

Como citar este artigo:

Melo CM, Prado HP, Attie GA, Ruiz DL, Girão MJ, Pinhal MA. Investigação in silico dos genes correlacionados   heparanase nos diferentes subtipos de câncer de mama. *einstein* (São Paulo). 2020;18:eAO5447. http://dx.doi.org/10.31744/einstein_journal/2020AO5447

Autor correspondente:

Maria Aparecida Silva Pinhal
Universidade Federal de São Paulo
Rua Tr s de Maio 100, 4  andar
Vila Clementino
CEP: 04044-020 – São Paulo, SP, Brasil
Tel.: (11) 5576-4472
E-mail: maspinhal@yahoo.com.br

Data de submissão:

21/10/2019

Data de aceite:

16/2/2020

Conflitos de interesse:

não há.

Copyright 2020

Esta obra está licenciada sob
uma Licença *Creative Commons*
Atribui o 4.0 Internacional.

ARTIGO ORIGINAL

Investiga o *in silico* dos genes correlacionados   heparanase nos diferentes subtipos de câncer de mama

In silico investigation of heparanase-correlated genes in breast cancer subtypes

Carina Mucciolo Melo¹, Henrique Pereira Prado², Gabriela Araújo Attie², Daniel Lacaz Ruiz³, Manoel João Batista Castello Gir o², Maria Aparecida da Silva Pinhal^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina do ABC, Santo André, SP, Brasil.

² Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

³ McMaster University, Hamilton, ON, Canada.

DOI: 10.31744/einstein_journal/2020AO5447

RESUMO

Objetivo: Investigar os genes que podem estar relacionados aos mecanismos que modulam a heparanase-1. **Métodos:** A análise foi realizada na Universidade Federal de São Paulo, utilizando dados fornecidos por: *The Cancer Genome Atlas*, *University of California Santa Cruz Genome Browser*, *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathway Database*, *Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery Bioinformatics Database* e os softwares *cBioPortal* e *Ingenuity Pathway Analysis*. **Resultados:** Usando o perfil de expressão de RNA mensageiro de diferentes subtipos moleculares de câncer de mama, propusemos que a heparanase-1 esteve correlacionada com a progressão tumoral. Além disso, os genes analisados apresentaram coexpressão com heparanase-1. Os resultados mostraram que a heparanase-1 coexpressa com proteína adaptadora 1 da fosfoinositídeo 3-quinase, lectina 7 tipo Ig de liga o ao ácido siálico e receptor 1 do tipo imunoglobulina associado a leucócitos, estes genes estão diretamente relacionados à evasão do sistema imune durante a progressão do câncer de mama. Além disso, a cathepsina L foi coexpressa com a heparanase-1 e transformou a forma inativa da heparanase-1 em heparanase-1 ativa, desencadeando o remodelamento da matriz extracelular, o que contribuiu para a intera o do tumor com o ambiente tumoral. **Conclusão:** A análise utilizando bioinformática fornece evidências de possíveis mecanismos relacionados ao desenvolvimento do câncer de mama. Genes de evasão do sistema imune foram coexpressos com a heparanase-1, uma enzima relacionada à progressão tumoral.

Descritores: Heparanase; Biologia computacional; Neoplasias da mama

ABSTRACT

Objective: To investigate the possible genes that may be related to the mechanisms that modulate heparanase-1. **Methods:** The analysis was conducted at *Universidade Federal de São Paulo*, on the data provided by: *The Cancer Genome Atlas*, *University of California Santa Cruz Genome Browser*, *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathway Database*, *Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery Bioinformatics Database* and the softwares *cBioPortal* and *Ingenuity Pathway Analysis*. **Results:** Using messenger RNA expression pattern of different molecular subtypes of breast cancer, we proposed that heparinase-1 was co-related with its progression. In addition, genes that were analyzed presented co-expression with heparanase-1. The results that showed that heparanase-1 co-expressed with phosphoinositide 3-kinase adapter protein 1, sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin 7, and leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 are directed related with immune system evasion during breast

cancer progression. Furthermore, cathepsin L was co-expressed with heparanase-1 and transformed inactive heparanase-1 form into active heparanase-1, triggering extracellular matrix remodeling, which contributes to enhanced tumor-host interaction of the tumor. **Conclusion:** The signaling pathway analysis using bioinformatics tools gives supporting evidence of possible mechanisms related to breast cancer development. Evasion genes of the immune system co-expressed with heparanase-1, a enzyme related with tumor progression.

Keywords: Heparanase-1; Computational biology; Breast neoplasms

INTRODUÇÃO

A publicação do primeiro texto do genoma humano em 2001 marcou o início de uma nova era na biologia: a era da bioinformática. Dada a enorme quantidade de informações que estão sendo digitalizadas, os dados genômicos só podem ser claramente entendidos com a ajuda de ferramentas de ciência de dados e bioinformática, como programas de análise de vias. Uma vez que a quantidade dessas bases de dados cresce exponencialmente, a dependência dos profissionais de saúde e pesquisadores em relação a essas ferramentas computacionais parece estar sempre aumentando.⁽¹⁾ Embora a análise de dados em bases virtuais amplamente disponíveis seja um recurso útil, a acessibilidade ao uso de dados de bioinformática não é amplamente divulgada em toda a comunidade científica, devido à *expertise* necessária para usar os bancos de dados.

Um dos objetivos deste estudo é fornecer documentação norteadora para os profissionais de saúde sobre como responder a questões biológicas relacionadas à expressão genética específica e sua correlação com outras vias de sinalização.

Propusemos realizar este estudo em ambas as isoformas da heparanase – a heparanase-1 (HPSE) e a heparanase-2 (HPSE2) –, no contexto do câncer de mama.

A HPSE é uma endo-beta-glucuronidase que participa na clivagem das cadeias do sulfato de heparano e da heparina. Os oligossacarídeos gerados pela ação enzimática da HPSE interagem com citocinas, fatores angiogênicos e fatores de crescimento, ativando processos relacionados à progressão do tumor. Além disso, estudos recentes mostraram a correlação da HPSE com a formação de exossomos, a ativação do sistema imune, a autofagia e a quimiorresistência, demonstrando sua importância na modulação da ativação cruzada (*crosstalk*) entre as células tumorais e o ambiente tumoral. Como resultado desse achado, a HPSE é um alvo para o desenvolvimento de novos medicamentos para o câncer. O tratamento anti-HPSE pode ser usado para estimular as células T e iniciar respostas imunes anticâncer.^(2,3)

Ao contrário da HPSE, a HPSE2 possui propriedade catalítica, e sua função ainda é desconhecida. No entanto, sabe-se que a HPSE2 interage com heparina e com sulfato de heparano, podendo ser usada para dificultar os efeitos da HPSE.⁽⁴⁾

Apesar da importância da HPSE e sua contribuição para a carcinogênese, a angiogênese e a inflamação, há uma quantidade limitada de trabalhos que detalham como outros genes podem ser correlacionados com os mecanismos de ação da HPSE. Para responder a essa pergunta, usamos como fontes de análise bases de dados genômicos disponíveis gratuitamente online.

Também a correlação de HPSE e HPSE2 em diferentes tipos de câncer de mama humano foi abordada para responder se ambas as heparanases poderiam ser um marcador útil para diferenciar esses subtipos de câncer.

OBJETIVO

Investigar os genes que podem estar relacionados aos mecanismos que modulam a heparanase-1.

MÉTODOS

Bases de dados genômicos

Uma análise foi conduzida na Universidade Federal de São Paulo, em São Paulo (SP), em dados fornecidos pelas bases *The Cancer Genome Atlas* (TCGA), *University of California Santa Cruz* (UCSC) *Genome Browser*, *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *Pathway Database*, *Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery* (DAVID) e *Bioinformatics Database*. As análises foram realizadas de 2017 até 2019. Este estudo não necessitou de aprovação do Comitê de Ética.

Serviços em nuvem

Os serviços em nuvem via internet foram utilizados para analisar as bases de dados genômicos: um aplicativo baseado na internet cBioPortal, para análise da base de dados TCGA.

Coleta de dados da coorte

Foram coletados dados de pacientes com câncer de mama como parte do projeto do TCGA sobre carcinoma invasivo de mama e classificados de acordo com o subtipo (luminal A, luminal B, receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano – HER2 – positivo e triplo-negativo).

Análise de correlação da heparanase e genes coexpressos

Serviços em nuvem do cBioPortal relacionados às bases de dados genômicos foram utilizados para analisar a expressão gênica da coorte selecionada.

Análise das vias de sinalização

As vias de genes coexpressos com as isoformas de HPSE foram analisadas utilizando o software de vias de transdução de sinal *Ingenuity Pathway Analysis* (IPA).

Teste de significância estatística

O software (SPSS Inc[®], Illinois, USA), versão 17.0, foi usado para analisar o conjunto de dados fornecido pelas bases de dados genômicos, utilizando um limiar de significância estatística de 5% ($p \leq 0,05$). Todos os conjuntos de dados foram importados após serem reorganizados em tabelas. O teste Kolmogorov-Smirnov e o teste *t* de Student foram aplicados por este software.

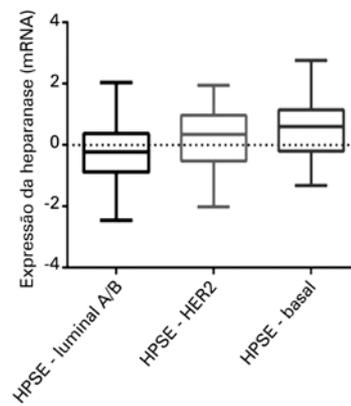
RESULTADOS

Primeiramente, analisamos os dados baixados de www.cbioportal.org e pertinentes ao câncer de mama invasivo (TCGA, Nature 2012).^(5,6) Os dados coletados referem-se à expressão de RNA mensageiro (mRNA) para HPSE e HPSE2 em diferentes subtipos de câncer de mama, como luminal A/B ($n=321$), triplo-negativo/basal ($n=81$), e HER2 ($n=58$) (Figura 1).

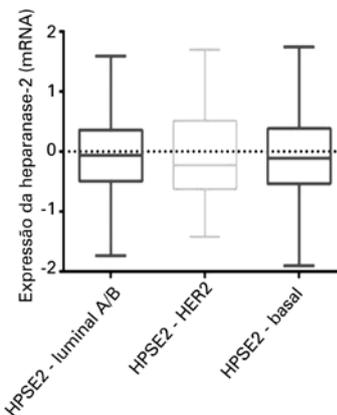
Houve diferença estatisticamente significativa entre as expressões de HPSE em vários subtipos de câncer de mama. No entanto, nenhuma diferença foi detectada para a HPSE2.

Considerando-se que a HPSE2 não mostrou correlação significativa entre os subtipos de tumor, usamos a HPSE para avaliar genes coexpressos. A análise da base de dados TCGA mostrou genes que se correlacionavam positivamente com a expressão de HPSE. Isso incluiu a proteína adaptadora 1 da fosfoinositídeo-3-quinase (PIK3AP1), as lectinas semelhantes à imunoglobulina de ligação ao ácido siálico (SIGLEC7), o receptor 1 imunoglobulina-like associado a leucócitos (LAIR1), e a catepsina L (CTSL).

A PIK3AP1 desempenha múltiplas funções na resposta imune e tem papel crucial como componente a jusante de vários receptores relacionados à imunidade, em muitos tipos de células. Nas células B, PIK3AP1 liga o receptor de células B à subunidade p85 da fosfoinositídeo-3-quinase (PI3K), sendo responsável pela maturação celular, enquanto nas células *natural killer* (NK), essa proteína atua como mediadora entre os receptores inibidores de NK e PI3K/proteína quinase B alfa (AKT).⁽⁷⁻⁹⁾



A



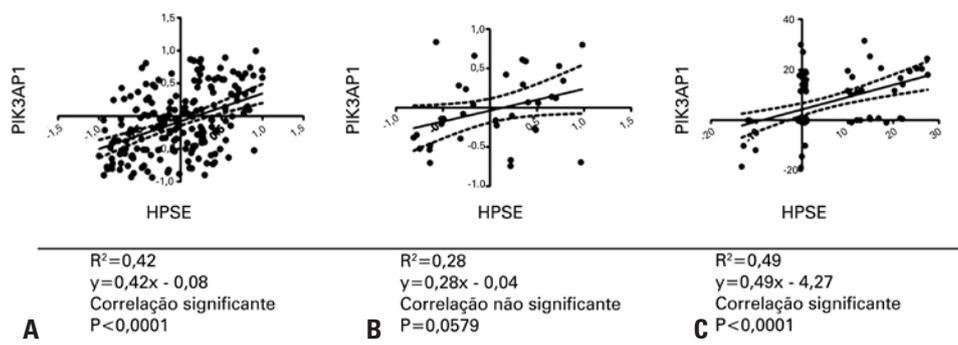
B

mRNA: RNA mensageiro; HPSE: heparanase-1; HER2: receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano; HPSE2: heparanase-2.

Figura 1. Expressão do RNA mensageiro da heparanase-1 e da heparanase-2 em diferentes subtipos de câncer de mama. Expressão relativa do RNA mensageiro da (A) heparanase-1 e (B) heparanase-2. Análise foi realizada nos subtipos: câncer de mama luminal A/B ($n=321$), com receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano amplificado ($n=58$) e basal/triplo-negativo ($n=81$). Os dados foram obtidos na base de dados do *The Cancer Genome Atlas Breast Carcinoma* (2012)

A figura 2 mostra correlação significativa entre o aumento da expressão de HPSE e a expressão de PIK3AP1 nos subtipos de tumor A/B luminal e triplo-negativo. No entanto, não observamos correlação significativa entre HPSE e PIK3AP1 em tumores com HER2 amplificado, indicados por um coeficiente R^2 não significativo e valor de p .

As SIGLEC7 são receptores inibitórios encontrados nas células NK. Uma vez ligados ao ácido siálico, as SIGLEC7 causam uma cascata a jusante, que impede a degranulação das células NK.⁽¹⁰⁾ Foi observada correlação positiva significativa entre HPSE e SIGLEC7 no câncer de mama luminal A/B, com HER2 amplificado e triplo-negativo ($y=0,55x-0,24$; $R^2=0,51$; $p=3,06 \times 10^{-76}$; $n=460$; triplo-negativo, $y=0,1191x+0,5550$; $R^2=0,52$; $p=0,0003$; HER2 amplificado, $y=0,1387x+0,6429$; $R^2=0,6509$; $p<0,0001$; Luminal, $y=0,003224x+0,4915$;



PIK3AP1: proteína adaptadora 1 da fosfoinosítido-3-cinase; HPSE: heparanase-1.

Figura 2. Correlação entre heparanase-1 e proteína adaptadora 1 da fosfoinosítido-3-cinase em diferentes subtipos de câncer de mama: (A) luminal A/B (n=321), (B) amplificado (n=58) e (C) triplo-negativo (n=81)

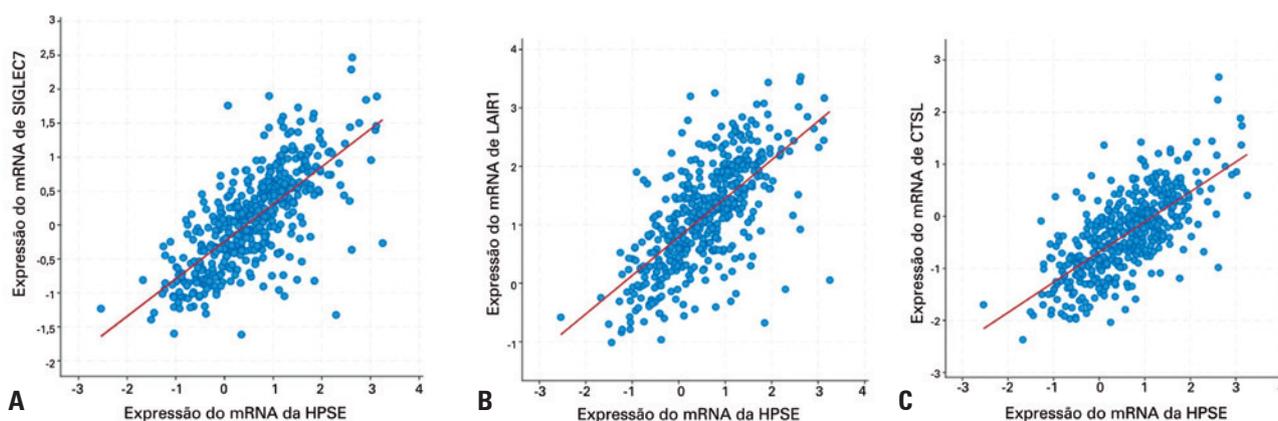
$R^2=0,5019$; $p<0,0001$) (Figura 3A). É importante enfatizar que as células tumorais superexpressam ligantes sializados, o que resulta em uma inibição aumentada das respostas imunes.⁽¹¹⁾

O LAIR1 inibidor é uma glicoproteína transmembrana, que, por sua vez, é um receptor do colágeno, o qual promove a supressão das respostas imunes. O LAIR1 é expresso na maioria das células imunes, incluindo células NK, linfócitos T e B, eosinófilos e basófilos.⁽¹²⁾

Houve correlação direta entre a expressão de LAIR1 e HPSE ($y=0,66x+0,79$; $R^2=0,46$; $p=1,24 \times 10^{-63}$; $n=460$; triplo-negativo, $y=0,5386x-0,08710$; $R^2=0,5204$; $p=0,0014$; HER2 amplificado; $y=0,6002x+0,09642$; $R^2=0,5918$; $p=0,0003$; Luminal, $y=0,4148x+0,02971$; $R^2=0,4061$; $p<0,0001$), como mostrado na figura 3B.

A CTSL é uma protease da cisteína,⁽¹³⁾ que mostra correlação positiva com HPSE em três subtipos de carcinoma da mama, luminal A/B, com HER2 amplificado, e triplo-negativo ($y=0,58x-0,69$; $R^2=0,48$, $p=6,17 \times 10^{-65}$, $n=460$; basal subtype, $y=0,4291x-0,005506$; $R^2=0,4691$; $p=0,0034$; HER2-enriched, $y=0,3187x-0,1288$, $R^2=0,3480$; $p=0,0437$; Luminal, $y=0,3936x+0,003278$, $R^2=0,4144$, $p<0,0001$) (Figura 3C).

A análise da base de dados TCGA mostrou que a expressão dos genes HPSE, PIK3AP1, SIGLEC7, LAIR1 e CTSL tem correlações positivas de acordo com os subtipos de câncer de mama. Enquanto HPSE e CTSL estão envolvidos na remodelação da matriz extracelular (MEC), PIK3AP1, SIGLEC7 e LAIR1 fazem parte das vias de sinalização envolvidas na inibição do sistema imune.⁽¹²⁻¹⁵⁾



SIGLEC7: lectinas semelhantes à imunoglobulina de ligação ao ácido siálico; HPSE: heparanase-1; mRNA: RNA mensageiro; LAIR1: receptor 1 imunoglobulina-like associado a leucócitos; CTSL: catepsina L.

Figura 3. Coexpressão de RNA mensageiro com heparanase-1. (A) Expressão de lectinas semelhantes à imunoglobulina de ligação ao ácido siálico em relação à expressão do RNA mensageiro da heparanase-1. Os pontos de dados indicam paciente com câncer de mama. A linha de regressão é modelada por $y=0,55x-0,24$, $R^2=0,51$, $p=3,06 \times 10^{-76}$, $n=460$. (B) Expressão do RNA mensageiro do receptor imunoglobulina-like associado a leucócitos, em relação à expressão do RNA mensageiro da heparanase-1. Os pontos de dados indicam paciente com carcinoma de mama. A linha de regressão é modelada por $y=0,66x+0,79$, $R^2=0,46$, $p=1,24 \times 10^{-63}$, $n=460$. (C) Expressão do RNA mensageiro catepsina L em relação à expressão do RNA mensageiro da heparanase-1. Os pontos de dados indicam pacientes com câncer de mama. A linha de regressão é modelada por $y=0,58x-0,69$, $R^2=0,48$, $p=6,17 \times 10^{-65}$, $n=460$

I DISCUSSÃO

Nos últimos anos, tem sido grande o progresso para esclarecer alguns mecanismos de evasão imunológica e carcinogênese. Os conceitos básicos desse processo envolvem células imunes, que apresentam receptores capazes de evitar uma exacerbação inflamatória, a qual ocorre durante o desenvolvimento do tumor. Os mesmos mecanismos que previnem doenças autoimunes também podem ser utilizados para diminuir as respostas antitumorais.⁽¹⁵⁾

A via de sinalização mediada por PI3K promove a fosforilação de AKT, resultando em um evento crucial na tumorigênese. A AKT ativa promove a localização do fator de transcrição FOXO O1, beta-catenina, entre outros, para o citoplasma, modulando mecanismos relacionados à proliferação celular, à apoptose e à metástase.⁽¹⁴⁻¹⁷⁾

O adaptador de célula B para PIK3AP1, também chamado BCAP, é uma proteína de sinalização que ativa a via PI3K a jusante da sinalização dos receptores celulares em células B e de receptor tipo Toll (TLR) em macrófagos. A PIK3AP1 se liga à subunidade p85 reguladora da classe I PI3K e é uma grande proteína de múltiplos domínios.⁽¹⁶⁾

A PIK3AP1 está envolvida em múltiplas respostas dos receptores e confere respostas variadas, dependendo do tipo de célula. A expressão de PIK3AP1 envolve a ativação de TLR que possuem importantes funções no processo inflamatório, na regulação da resposta imune e na proliferação celular. Os TLR ativados promovem a ativação da via PIK3AP1, que leva à produção de fator nuclear kappa B (NF- κ B), regulando a expressão de citocinas por meio de vários complexos, incluindo MyD88, TIRAP/Mai e TRF. A ativação da via NF- κ B solicita uma resposta do sistema imune adaptativo, pela produção de citocinas inflamatórias, como interleucina (IL) 1, IL-8 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), entre outros fatores pró-inflamatórios, principalmente nas células circulantes, como as NK e os macrófagos. O NF- κ B tem papel fundamental na regulação da resposta imune durante uma infecção bacteriana ou viral. A regulação incorreta do NF- κ B leva ao desenvolvimento de tumores e de doenças inflamatórias e autoimunes.^(14,17,18)

O receptor SIGLEC7, presente nas células NK e macrófagos, liga-se a conjugados de glicol alternados na superfície das células tumorais. Essa interação impede que as células NK provoquem a morte de células tumorais por desgranulação.⁽¹⁹⁾ É interessante notar que foi observada expressão aumentada de SIGLEC7 em macrófagos que residem no microambiente tumoral.^(19,20) As SIGLEC7 presentes em monócitos induzem a produção de fatores inflamatórios, como TNF- α , IL-1 α ,

IL-6, IL-8, MIP-1 β .⁽¹⁰⁾ Além disso, patógenos e células tumorais que superexpressam AS e ligantes de carboidratos de SIGLEC7 contribuem para a inibição de células NK e linfócitos T. Portanto, as SIGLEC7 parecem estar relacionadas ao escape tumoral.⁽¹⁹⁾

O LAIR1 interage com o colágeno encontrado na MEC dos tumores, inibindo a citotoxicidade de células NK e linfócitos T. Além disso, os tecidos obtidos do câncer do colo do útero humano apresentam maior expressão em comparação com os tecidos normais, como verificado na expressão da HPSE.^(12,21,22)

A CTSL cliva vários componentes da MEC, como fibronectina, colágeno e laminina. Sabe-se também que a CTSL processa a pró-HPSE (inativa) em HPSE (ativa), por meio de um mecanismo proteolítico, sendo que ambos os complexos proteicos são secretados para o meio extracelular. A superexpressão dessas enzimas é vista em vários tipos de tumores, como glioma, melanoma e câncer de fígado, mama e próstata. A HPSE e a CTSL são fatores importantes no remodelamento da MEC.⁽¹³⁾ Zhang et al., verificaram que a CTSL e a HPSE estavam aumentadas no câncer de ovário, e ambas estavam correlacionadas à progressão do tumor.⁽²³⁾

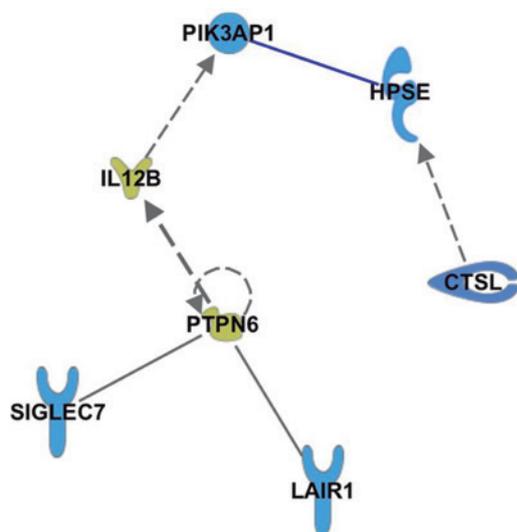
A CTSL parece ter papéis importantes na tumorigênese tanto no núcleo quanto na MEC. A CTSL secretada é capaz de degradar componentes da MEC, como laminina, colágeno tipo I e IV, fibronectina, elastina e E-caderina, desempenhando papel importante na remodelação da MEC. Além disso, a CTSL participa da ativação proteolítica do plasminogênio da uroquinase e da catepsina D, que atuam como fatores tumorigênicos.^(13,24,25) A CTSL no núcleo é responsável pelo processamento do Cux p200, que leva à produção de genes mesenquimais. Também degrada o S38P1, que ativa o reparo do DNA.⁽¹³⁾

Outros fatores que podem afetar o microambiente tumoral são hipóxia e acidose, que contribuem para a secreção de CTSL a partir do lisossomo, facilitando as metástases tumorais e aumentando a degradação proteolítica da MEC e da membrana basal.⁽¹³⁾

A figura 4 mostra possíveis interações proteicas entre HPSE, PIK3AP1, SIGLEC7, LAIR1 e CTSL, que inferimos da análise de vias usando o software IPA. PIK3AP1 e CTSL são diretamente relacionados à HPSE. As vias de sinalização da PI3K/AKT acionam a expressão de HPSE e induzem transição de epitelial a mesenquimal, sinalizando metástases de hepatocarcinoma.⁽²⁶⁾ A CTSL está envolvida na ativação da HPSE e ambas as proteínas participam ativamente no processo de desenvolvimento do tumor.⁽²⁷⁾ Além disso, LAIR1 e SIGLEC7 se correlacionam com HPSE, e a interação entre SIGLEC7 e HPSE parece ser mediada

por proteína tirosina fosfatases não receptoras tipo 6 (PTPN6) e IL-12 β . Baixos níveis de PTPN6, também conhecida como região de fosfatase 1 com domínio contendo homologia da região Src 2 (SHP-1), são preditores de melhora da sobrevida livre de doença e podem ser biomarcadores úteis para prever o desfecho clínico de pacientes com câncer de mama.⁽²⁸⁾ Curiosamente, a PTPN6 pode ser autorregulada e é essencial para a função inibitória das células NK.⁽²⁹⁾ A citocina IL-12 β parece ser crucial na inflamação e nas respostas imunes adaptativas. Observou-se que altos níveis de IL-12 predispunham as pacientes ao câncer de mama.⁽³⁰⁾ A SIGLEC7 e o LAIR1 estão diretamente envolvidos na inibição da células NK, macrófagos, células T e B.

Aparentemente, esse processo envolve as SIGLEC7 e o LAIR1, que participam da evasão imune, que pode ser modulada por PTPN6 e IL-12 β por meio da via PI3K.



HPSE: heparanase; PIK3AP1: proteína adaptadora 1 da fosfoinositídeo-3-quinase; CTSL: ctepsina L; SIGLEC7: lectinas semelhantes à imunoglobulina de ligação ao ácido siálico; LAIR1: receptor 1 imunoglobulina-like associado a leucócitos.

