale Komisji podjętej w dniu 25.02.2020 r. oraz w ewentualnych aneksach do tejże uchwały.

Zgoda na kontynuowanie przedmiotowego badania obowiązuje do końca 2025 r.

Prof. dr hab. med. Mariusz Dubiel


Przewodniczący Komisji Bioetycznej

Otrzymuje:

prof. dr hab. Dariusz Grzanka
Katedra Patomorfologii Klinicznej
Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im L. Rydygiera w Bydgoszczy
KOMISJA BIOETYCZNA
Ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz,
tel.: (052) 585-35-63, e-mail: komisja.bioetyczna@cm.umk.pl

KB 87/2020

Bydgoszcz, 10.12.2024 r.

Działając na podstawie art. 29 ustawy z dnia 5.12.1996 r. o zawodzie lekarza (Dz. U. z 1997 r. Nr 28 poz. 152, wraz z późniejszymi zmianami), rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 26.01.2023 r. w sprawie komisji bioetycznej oraz Odwoławczej Komisji Bioetycznej (Dz. U. 2023 poz. 218) oraz Zarządzenia nr 173 Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu z dnia 30.09.2024 r. w sprawie powołania Komisji Bioetycznej oraz zgodnie z zasadami zawartymi w DH i ICH GCP.

Komisja Bioetyczna przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy

na posiedzeniu w dniu **10.12.2024 r.** przeanalizowała prośbę o:

- włączenie do zespołu badawczego następujących osób: lck. Marcina Szymańskiego, mgr Kaludę Bonowicz, mgr Dominika Jerka.

którą złożył:

prof. dr hab. Dariusz Grzanka
Katedra Patomorfologii Klinicznej
Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu

w sprawie badania:

„Ocena klinicznego znaczenia wybranych białek o potencjalnej roli w patogenezie raka błony śluzowej trzonu macicy w grupie pacjentek leczonych operacyjnie”.

Po zapoznaniu się ze złożonym dokumentem i w wyniku przeprowadzonej dyskusji oraz głosowania jawnego Komisja przyjęła do wiadomości podane informacje i wyraża zgodę na powyższe pod warunkami określonymi w uchwale Komisji podjętej w dniu 25.02.2020 r. oraz w ewentualnych aneksach do tejże uchwały.

Zgoda na kontynuowanie przedmiotowego badania obowiązuje do końca 2025 r.

Prof. dr hab. med. Grzegorz Grzešk


Przewodniczący Komisji Bioetycznej

Otrzymuje:

prof. dr hab. Dariusz Grzanka
Katedra Patomorfologii Klinicznej
Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu