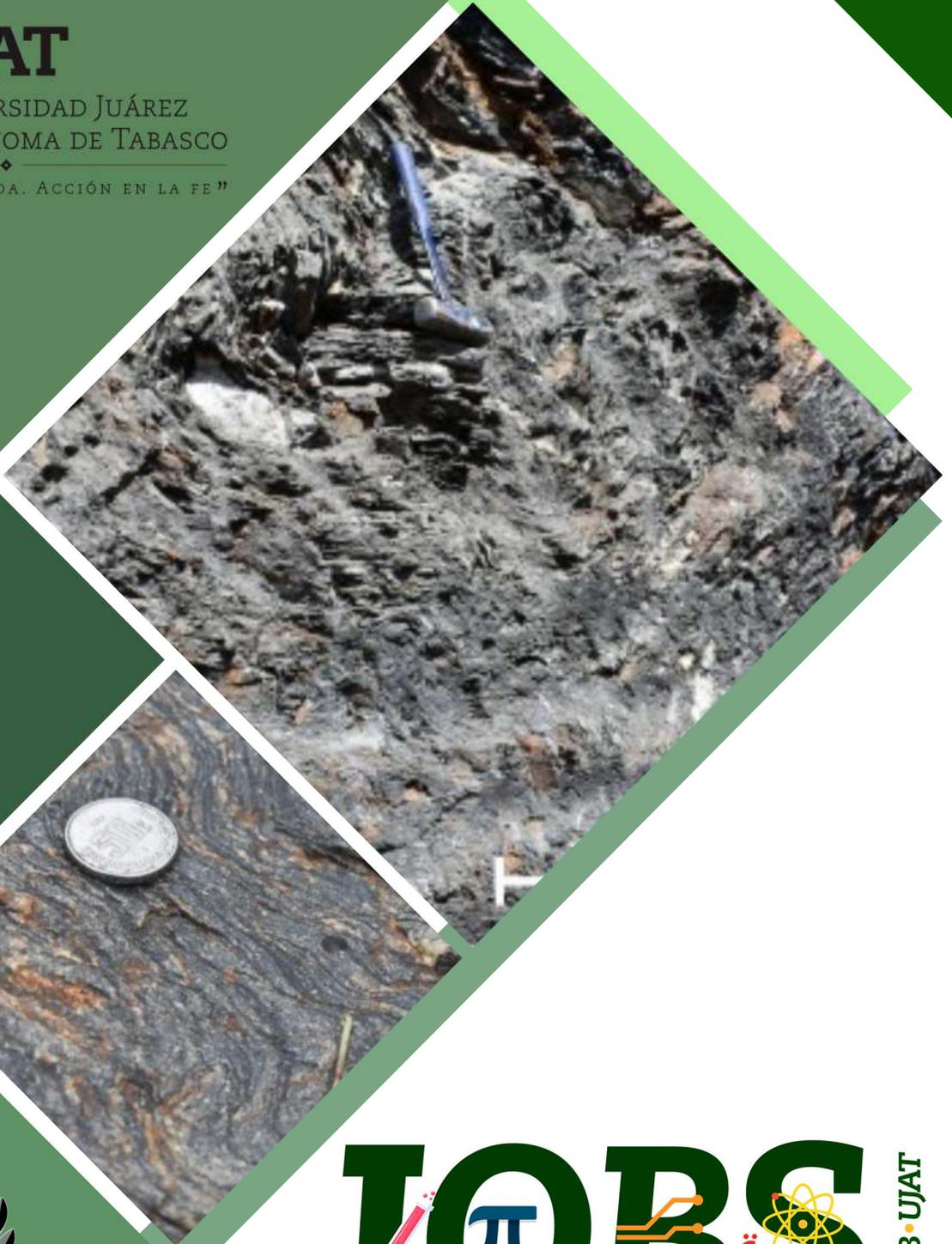




**UJAT**

UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”



# JOB $\pi$ BS

DACB • UJAT

## Journal of Basic Sciences

Volumen 10 • número 27 • enero-abril 2024

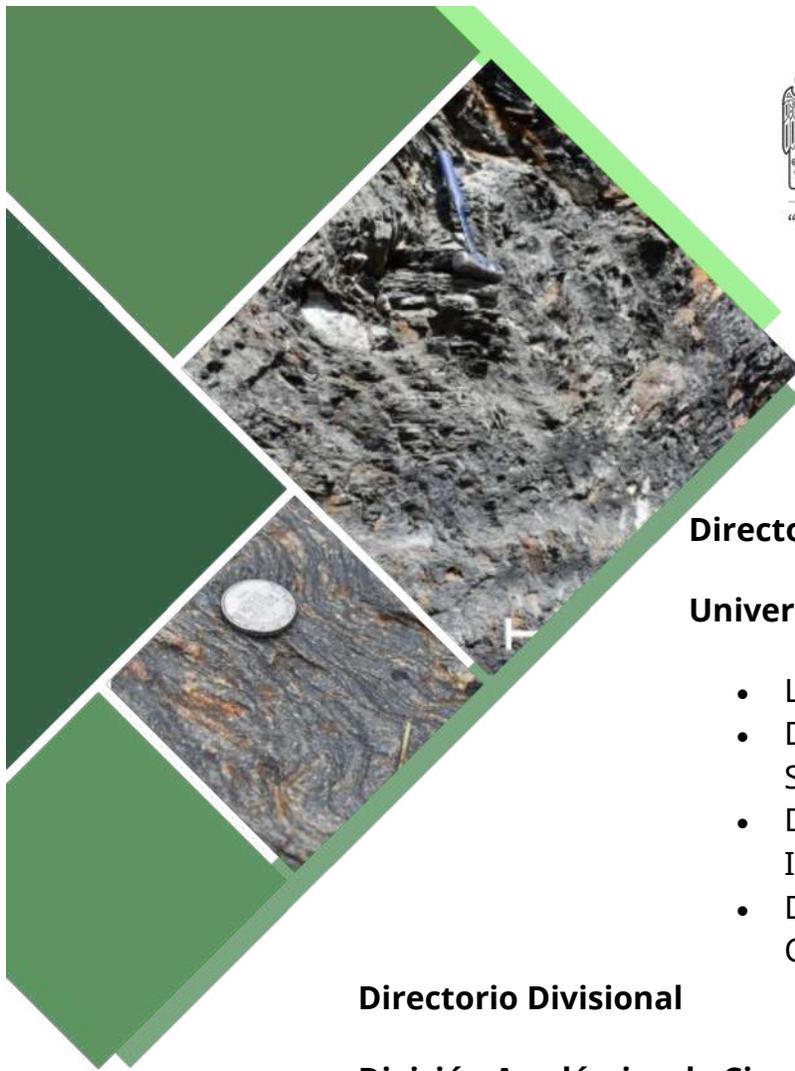
ISSN:2448-4997

<https://revistas.ujat.mx/index.php/jobs>

OPEN  ACCESS



La revista **Journal of Basic Sciences** (antes Revista de Ciencias Básicas UJAT) es una revista electrónica multidisciplinaria que es editada por la División Académica de Ciencias Básicas (DACB) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) desde el 2002. Desde su nacimiento hasta el año 2014, se editaba semestralmente y de manera impresa, pero durante un proceso de reestructuración y relanzamiento, sufrió algunos cambios. A partir del 2015 cambió de título a su nombre actual, migró al modo solo electrónico y además pasó a ser editada cuatrimestralmente. La revista publica artículos con resultados de investigaciones científicas originales en los campos de la Física, Química, Matemáticas, Ciencias Computacionales y áreas afines. Sitio web: <http://revistas.ujat.mx/index.php/jobs>. Editor responsable: **Carlos Ernesto Lobato García**. Informes: [jobs@ujat.mx](mailto:jobs@ujat.mx). Es una revista de **Revista de acceso libre!**



## Directorio Institucional

### Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

- Lic. Guillermo Narváez Osorio. Rector
- Dr. Luis Manuel Hernández Govea. Secretario de Servicios Académicos
- Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez. Secretario de Investigación, Posgrado y Vinculación
- Dr. Pablo Marín Olán. Director de Difusión, Divulgación Científica y Tecnológica

## Directorio Divisional

### División Académica de Ciencias Básicas

- Dra. Hemicenda Pérez Vidal. Directora
- Dr. Luis Manuel Martínez González. Coordinador de Investigación
- M.C. Abel Cortazar May. Coordinador de Docencia
- Mtro. Santiago Antonio Méndez Pérez. Coordinador de Difusión Cultural y Extensión
- L.Q. Esmeralda León Ramos. Jefa de Investigación

## Comité Editorial

- Dr. Carlos Ernesto Lobato García. Editor en Jefe
- Dr. Adib Abiu Silahua Pavón. Gestor Editorial
- Mtra. Claudia Gisela Vázquez Cruz. Editora Asociada. Actuaría
- Mtra. María Hortensia Almaguer Cantú. Editora Asociada. Ciencias de la Computación
- Dr. José Arnold González Garrido. Editor Asociado. Ciencias Farmacéuticas
- Dr. José Luis Benítez Benítez. Editor Asociado. Física
- Mtro. Guillermo Chávez Hernández. Editor Asociado. Geofísica
- Dra. Addy Margarita Bolívar Cimé. Editora Asociada. Matemáticas
- Dra. Nancy Romero Ceronio. Editora Asociada. Química
- Dr. Carlos Mario Morales Bautista (Editor Invitado)

## Contenido

	Pag.
<b>Análisis estructural y modelamiento molecular de los receptores de odorante Or4 de mosquitos <i>Aedes aegypti</i></b>	1-17
<b>Regulación de la angiogénesis por antioxidantes en el cáncer de mama triple negativo</b>	18-34
<b>Principales alimentos funcionales con efecto hipoglucemiante en Diabetes mellitus</b>	35-45
<b>Bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre provenientes de diferentes rizosferas de mangles</b>	46-57
<b>Contaminación y deficiencia de la calidad por uso de suelos agrícolas: una revisión cualitativa</b>	58-64
<b>Síntesis de Ugi de tres componentes (U-3CR) en presencia de metales de transición. Obtención de N-bencil-2-fenil-2-(fenilamino)acetamida</b>	65-74
<b>Condiciones metamórficas del grafito en el Complejo Metamórfico Paleozoico Esquistos Granjeno</b>	75-81
<b>Determinación del parámetro Vs30 en el Municipio de Teapa, Tabasco</b>	82-86
<b>Problema de control para el modelo básico de la hepatitis C con tratamiento</b>	87-105



## Regulación de la angiogénesis por antioxidantes en el cáncer de mama triple negativo

Evert Guzmán Méndez<sup>1</sup>, José Arnold González Garrido<sup>1</sup>, Eduardo de la Cruz Cano<sup>2</sup>, Carlos Javier López Víctorio<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, División Académica de Ciencias Básicas UJAT

<sup>2</sup>División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco

\*[javier.lopez@ujat.mx](mailto:javier.lopez@ujat.mx)

### Resumen

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) está relacionado con un peor pronóstico y un comportamiento más agresivo. Este subtipo cuenta con una mayor frecuencia de metástasis, la cual se ve favorecida por el proceso de vascularización relacionado a la angiogénesis tumoral. El objetivo del estudio fue realizar un análisis de expresión diferencial y ontología de genes (GO) en células MDA-MB-468 en respuesta al tratamiento con el antioxidante CAT-SKL, el análisis se realizó utilizando secuencias públicas contenidas en la base de datos Gene Expression Omnibus (GEO). La angiogénesis fue una de las ontologías que resultó subexpresada (DR) por el tratamiento con CAT-SKL. Los genes proangiogénicos KDR, EGR3, CCN2, S100A7, PDGFRA y FN1 se observaron disminuidos, mientras que el gen antiangiogénico IL18 se mantuvo incrementado. Adicionalmente encontramos que ontologías relacionadas con el transporte de aminoácidos se presentan sobreexpresadas (UR).

**Palabras claves:** *Cáncer de mama triple negativo, Angiogénesis, Antioxidante, Tratamiento alternativo.*

### Abstract

Triple negative breast cancer (TNBC) is associated with a worse prognosis and more aggressive behavior; this subtype has a higher frequency of metastasis, which is favored by the vascularization process related to tumor angiogenesis. The objective of the study was to perform a differential expression and gene ontology (GO) analysis in MDA-MB-468 cells in response to treatment with the antioxidant CAT-SKL, the analysis was performed using public sequences contained in the Gene database Expression Omnibus (GEO). Angiogenesis was one of the ontologies that was down regulated (DR) by CAT-SKL treatment. The proangiogenic genes KDR, EGR3, CCN2, S100A7, PDGFRA and FN1 were observed to be decreased, while the antiangiogenic gene IL18 remained increased. Furthermore, we found that ontologies related to amino acid transport up regulated (UR).

**Keywords:** *Triple negative breast cancer, Angiogenesis, Antioxidant, Alternative treatment*

Recibido: 01 de diciembre de 2023. Aceptado: 22 de diciembre de 2023. Publicado: 30 de abril de 2024

## 1. Introducción

El cáncer de mama (CaMa) se caracteriza por un crecimiento acelerado, descontrolado y desordenado de células con genes mutados [1]. Dicho crecimiento descontrolado, ocasiona un crecimiento anormal de células en el tejido (carcinoma *in situ*) y la posterior habilidad de invadir el tejido adyacente (cáncer invasivo). Esta patología se presenta tanto en los lobulillos como en los conductos que producen y transportan la leche en la glándula mamaria respectivamente [2]. El



CaMa se presenta con mayor frecuencia en mujeres, siendo el tipo de cáncer más común alrededor del mundo [3].

En México, es el segundo tipo de cáncer más común, después del cáncer de próstata, representando la primera causa de mortalidad en mujeres de entre 50 y 59 años de edad [4]. Los factores predisponentes son múltiples y muy variados, pero se pueden resaltar; tener entre 40 y 60 años, el historial familiar, pues el CaMa está relacionado con mutaciones en genes como BRCA1 y BRCA2; factores reproductivos como menarquía temprana, menopausia tardía, embarazo a edad avanzada y baja paridad; así como el consumo prolongado de anticonceptivos y consumo excesivo de alcohol y grasas en la dieta [5]. El CaMa se clasifica de forma histológica en carcinoma ductal y carcinoma lobular según la ubicación y origen de las células neoplásicas [6], mientras que en la clasificación por subtipos moleculares se dividen principalmente en luminal A, luminal B, HER2 sobreexpresado y triple negativo [7].

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) es un subtipo de CaMa que se caracteriza por la ausencia en la expresión de los receptores hormonales para estrógenos (RE) y progesterona (RP), así como también para el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2). Por lo general está relacionada con un peor pronóstico, un comportamiento más agresivo y con la ausencia de terapias dirigidas, siendo la quimioterapia el tratamiento con mejor resultado [8,9]. Representa entre el 10 y 20% de todos los cánceres de mama, presentándose en mayor frecuencia en mujeres jóvenes afroamericanas premenopáusicas, con antecedentes familiares (mutaciones BRCA1) [10,11]. Se caracteriza por presentar una supervivencia global más corta, pudiendo ser menor a 4 años. En pacientes que hayan recibido tratamiento con quimioterapia, presenta una mortalidad del 55%, mientras que en pacientes sin terapia sistémica aumenta hasta 79%, con un riesgo de recaída del 85% [12]. Está asociado a un comportamiento más agresivo debido a una mayor frecuencia y ratio de reaparición de metástasis visceral, de cerebro, hígado y pulmón [13]. La metástasis se refiere al proceso en el que células tumorales de un tejido primario se diseminan hacia órganos distantes a través de los vasos sanguíneos [14]. Mientras que la angiogénesis se define como el proceso mediante el cual se generan nuevos vasos sanguíneos a partir de capilares preexistentes, este proceso es fundamental para el crecimiento, progresión y metástasis del CaMa [15–17]. La angiogénesis tumoral se ve favorecida por el desequilibrio neto entre los factores pro y antiangiogénicos (Tabla 1). Entre los factores proangiogénicos podemos destacar al factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), los cuales se ven aumentados en diversos tumores activando el interruptor angiogénico [18]. La angiogénesis es un proceso que consiste en diversos pasos regulados por la presencia de hipoxia y de la proteína HIF-1 $\alpha$ , la cual tiene la capacidad de regular la transcripción de diversos genes involucrados en la formación de nuevos vasos sanguíneos [19,20].

Los factores proangiogénicos, como VEGF, promueven la angiogénesis a través de los receptores de VEGF (VEGFR). Dándose la progresión en diversos pasos durante el crecimiento del tumor [18]. El proceso comienza con la liberación de los factores proangiogénicos por parte del tumor para



que estos interactúen con sus receptores. Una vez que estos factores se unen a los receptores que se ubican en la superficie de las células endoteliales (CE), estas producen nuevas moléculas, como las enzimas metaloproteinasas de la matriz (MMP), las cuales disuelven la membrana basal circundante del borde del vaso en crecimiento, para que las CE migren fuera de este. Estas CE se alargan y adoptan la forma tubular del vaso sanguíneo, para que finalmente se establezca mediante la aparición de células musculares lisas y pericitos que proporcionarán soporte estructural [21]. Dicho proceso es estimulado principalmente por los factores ya antes mencionados. Sin embargo, cabe mencionar que la angiogénesis es inhibida por una gran variedad de reguladores endógenos, los cuales se ven afectados en el proceso de la formación de tumores, entre los que podemos destacar a las trombospondinas 1 y 2 (TSP) que participan en la regulación de la coagulación, adhesión celular y angiogénesis; a la angiostatina que inhibe la formación de vasos sanguíneos y la migración de CE; y finalmente a la endostatina que participa en la angiogénesis bloqueando la proliferación y migración de las CE [18]. En cuanto a los inhibidores exógenos, se ha centrado el esfuerzo por desarrollar fármacos que puedan bloquear la vía VEGF, entre los que se encuentran bevacizumab, sunitinib y aflibercept, como alternativa a la quimioterapia convencional [22,23].

Efecto	Gene Symbol	Nombre
Proangiogénico	VEGF	Factor de crecimiento del endotelio vascular
	EGF	Factor de crecimiento epidérmico
	FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
	PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
	TGF	Factor de crecimiento transformante
	ANGPT1	Angiopoyetina-1
	EPH	Efrina
	MMPs	Metaloproteinasas de la matriz
Antiangiogénico	THBS	Trombospondinas-1,2
	NA	Angiostatina
	COL4A3	Tumstatina
	COL18A1	Endostatina
	PF4	Factor plaquetario-4
	CHGA	Vasostatina
	TIMPs	Inhibidores tisulares de metaloproteinasas
	INF	Interferon $\alpha$ , $\beta$ y $\gamma$

**Tabla 1.** Factores pro y antiangiogénicos [24,25].



En pacientes con CMTN, el tratamiento principal se basa en la utilización de quimioterapia y cirugía, individualmente o en combinación, debido a que la terapia hormonal no presenta beneficios debido a la ausencia de receptores RE, RP y HER2 [26], en el caso de la cirugía se puede realizar la mastectomía o cirugía conservadora de mama seguida de radioterapia [27] mientras que, la quimioterapia puede ser utilizada como neoadyuvante o como adyuvante, siendo dirigidas a el complejo reparador de ADN (compuestos de platino y taxanos), a la proteína p53 (taxanos), a la proliferación celular (régimen con antraciclinas) y en terapia dirigida [26]. Sin embargo, debemos recordar que la tasa de mortalidad de pacientes con CMTN es del 55%, mientras que en paciente con CMTN metastásico la supervivencia media a 5 años es solo del 11%, por lo que el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento para el CaMa así como el uso de tratamientos alternativos cobran especial interés [12,28]. Recientemente han surgido diversos tratamientos alternativos para el CMTN, entre los que destacan remedios herbolarios de la medicina tradicional china y diversos compuestos sintéticos con actividad antiproliferativa en estudios preclínicos, como los derivados de carbazoles, derivados de indol y complejos metálicos [28,29]. De igual forma se ha demostrado, mediante ensayos clínicos o preclínicos, que diversos antioxidantes pueden llegar a ser utilizados en el tratamiento del CMTN como terapia adyuvante o monoterapia, entre los que destacan compuestos naturales presentes en alimentos como el resveratrol, la curcumina, vitamina E, vitamina C y el galato de epigallocatequina [30].

Cabe mencionar, que los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) se encuentran elevados en las células cancerosas [31]. Esta elevación de los niveles de ROS en células y tejidos ocasiona un proceso que se conoce como estrés oxidativo, este fenómeno media eventos de señalización que influyen en el comportamiento de las células cancerosas, participando en la progresión y proliferación del ciclo celular, la supervivencia celular y apoptosis, el metabolismo energético, la morfología celular, la adhesión celular, la motilidad celular y la angiogénesis [32,33].

Los antioxidantes pueden llegar a ser utilizados en el tratamiento del cáncer como una alternativa terapéutica al tratamiento convencional, promoviendo un posible efecto antiangiogénico. La enzima recombinante catalasa dirigida a los peroxisomas llamada CAT-SKL cataliza la conversión de  $H_2O_2$  en agua y oxígeno, restaurando el equilibrio oxidativo en diferentes entornos celulares [34]. CAT-SKL se ha evaluado de manera *in vitro* e *in vivo* obteniéndose resultados prometedores para poder llegar a ser utilizado como una posible opción terapéutica en diversas patologías como en la enfermedad de Alzheimer, la retinopatía diabética, o incluso en cáncer de mama [35–39]. Existe evidencia de la combinación de CAT-SKL con el fármaco erlotinib presenta actividad citotóxica en diversas líneas celulares de CMTN [40]. De forma individual, se ha documentado el efecto antioxidante de CAT-SKL en la línea celular MDA-MB-468, y se ha informado la distribución de la modificación epigenética 5-hidroximetilcitocina en las regiones genómicas de las células de CMTN, así como los perfiles de expresión de los genes relacionados con esta modificación [41]. No obstante, los perfiles de expresión y ontología del transcriptoma global de las líneas celulares MDA-MB-468 tratadas con CAT-SKL no han sido presentados. Por ende, nuestro objetivo fue realizar un análisis de expresión diferencial seguido de la ontología de genes (GO) del



transcriptoma de células MDA-MB-468 tratadas con CAT-SKL a partir de las secuencias públicas reportadas por Mitrea et al., y determinar los perfiles de expresión de los transcritos asociados con la angiogénesis.

## 2. Metodología

### 2.1 Obtención de lecturas y control de calidad

Las lecturas analizadas fueron obtenidas de la base de datos Gene Expression Omnibus (GEO) del experimento público con número de acceso GSE103850, las lecturas corresponden a replicas experimentales por triplicado de células de CMTN MDA-MB-468 tratadas con la enzima recombinante (CAT-SKL), durante 24 horas a una concentración de 10  $\mu$ M; así como el respectivo vehículo (control), el ARN total fue extraído usando el kit RNeasy plus posteriormente las muestras fueron procesadas para secuenciación por síntesis mediante la plataforma Illumina HiSeq2500 por el método de lecturas pareadas [41]. Utilizamos la herramienta SRA toolkit versión 3.0.5 y los comandos *prefetch* y *fastq-dump -split files* para descomprimir y recuperar los archivos .sra a archivos .fastq La calidad de las lecturas fue evaluada con el software FastQC versión 0.11.9 [42].

### 2.2 Mapeo, estimación de abundancia de transcritos y análisis de expresión diferencial de genes (DEG)

Como la calidad de las lecturas fue alta, no se requirió ningún tipo de procesamiento para eliminar secuencias de baja calidad, por lo que las lecturas fueron mapeadas posteriormente al análisis de control de calidad. Estas fueron alineadas al genoma de referencia de humano versión Grch38 mediante el software HISAT2 versión 2.1.0 generando un ensamble directo (-dta) [43], posteriormente el archivo BAM generado fue convertido y ordenado en un archivo tipo SAM utilizando SAMtools versión 0.1.18 [44], la estimación de la abundancia de transcritos la realizamos con featureCounts versión 2.0.0 [45], frente al genoma de referencia Grch38.105. La evaluación de la expresión diferencial se realizó en entorno R versión 4.3.0, utilizando las herramientas de bioconductor edgeR [46] y limma [47]. Generamos una matriz de cuentas de número de transcritos detectados (gcm.tsv) identificados mediante el ENSEMBL ID de cada gen y los valores de expresión de cada muestra por cada condición (CAT-SKL y control). El cambio en la expresión génica se determinó por un valor de veces de cambio, expresado como logaritmo base dos de las veces de cambio de expresión ( $\log_2FC$ ). Los genes se denominaron sobreexpresados (UR) si su  $\log_2FC \geq 1$  y simultáneamente el valor de la tasa de falsos descubrimientos (FDR) es  $< 0.05$ , mientras que se consideraron subexpresados (DR) los genes cuyo valor de  $\log_2FC \leq -1$  y simultáneamente el valor de FDR  $< 0.05$ , el resto de los genes que no cumplen con esta condición (NC) se considera que no tienen un cambio significativo en su expresión (FDR  $> 0.05$ , así como un  $\log_2FC > -1$  y  $< 1$ ).

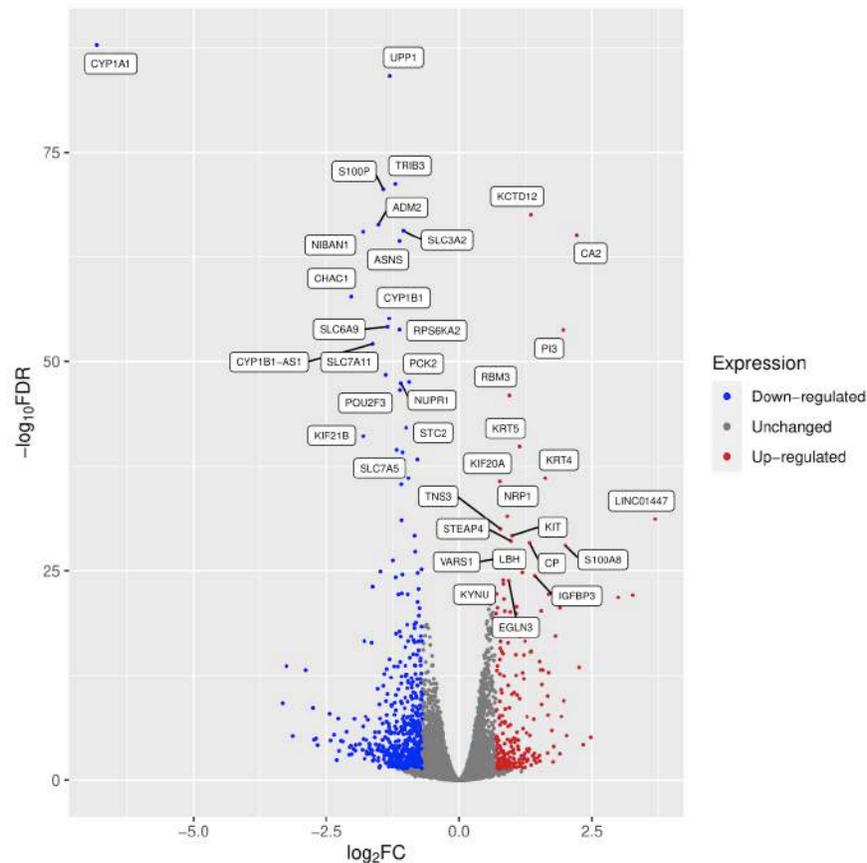
### 2.3 Análisis de ontología de genes (GO)



Desarrollamos un análisis de enriquecimiento de perfil funcional (g:GOST) mediante el servidor web g:Profiler [48], haciendo uso de la versión e109\_eg56\_p17\_1d3191d para una longitud de consulta de 78 gene Symbol, provenientes de las listas obtenidas de genes UR y DR por separado. Seleccionamos las opciones “Homo sapiens” para el organismo y la opción de “consulta ordenada” para las listas de genes que previamente fueron ordenadas de manera decreciente según su valor de  $\text{Log}_2\text{FC}$ . Se utilizó el método de corrección de pruebas múltiples g:SCS desarrollado por los autores del servidor, con un umbral de significancia de  $p=0.05$ . Mientras que las fuentes de datos consultadas fueron para GO [49], seleccionándose Función Molecular (MF), Procesos Biológicos (BP), Componente Celular (CC), Factores de Transcripción (TF), Atlas Humano de Proteínas (HPA), base de datos Reactome (REAC) y microRNA (MIRNA).

### 3. Resultados experimentales

La actividad citotóxica de la enzima recombinante CAT-SKL en las células MDA-MB-468 disminuye aproximadamente un 80-90% los niveles de ROS [41], y produce una disminución significativa de la viabilidad celular de las líneas celulares (MDA-MB-468, SUM-149, SUM-159 y HCC-70) tratadas con CAT-SKL en combinación con el fármaco erlotinib [40]. Sin embargo, el mecanismo de acción involucrado en el efecto no se encuentra del todo caracterizado, por lo que procedimos a analizar los perfiles globales de expresión y las rutas génicas modificadas en respuesta al tratamiento con CAT-SKL. Realizamos un protocolo de análisis de expresión diferencial (DEG), analizando las lecturas pareadas de 61 pares de bases generadas por método de síntesis por la plataforma Illumina HiSeq20550, las lecturas se encuentran almacenadas en la base de datos GEO (GSE103850) correspondientes al ensayo de secuenciación masiva de RNA (RNA-Seq) de células MDA-MB-468 expuestas a 10  $\mu\text{M}$  de CAT-SKL durante 24h (tratamiento) contra control (sin tratamiento), los ensayos fueron repetidos por triplicado. Identificamos que del total de los 15672 genes expresados, 384 modificaron significativamente su expresión (DEGs), de los cuales 103 disminuyen (DR) y 281 aumentan (UR) en respuesta al tratamiento con CAT-SKL. Los niveles de expresión de los DEGs se presentan en un gráfico de volcán en donde destacamos que los 20 genes mayormente incrementados son KCTD12, CA2, PI3, RBM3, KRT5, KRT4, KIF20A, NRP1, TNS3, KIT, LINC01447, STEAP4, VARS1, LBH, CP, S100A8, IGFBP3, KYNU, EGNL3 los cuales son graficados en color rojo, mientras que los que disminuyen (DR) incluyen CYP1A1, UPP1, S100P, TRIB3, ADAM2, NIBAN1, SLC3A2, ASNS, CHAC1, CYP1B1, SLC6A9, RPS6KA2, CYP1B1-AS1, SLC7A11, PCK2, POU2F3, NUPR1, KIF21B, STC2 y SLC7A5 los cuales se muestran en color azul y el resto de los genes sin cambio en su expresión (NC) son representados en color gris (figura 1).



**Figura 1.** Gráfico de volcán de los niveles de expresión de los genes DEGs de células MDA-MB-468 en respuesta a 10  $\mu\text{M}$  de CAT-SKL durante 24h. Cada punto representa un gen, los genes graficados en color rojo tienen valores  $\text{Log}_2\text{FC} \geq 1$  y valor  $\text{FDR} < 0.05$  (UR) mientras que en azul (DR) genes cuyo valor es  $\text{Log}_2\text{FC} \leq -1$  juntamente con un  $\text{FDR} < 0.05$ , en gris se representan los genes sin cambio significativo (NC). En el eje X se expresa el logaritmo base 2 de las veces de cambio de expresión ( $\text{Log}_2\text{FC}$ ) mientras que en el eje Y se representan la significancia estadística expresada en logaritmo negativo base 10 de la tasa de falsos descubrimientos ( $-\log_{10}\text{FDR}$ ).

Posteriormente queríamos conocer la relevancia biológica de los genes DEGs identificados por lo que procedimos a realizar un análisis de ontología, excluimos de este análisis 86 genes de los cuales se dispone únicamente del identificador de gene ENSEMBL y no se puede asignar símbolo de gen (Gene Symbol), de este subgrupo 61 corresponden a genes que incrementan su expresión, mientras que 25 a genes que la disminuyen. Para identificar las ontologías relacionadas con los genes expresados diferencialmente realizamos un ensayo de enriquecimiento (g:GOST) utilizamos la herramienta g:Profiler e identificamos principalmente términos de ontología relacionados con el transporte de aminoácidos alanina y leucina a través de la mitocondria y del citoplasma y diversos factores de transcripción (figura 2A), mientras que para los genes disminuidos (DR) la clasificación de las ontologías predominantemente incluye procesos biológicos donde podemos destacar la regulación de genes implicados en la diferenciación celular, respuesta celular al estímulo del factor



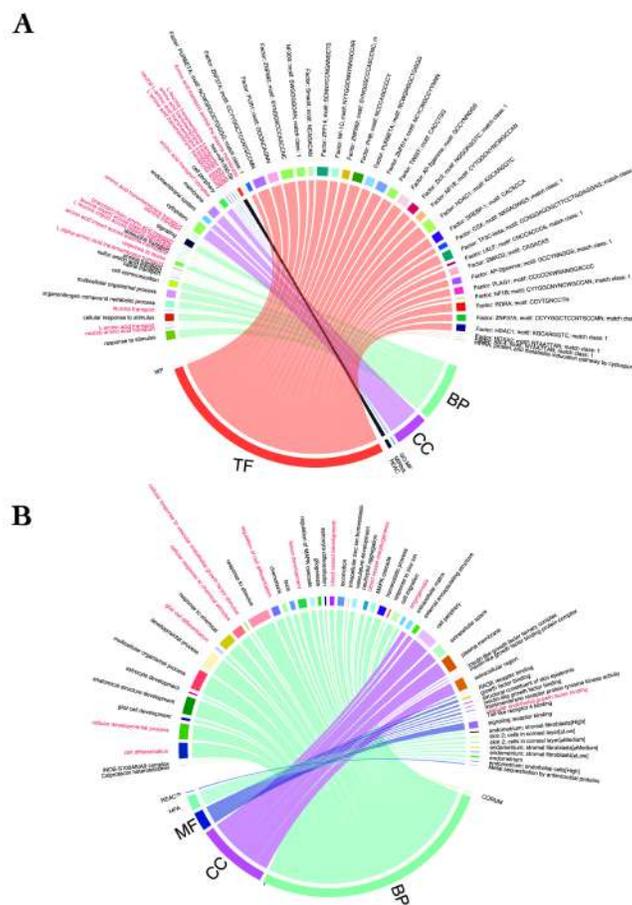
de crecimiento endotelial vascular (VEGF), desarrollo de vasos sanguíneos, morfogénesis de vasos sanguíneos y angiogénesis (figura 2B).

De estas ontologías podemos destacar a los genes; CYP1A1 que participa en actividad monooxigenasa y en la actividad omega-hidroxilasa de ácidos grasos. SLC7A11 participa como transportador transmembrana de aminoácidos neutros, aminoácidos azufrados, transporte transmembrana de L-alfa-aminoácidos e importe de aminoácidos a través de la membrana plasmática. Por otra parte, SLC3A2 participa en las mismas ontologías mencionadas para SLC7A11, así como también en el complejo de transporte de aminoácidos. Mientras que en el caso de SLC7A5, este gen se involucra en las mismas ontologías que SLC3A2 mencionadas anteriormente. Existe evidencia de una elevada expresión de CYP1A1 en tejido mamario maligno [50] así como de un mecanismo inductor de la liberación de ROS, lo que hace suponer que este gen no participa en la regulación negativa de los niveles de ROS inducida por CAT-SKL [51]. Se ha descrito una actividad antioxidante para los transportadores de aminoácidos SLC7A11 y SLC7A5, al actuar como transportadores intracelulares de cisteína para la posterior síntesis de glutatión [52,53]. En fibroblastos derivados de células madre embrionarias de ratón los niveles de ROS se regulan negativamente en presencia de SLC3A2, sugiriendo que el incremento en su expresión funciona como un mecanismo protector contra el estrés oxidativo [54].

Para el caso de las ontologías reguladas negativamente podemos destacar a la angiogénesis cuya importancia en la supervivencia e invasividad tumoral resulta fundamental. Cabe mencionar que el estrés oxidativo participa en la regulación de la angiogénesis, estimulando la formación de nuevos vasos sanguíneos de forma descontrolada [55], el estímulo de CAT-SKL disminuye entre un 80 - 90% los niveles de ROS en la línea celular MDA-MB-468 [41], se ha descrito que las condiciones hipóxicas promueven la formación de nuevos vasos sanguíneos y esto se relaciona con los niveles de ROS, ya que en los capilares recién formados el flujo sanguíneo descontrolado ocasiona períodos de hipoxia/reoxigenación, provocando estrés oxidativo [56], la hipoxia induce los niveles de ROS y angiogénesis tumoral, ya que un incremento de las ROS induce la expresión de VEGF y su disminución ocasiona el efecto contrario en células cancerosas [33]. Mientras que, los factores de crecimiento involucrados en la angiogénesis como la angiopoyetina-1 (Ang1) y el VEGF, inducen la migración y/o proliferación de CE regulado por un incremento en los niveles de ROS [57]. Identificamos que los genes que regulan positivamente la angiogénesis KDR, EGR3, CCN2, S100A7, PDGFRA y FN1 [58–63] se encuentran DR. Adicionalmente identificamos que el gen antiangiogénico IL18 [64] es inducido positivamente por el tratamiento con CAT-SKL, lo que en conjunto hace suponer un mecanismo directo de regulación negativa de la angiogénesis.

Posteriormente, identificamos los niveles de expresión de los genes reguladores de la angiogénesis en los que encontramos que los genes proangiogénicos FN1, PDGFRA, S100A7, CCN2, EGR3 y KDR disminuyen significativamente su expresión a diferencia de FGF21 que la incrementa; y para el caso de los genes antiangiogénicos, la IL-18 incrementa su expresión mientras que SEMA6A y ANGPTL4 la disminuyen significativamente (Tabla 2). De estos, el gen que más se

disminuye es KDR, también conocido como VEGFR-2 (receptor 2 de VEGF), un receptor clave asociado en la angiogénesis maligna debido a que su activación llevada a cabo por la unión de VEGF ocasiona una mejora en la proliferación y migración de las células endoteliales. Además, KDR se ha observado altamente expresado en CaMa [65], por lo que su disminución puede estar altamente implicado en la inhibición de la angiogénesis y la viabilidad celular, como lo demuestra un estudio en el que la eliminación de KDR con siARN inhibió la proliferación celular e indujo la apoptosis en células de CaMa MCF-7 [66]. Por otra parte, EGR3 es un factor de transcripción de dedos de zinc que se encuentra estimulado por VEGFA, es importante en la supervivencia y proliferación celular, existe evidencia que la supresión de este gen, mediante siARN, inhibió la proliferación de CE, migración y tubulogénesis mediada por VEGF [59].



**Figura. 2.** Diagrama de cuerdas del Análisis de Enriquecimiento de Genes. A. Las cuerdas individuales representan las ontologías correspondientes a genes incrementados (UR) las cuales se clasifican en Función Molecular (MF), Procesos Biológicos (BP), Componente Celular (CC), Atlas Humano de Proteínas (HPA), base de datos Reactome (REAC), Factores de Transcripción (TF), microRNA (MIRNA). B. Clasificación de ontologías correspondientes a genes disminuidos (DR).

La inmunorreactividad de EGR3 se correlacionó positivamente con lesiones metastásicas de ganglios linfáticos u otros órganos en carcinomas de mama y su sobreexpresión mejoró las



propiedades de invasión en células MCF-7 [67]. CCN2/CTGF se sobreexpresa en células de CMTN, promoviendo la proliferación celular a través de la regulación de proteínas relacionadas con la progresión del ciclo celular y está involucrada en diversos procesos patológicos como carcinoma hepatocelular, cáncer cervical, glioblastoma multiforme, cáncer de colon, carcinoma de tiroides, entre otros [68]. La eliminación de la expresión de CCN2 en células de CMTN disminuyó la proliferación celular, la adhesión, la migración, la captación de glucosa, la producción de ATP y la producción de lactato [69]. Se ha reportado que la regulación positiva de CCN2 por tratamiento con ATP extracelular promueve la angiogénesis y las interacciones entre las células CMTN y las CE lo que estimularía la metástasis del CMTN [70].

En el caso del gen S100A7, que codifica para la proteína psoriasina, se ha observado que su expresión es promovida por el estrés oxidativo en los queratinocitos, mientras que su regulación a la baja altera la expresión de factores angiogénicos asociados a la psoriasis [61].

Efecto	Gene Symbol	Nombre	Log <sub>2</sub> FC	FDR
Proangiogénico	FGF21	Factor de crecimiento de fibroblastos 21	3.3257	6.45E-10
	FGF11	Factor de crecimiento de fibroblastos 11	0.9598	0.017
	EGF	Factor de crecimiento epidérmico	0.6209	1.07E-04
	PLAUR/UPAR	Receptor del activador de plasminógeno, uroquinasa	0.4297	0.008
	VEGFA	Factor de crecimiento endotelial vascular A	0.3573	4.50E-07
	COX2	Ciclooxigenasa 2	0.2198	0.136
	TGFB1	Factor de crecimiento transformante Beta 1	-0.1400	0.120
	ETS1	Factor de transcripción, Proto-Oncogén ETS 1	-0.2700	0.001
	REF1	Endodesoxirribonucleasaapurínica/apirimidínica 1	-0.3188	4.63E-06
	MMP2	Metaloproteínasa de la matriz 2	-0.3760	0.040
	PAI-1	Inhibidor del activador del plasminógeno 1	-0.4233	0.472
	TGFB2	Factor de crecimiento transformante Beta 2	-0.6533	1.89E-11
	PLAU/U-PA	Activador de plasminógeno, uroquinasa	-0.7253	2.69E-21
	ANGPT1	Angiopoyetina-1	-0.8657	1.15E-07
	FN1	Fibronectina 1	-1.3378	4.66E-06
	PDGFRA	Receptor Alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas	-1.4113	5.81E-08
	S100A7	S100 Proteína fijadora de calcio A7	-1.5187	6.96E-15
	CCN2	Factor 2 de red de comunicación celular	-1.5482	6.39E-21
EGR3	Respuesta de crecimiento temprano 3	-1.6682	9.34E-11	



Antiangiogénico	KDR	Receptor de dominio de inserción de cinasa	-1.8130	5.98E-18
	IL18	Interleucina 18	1.0713	2.86E-25
	HSPG2	Proteoglicano Heparán Sulfato	0.4472	0.101
	NFKB1	Factor nuclear Kappa B Subunidad 1	0.1850	0.045
	TIMP2	Inhibidor tisular de metaloproteinasas 2	0.1800	0.234
	TP53	Proteína tumoral P53	0.0752	0.386
	COL18A1	Endostatina	-0.0095	0.978
	RELA	Proto-Oncogén RELA, subunidad NF-KB	-0.0126	0.915
	TIMP1	Inhibidor tisular de metaloproteinasas 1	-0.1000	0.464
	SERPINF1	Miembro 1 de familia serpina F	-0.1478	0.635
	THBS1	Trombospondina 1	-0.3082	0.045
	TIMP3	Inhibidor tisular de metaloproteinasas 3	-0.3178	0.008
	FBLN5	Fibulina 5	-0.4368	0.030
	SEMA6A	Semaforina 6A	-1.3606	4.29E-16
	ANGPTL4	Angiopoyetina Tipo 4	-1.5798	6.64E-14

**Tabla 2.** Genes relacionados con angiogénesis en células MDA-MB-468 tratadas con CAT-SKL.

Se demostró que la unión de S100A7 al receptor para productos finales de glicación avanzada (RAGE) mejora la expresión de este último en células de CMTN, esto cobra importancia puesto que el bloqueo de este receptor reduce la metástasis tumoral del CaMa en modelos preclínicos y su eliminación por siARN inhibe el potencial tumorigénico de las células MDA-MB-231, demostrándose que la deficiencia de RAGE redujo el crecimiento del CaMa al disminuir el reclutamiento de macrófagos asociados al tumor y la angiogénesis tumoral [71]. Por ende, la regulación a la baja de S100A7 también afectaría negativamente la expresión de RAGE, dato sumamente interesante puesto que el término de GO “Unión al receptor RAGE” se encuentra DR en nuestros resultados.

En cuanto a PDGFRA, un estudio identificó que la vía PDGFRA se encuentra sobreexpresada y activa en tumores de cáncer de mama inflamatorio [72]. Mientras que, en otro estudio demostraron que el CMTN está asociado con una alta expresión de PDGFRA, mencionando que la alta expresión de dicha proteína podría ser un signo de un proceso de transición epitelial a mesenquimosa (EMT) activo en CMTN [73]. Además, la alta expresión de PDGFRA de células tumorales en tumores primarios se relacionó con CMTN, igualmente se encontró que PDGFRA fue UR, este gen promueve metástasis de ganglios linfáticos y en recurrencias asincrónicas, provenientes de muestras de pacientes con CaMa[74], el gen FN1 es el gen proangiogénico que menos disminuye en respuesta al tratamiento, este gen codifica a una proteína que participa en la adhesión, migración, crecimiento y diferenciación celular. Se ha reportado su participación



promoviendo la proliferación y migración celular en diferentes neoplasias, como lo son el carcinoma de células escamosas de esófago y boca, carcinoma de nasofaringe, cáncer colorrectal, ovario, tiroides y en cáncer gástrico [75]. Por otra parte, un estudio reportó el aumento de expresión de FN1 en tejidos con CaMa comparados con tejidos normales y correlacionó la elevada expresión con malos resultados clínicos [76]. Mientras que, en muestras de plasma sanguíneo de CMTN, también ha sido reportado una alta expresión del gen FN1 [77].

#### 4. Conclusiones

Identificamos que el tratamiento antioxidante CAT-SKL, en células MDA-MB-468 regula positivamente genes involucrados en ontologías relacionadas con el transporte de aminoácidos en la célula, mientras disminuye la expresión de los genes pro angiogénicos CCN2/CTGF, S100A7, PDGFRA y FN1. Sin embargo observamos que los genes FGF21, SEMA6A, ANGPTL4 incrementan al contrario de lo reportado en la literatura [78–80]. Adicionalmente evaluamos diversos genes regulados por especies reactivas de oxígeno asociados a la angiogénesis como HIF-1, Ref-1, p53, NF- $\kappa$ B, Ets-1, VEGF, COX-2, uPA y PAI-1 en los cuales no detectamos un cambio significativo en su expresión [57].

En el desarrollo de este análisis, hemos identificado diversas ontologías que se han visto modificadas en respuesta al tratamiento de células de CMTN MDA-MB-468 con el antioxidante CAT-SKL. Observamos una regulación positiva de procesos relacionados con el transporte de aminoácidos en la célula. Además, podemos destacar a la angiogénesis como una de las ontologías relacionadas con genes cuya expresión se ha visto reducida, específicamente los genes proangiogénicos KDR, EGR3, CCN2/CTGF, S100A7, PDGFRA y FN1. Este efecto sobre la angiogénesis podría estar relacionado con la alteración sobre la viabilidad celular de los cultivos MDA-MB-468 expuestos a CAT-SKL. Sin embargo, cabe señalar que nuestros hallazgos relacionados con los genes FGF21, SEMA6A y ANGPTL4 podrían entrar en conflicto con resultados previamente reportados en la literatura científica (78–80). Además, diversos genes involucrados en la angiogénesis y regulados por ROS, como HIF-1, Ref-1, p53, NF- $\kappa$ B, Ets-1, VEGF, COX-2, uPA y PAI-1, no muestran cambios en su expresión [57]. En consecuencia, consideramos que mayor investigación y ensayos enfocados a los DGEs aquí reportados sería de interés para la caracterización de los mecanismos moleculares regulados por CAT-SKL, especialmente en lo que respecta a su capacidad para reducir la viabilidad celular mediante la inhibición de la angiogénesis en células de CMTN MDA-468. Este enfoque podría ofrecer valiosas perspectivas en la búsqueda de posibles alternativas terapéuticas para el CMTN.

#### 5. Referencias

- [1] Lugones, M., & Ramírez, M., “Aspectos históricos y culturales sobre el cáncer de mama”, *Revista Cubana de Medicina General Integral*, Vol. 25, No.3, 2009, 160–166.
- [2] Satherley, L., & Lloyd, E., “Breast cancer”, *Medicine*, 51, 1, 2023, 42–47.



- [3] Siegel, R.L., Miller, L.D., Jemal, A., “Cancer statistics”, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 66, 1, 2016, 7–30.
- [4] Arceo, M.T., López, J.E., Ochoa, A., & Palomera, Z., “Estado actual del cáncer de mama en México: principales tipos y factores de riesgo”, *Gaceta Mexicana de Oncología*, 20, 3, 2021, 101–110.
- [5] Sun, Y.S., Zhao, Z., Yang, Z.N., Xu, F., Lu, H.J., Zhu, Z.Y., et al., “Risk factors and preventions of breast cancer”, *International Journal of Biological Sciences*, 13, 2017, 1387–1397.
- [6] Arroyo, M., Martín, M., & Álvarez-Mon, M., “Cáncer de mama”, *Medicine*, 12, 34, 2017, 2011–2023.
- [7] Tsang, J.Y.S., & Tse, G.M., “Molecular Classification of Breast Cancer”, *Advances in Anatomic Pathology*, 27, 1, 2020, 27–35.
- [8] Łukasiewicz, S., Czezelewski, M., Forma, A., Baj, J., Sitarz, R., & Stanisławek, A., “Breast Cancer—Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies— An Updated Review”, *Cancers (Basel)*, 13, 4287, 2021, 1–30.
- [9] Irvin, W.J., & Carey, L.A., “What is triple-negative breast cancer?”, *European Journal of Cancer*, 44, 18, 2008, 2799–2805.
- [10] Orban, M.S., Ulloa, A.L., Arias, C.P., Gon, C., Sanchotena, V., Carrasco, M., Horton, G., et al., “Cáncer de mama Triple Negativo: evaluación de características clínico-patológicas y factores pronósticos”, *Revista Argentina de Mastología*, 36, 130, 2017, 73–86.
- [11] Elias, A.D., “Triple-negative breast cancer: A short review”, *American Journal of Clinical Oncology: Cancer Clinical Trials*, 33, 6, 2010, 637–645.
- [12] Zaharia, M., & Gómez, H., “Cáncer de Mama Triple Negativo: Una enfermedad de difícil diagnóstico y tratamiento”, *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 30, 4, 2013, 649–656.
- [13] Lopes, C.M., Montemor, M.R., Mansani, F.P., Stival, R.S.M., Cassapula, M.R., & Oliveira, T.F.B., “Clinical, histomorphological, and therapeutic prognostic factors in patients with triple-negative invasive breast cancer”, *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 51, 6, 2015, 397–406.
- [14] Guerra, A., Silva, E., Montero, S., Rodríguez, D., Mansilla, R., & Nieto, J., “Metástasis: un hito para el conocimiento, un reto para la ciencia”, *Revista Cubana de Medicina*, 59, 1, 2020, e1167.
- [15] Aslan, C., Maralbashi, S., Salari, F., Kahroba, H., Sigaroodi, F., Kazemi, T., et al., “Tumor-derived exosomes: Implication in angiogenesis and antiangiogenesis cancer therapy”, *Journal of Cellular Physiology*, 234, 10, 2019, 16885–16903.
- [16] Aslan, C., Maralbashi, S., Kahroba, H., Asadi, M., Soltani, M.S., Javadian, M., et al., “Docosahexaenoic acid (DHA) inhibits pro-angiogenic effects of breast cancer cells via down-regulating cellular and exosomal expression of angiogenic genes and microRNAs”, *Life Sciences*, 258, 2020, 118094.
- [17] Shashni, B., Nishikawa, Y., & Nagasaki, Y., “Management of tumor growth and angiogenesis in triple-negative breast cancer by using redox nanoparticles”, *Biomaterials*, 269, 2021, 120645.
- [18] Madu, C.O., Wang, S., Madu, C.O., & Lu, Y., “Angiogenesis in Breast Cancer Progression, Diagnosis, and Treatment”, *Journal of Cancer*, 11, 15, 2020, 4474–4494.



- [19] Liang, H., Xiao, J., Zhou, Z., Wu, J., Ge, F., Li, Z., et al., "Hypoxia induces miR-153 through the IRE1 $\alpha$ -XBP1 pathway to fine tune the HIF1 $\alpha$ /VEGFA axis in breast cancer angiogenesis", *Oncogene*, 37, 15, 2018, 1961–1975.
- [20] Rana, N.K., Singh, P., & Koch, B., "CoCl<sub>2</sub> simulated hypoxia induce cell proliferation and alter the expression pattern of hypoxia associated genes involved in angiogenesis and apoptosis", *Biological Research*, 52, 1, 2019, 12.
- [21] López, O., Magariño, Y., & Delgado, R., "The angiogenic process and cancer", *Biocología Aplicada*, 26, 2, 2009, 111–116.
- [22] Vasudev, N.S., & Reynolds, A.R., "Anti-angiogenic therapy for cancer: current progress, unresolved questions and future directions", *Angiogenesis*, 17, 3, 2014, 471–494.
- [23] Smolarz, B., Zadro, A., & Romanowicz, H., "Breast Cancer-Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature)", *Cancers (Basel)*, 14, 10, 2022, 1–27.
- [24] Olejarz, W., Kubiak, G., Chrzanowska, A., & Lorenc, T., "Exosomes in Angiogenesis and Anti-angiogenic Therapy in Cancers", *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 16, 2020, 5840.
- [25] Ribatti, D., "Endogenous inhibitors of angiogenesis", *Leukemia Research*, 33, 5, 2009, 638–644.
- [26] Wahba, H.A., & El-Hadaad, H.A., "Current approaches in treatment of triple-negative breast cancer", *Cancer Biology & Medicine*, 12, 2, 2015, 106–116.
- [27] Kumar, P., & Aggarwal, R., "An overview of triple-negative breast cancer", *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 293, 2, 2016, 247–69.
- [28] Catalano, A., Iacopetta, D., Ceramella, J., Mariconda, A., Rosano, C., Scumaci, D., et al., "New Achievements for the Treatment of Triple-Negative Breast Cancer", *Applied Sciences*, 12, 11, 2022, 5554.
- [29] Yang, Z., Zhang, Q., Yu, L., Zhu, J., Cao, Y., & Gao, X., "The signaling pathways and targets of traditional Chinese medicine and natural medicine in triple-negative breast cancer", *Journal of Ethnopharmacology*, 264, 2021, 113249.
- [30] Griñan, C., Blaya, J.L., López, A., Ávalos, M., Navarro, A., Cara, F.E., et al., "Antioxidants for the treatment of breast cancer: Are we there yet?", *Antioxidants*, 10, 2, 2021, 1–44.
- [31] Szatrowski, T., & Nathan, C., "Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells", *Cancer Research*, 51, 3, 1991, 794–798.
- [32] Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., et al., "Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 2017, 1–13.
- [33] Liou, G.Y., & Storz, P., "Reactive oxygen species in cancer", *Free Radical Research*, 44, 5, 2010, 479–496.
- [34] Nell, H.J., Au, J.L., Giordano, C.R., Terlecky, S.R., Walton, P.A., Whitehead, S.N., et al., "Targeted Antioxidant, Catalase-SKL, Reduces Beta-Amyloid Toxicity in the Rat Brain", *Brain Pathology*, 27, 1, 2017, 86–94.
- [35] Hayes, S.H., Liu, Q., Selvakumaran, S., Haney, M.J., Batrakova, E.V., Allman, B.L., et al., "Brain Targeting and Toxicological Assessment of the Extracellular Vesicle-Packaged Antioxidant Catalase-SKL Following Intranasal Administration in Mice", *Neurotoxicity Research*, 39, 5, 2021, 1418–1429.



- [36] Giordano, C.R., Terlecky, L.J., Bollig, A., Walton, P.A., & Terlecky, S.R., “Amyloid-beta neuroprotection mediated by a targeted antioxidant”, *Scientific Reports*, 4, 1, 2014, 4983.
- [37] MacKenzie, J.L., Ivanova, N., Nell, H.J., Giordano, C.R., Terlecky, S.R., Agca, C., et al., “Microglial Inflammation and Cognitive Dysfunction in Comorbid Rat Models of Striatal Ischemic Stroke and Alzheimer’s Disease: Effects of Antioxidant Catalase-SKL on Behavioral and Cellular Pathology”, *Neuroscience*, 487, 2022, 47–65.
- [38] Giordano, C.R., Roberts, R., Krentz, K.A., Bissig, D., Talreja, D., Kumar, A., et al., “Catalase Therapy Corrects Oxidative Stress-Induced Pathophysiology in Incipient Diabetic Retinopathy”, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 56, 5, 2015, 3095.
- [39] Giordano, C.R., Mueller, K.L., Terlecky, L.J., Krentz, K.A., Bollig, A., Terlecky, S.R., et al., “A targeted enzyme approach to sensitization of tyrosine kinase inhibitor-resistant breast cancer cells”, *Experimental Cell Research*, 318, 16, 2012, 2014–2021.
- [40] Bao, B., Mitrea, C., Wijesinghe, P., Marchetti, L., Girsch, E., Farr, R.L., et al., “Treating triple negative breast cancer cells with erlotinib plus a select antioxidant overcomes drug resistance by targeting cancer cell heterogeneity”, *Scientific Reports*, 7, 1, 2017, 44125.
- [41] Mitrea, C., Wijesinghe, P., Dyson, G., Kruger, A., Ruden, D.M., Drghici, S., et al., “Integrating 5hmC and gene expression data to infer regulatory mechanisms”, *Bioinformatics*, 34, 9, 2018, 1441–1447.
- [42] Andrews S., <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>, 2010, FASTQC, “A quality control tool for high throughput sequence data”.
- [43] Kim, D., Langmead, B., & Salzberg, S.L., “HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements”, *Nature Methods*, 12, 4, 2015, 357–360.
- [44] Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., et al., “The Sequence Alignment/Map format and SAMtools”, *Bioinformatics*, 25, 16, 2009, 2078–2079.
- [45] Liao, Y., Smyth, G.K., & Shi, W., “featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features”, *Bioinformatics*, 30, 7, 2014, 923–930.
- [46] Robinson, M.D., McCarthy, D.J., & Smyth, G.K., “edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data”, *Bioinformatics*, 26, 1, 2010, 139–140.
- [47] Ritchie, M.E., Phipson, B., Wu, D., Hu, Y., Law, C.W., Shi, W., et al., “limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studie”, *Nucleic Acids Research*, 43, 7, 2015, e47–e47.
- [48] Raudvere, U., Kolberg, L., Kuzmin, I., Arak, T., Adler, P., Peterson, H., et al., “g:Profiler: a web server for functional enrichment analysis and conversions of gene lists (2019 update)”, *Nucleic Acids Research*, 47, W1, 2019, W191–W198.
- [49] The Gene Ontology C., “The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong”, *Nucleic Acids Research*, 47, D1, 2019, D330–D338.
- [50] Androutsopoulos, V.P., Tsatsakis, A.M., Spandidos, D.A., “Cytochrome P450 CYP1A1: wider roles in cancer progression and prevention” *BMC Cancer*, 9, 1, 2009, 187.



- [51] Stading, R., Chu, C., Couroucli, X., Lingappan, K., & Moorthy, B., "Molecular role of cytochrome P4501A enzymes in oxidative stress", *Current Opinion in Toxicology*, 20–21, 2020, 77–84.
- [52] Li, S., Lu, Z., Sun, R., Guo, S., Gao, F., Cao, B., et al., "The Role of SLC7A11 in Cancer: Friend or Foe?", *Cancers (Basel)*, 14, 13, 2022, 3059.
- [53] Granitzer, S., Widhalm, R., Forsthuber, M., Ellinger, I., Desoye, G., Hengstschlager, M., et al., "Amino Acid Transporter LAT1 (SLC7A5) Mediates MeHg-Induced Oxidative Stress Defense in the Human Placental Cell Line HTR-8/SVneo", *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 4, 2021, 1707.
- [54] de la Ballina, L.R., Cano, S., Gonzalez, E., Bial, S., Estrach, S., Cailleteau, L., et al., "Amino Acid Transport Associated to Cluster of Differentiation 98 Heavy Chain (CD98hc) Is at the Cross-road of Oxidative Stress and Amino Acid Availability", *Journal of Biological Chemistry*, 291, 18, 2016, 9700–9711.
- [55] Fukai, T., & Ushio, M., "Cross-Talk between NADPH Oxidase and Mitochondria: Role in ROS Signaling and Angiogenesis", *Cells*, 9, 8, 2020, 1849.
- [56] Brown, N.S., & Bicknell, R., "Hypoxia and oxidative stress in breast cancer Oxidative stress - its effects on the growth, metastatic potential and response to therapy of breast cancer", *Breast Cancer Research*, 3, 5, 2001, 323.
- [57] Ushio, M., & Nakamura, Y., "Reactive oxygen species and angiogenesis: NADPH oxidase as target for cancer therapy", *Cancer Letters*, 266, 1, 2008, 37–52.
- [58] Stewart, M., Turley, H., Cook, N., Pezzella, F., Pillai, G., Ogilvie, D., et al., "The angiogenic receptor KDR is widely distributed in human tissues and tumours and relocates intracellularly on phosphorylation", *An immunohistochemical study, Histopathology*, 43, 1, 2003, 33–39.
- [59] Liu, D., Evans, I., Britton, G., & Zachary, I., "The zinc-finger transcription factor, early growth response 3, mediates VEGF-induced angiogenesis", *Oncogene*, 27, 21, 2008, 2989–2998.
- [60] Shimo, T., Nakanishi, T., Nishida, T., Asano, M., Kanyama, M., Kuboki, T., et al., "Connective Tissue Growth Factor Induces the Proliferation, Migration, and Tube Formation of Vascular Endothelial Cells In Vitro, and Angiogenesis In Vivo", *The Journal of Biochemistry*, 126, 1, 1999, 137–145.
- [61] Vegfors, J., Ekman, A.K., Stoll, S.W., Bivik, C., & Enerback, C., "Psoriasis (S100A7) promotes stress-induced angiogenesis", *British Journal of Dermatology*, 175, 6, 2016, 1263–1273.
- [62] Zhang, J., Cao, R., Zhang, Y., Jia, T., Cao, Y., & Wahlberg, E., "Differential roles of PDGFR- $\alpha$  and PDGFR- $\beta$  in angiogenesis and vessel stability", *The FASEB Journal*, 23, 1, 2009, 153–163.
- [63] Xu, X., Shen, L., Li, W., Liu, X., Yang, P., & Cai, J., "ITGA5 promotes tumor angiogenesis in cervical cancer", *Cancer Medicine*, 12, 10, 2023, 11983–11999.
- [64] Cao, R., Farnebo, J., Kurimoto, M., & Cao, Y., "Interleukin-18 acts as an angiogenesis and tumor suppressor", *The FASEB Journal*, 13, 15, 1999, 2195–2202.
- [65] Modi, S.J., & Kulkarni, V.M., "Vascular Endothelial Growth Factor Receptor (VEGFR-2)/KDR Inhibitors: Medicinal Chemistry Perspective", *Medicine in Drug Discovery*, 2, 2019, 100009.



- [66] Zhang, X., Ge, Y.L., Zhang, S.P., Yan, P., & Tian, R.H., "Downregulation of KDR expression induces apoptosis in breast cancer cells", *Cellular & Molecular Biology Letters*, 19, 4, 2014, 527–541.
- [67] Suzuki, T., Inoue, A., Miki, Y., Moriya, T., Akahira, J., Ishida, T., et al., "Early growth responsive gene 3 in human breast carcinoma: a regulator of estrogen-mediated invasion and a potent prognostic factor", *Endocrine-Related Cancer*, 14, 2, 2007, 279–292.
- [68] Shen, Y.W., Zhou, Y.D., Chen, H.Z., Luan, X., & Zhang, W.D., "Targeting CTGF in Cancer: An Emerging Therapeutic Opportunity", *Trends in Cancer*, 7, 6, 2021, 511–524.
- [69] Kim, H., & Son, S., "Therapeutic potential of connective tissue growth factor (CTGF) in triple-negative breast cancer", *Annals of Oncology*, 30, 2019, i8.
- [70] Zhou, Y., Yu, Y., Yang, H., Yang, H., Huo, Y., Huang, Y., et al., "Extracellular ATP promotes angiogenesis and adhesion of TNBC cells to endothelial cells via upregulation of CTGF", *Cancer Science*, 113, 7, 2022, 2457–2471.
- [71] Nasser, M.W., Wani, N.A., Ahirwar, D.K., Powell, C.A., Ravi, J., Elbaz, M., et al., "RAGE Mediates S100A7-Induced Breast Cancer Growth and Metastasis by Modulating the Tumor Microenvironment", *Cancer Research*, 75, 6, 2015, 974–985.
- [72] Joglekar, M., Van Laere, S., Bourne, M., Moalwi, M., Finetti, P., Vermeulen, P.B., et al., "Characterization and Targeting of Platelet-Derived Growth Factor Receptor alpha (PDGFRA) in Inflammatory Breast Cancer (IBC)", *Neoplasia*, 19, 7, 2017, 564–573.
- [73] Jansson, S., Bendahl, P.O., Grabau, D.A., Falck, A.K., Fernö, M., Aaltonen, K., et al., "The Three Receptor Tyrosine Kinases c-KIT, VEGFR2 and PDGFR $\alpha$ , Closely Spaced at 4q12, Show Increased Protein Expression in Triple-Negative Breast Cancer", *PLoS One*, 9, 7, 2014, e102176.
- [74] Jansson, S., Aaltonen, K., Bendahl, P.O., Falck, A.K., Karlsson, M., Pietras, K., et al., "The PDGF pathway in breast cancer is linked to tumour aggressiveness, triple-negative subtype and early recurrence", *Breast Cancer Research and Treatment*, 169, 2018, 231–241.
- [75] Sun, Y., Zhao, C., Ye, Y., Wang, Z., He, Y., Li, Y., et al., "High expression of fibronectin 1 indicates poor prognosis in gastric cancer", *Oncology Letters*, 19, 1, 2019, 93–102.
- [76] Zhang, X.X., Luo, J.H., & Wu, L.Q., "FN1 overexpression is correlated with unfavorable prognosis and immune infiltrates in breast cancer", *Frontiers in Genetics*, 13, 2022, 913659.
- [77] Suman, S., Basak, T., Gupta, P., Mishra, S., Kumar, V., Sengupta, S., et al., "Quantitative proteomics revealed novel proteins associated with molecular subtypes of breast cancer", *Journal of Proteomics*, 148, 2016, 183–193.
- [78] Yaqoob, U., Jagavelu, K., Shergill, U., de Assuncao, T., Cao, S., & Shah, V.H., "FGF21 Promotes Endothelial Cell Angiogenesis through a Dynamin-2 and Rab5 Dependent Pathway", *PLoS One*, 9, 5, 2014, e98130.
- [79] Segarra, M., Ohnuki, H., Maric, D., Salvucci, O., Hou, X., Kumar, A., et al., "Semaphorin 6A regulates angiogenesis by modulating VEGF signaling", *Blood*, 120, 19, 2012, 4104–4115.
- [80] Cai, Y.C., Yang, H., Wang, K.F., Chen, T.H., Jiang, W.Q., & Shi, Y.X., "ANGPTL4 overexpression inhibits tumor cell adhesion and migration and predicts favorable prognosis of triple-negative breast cancer", *BMC Cancer*, 20, 2020, 878.