Figura 4. Representação esquemática da relação entre heparanase, proteína adaptadora 1 da fosfoinositídeo-3-quinase, ctepsina L, lectinas semelhantes à imunoglobulina de ligação ao ácido siálico e receptor 1 imunoglobulina-like associado a leucócitos

Limitações

Uma limitação importante da análise da correlação genética é que os genes selecionados foram encontrados em base de dados, logo a lista de genes é predeterminado. Além disso, a análise das vias genômicas é limitada a um repertório de genes conhecidos, que foram adicionados à base de dados.

Apesar de os resultados mostrarem correlação entre HPSE e outros genes, a pesquisa somente foi conduzida *in silico*. Pesquisas futuras *in vivo* or *in vitro* são altamente desejáveis para validar os resultados. A diferença entre o número de amostras de subtipos de câncer de mama varia entre luminal A/B (n=321), HER2 (n=58) e triplo-negativo (n=81).

CONCLUSÃO

A análise da via de sinalização utilizando ferramentas de bioinformática fornece evidências que apoiam possíveis mecanismos relacionados ao desenvolvimento do câncer de mama. A expressão da heparanase-1 está correlacionada com lectinas semelhantes à imunoglobulina de ligação ao ácido siálico, receptor 1 imunoglobulina-like associado a leucócitos, proteína adaptadora 1 da fosfoinositídeo-3-quinase e ctepsina L. Os três primeiros são diretamente relacionados à evasão do sistema imune durante a progressão do câncer de mama. Já a ctepsina L transforma a forma inativa de heparanase-1 em heparanase-1 ativa, ambas desencadeando o remodelamento da matriz extracelular e contribuindo para intensificar a interação tumor-hospedeiro do tumor.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Ismael Dale Cotrim Guerreiro da Silva, por propiciar as ferramentas computacionais utilizadas neste estudo.

Declaração de financiamento

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, auxílio no. 2016/01357-8; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo 304796/2018-2; e à bolsa com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). O papel de todas as fontes de financiamento limitou-se ao suporte financeiro apenas.

INFORMAÇÃO DOS AUTORES

Melo CM: <http://orcid.org/0000-0001-8377-0729>
 Prado HP: <http://orcid.org/0000-0001-5247-5663>
 Attie GA: <http://orcid.org/0000-0003-3606-8990>
 Ruiz DL: <http://orcid.org/0000-0003-0298-3218>
 Girão MJ: <http://orcid.org/0000-0002-1206-9377>
 Pinhal MA: <http://orcid.org/0000-0003-4001-1663>

I REFERÊNCIAS

- Honts JE. Evolving strategies for the incorporation of bioinformatics within the undergraduate cell biology curriculum. *Cell Biol Educ*. 2003;2(4):233-47.
- Sanderson RD, Elkin M, Rapraeger AC, Ilan N, Vlodavsky I. Heparanase regulation of cancer, autophagy and inflammation: new mechanisms and targets for therapy. *FEBS J*. 2017;284(1):42-55. Review.
- Arvat G, Weissmann M, Ilan N, Vlodavsky I. Heparanase and cancer progression: New directions, new promises. *Hum Vaccin Immunother*. 2016;12(9):2253-6.
- Vlodavsky I, Gross-Cohen M, Weissmann M, Ilan N, Sanderson RD. Opposing functions of heparanase-1 and heparanase-2 in Cancer progression. *Trends Biochem Sci*. 2018;43(1):18-31. Review.
- Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross BE, Sumer SO, Aksoy BA, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov*. 2012;2(5):401-4. Erratum in: *Cancer Discov*. 2012;2(10):960.
- Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, Dresdner G, Gross B, Sumer SO, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal*. 2013;6(269):p11.
- Jellusova J, Rickert RC. The PI3K pathway in B cell metabolism. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2016;51(5):359-78. Review.
- Wong KA, Wilson J, Russo A, Wang L, Okur MN, Wang X, et al. Intersectin (ITSN) family of scaffolds function as molecular hubs in protein interaction networks. *PLoS One*. 2012;7(4):e36023.
- Mace EM. Phosphoinositide-3-Kinase Signaling in Human Natural Killer Cells: New Insights from Primary Immunodeficiency. *Front Immunol*. 2018;9:445. Review.
- Varchetta S, Brunetta E, Roberto A, Mikulak J, Hudspeth KL, Mondelli MU, et al. Engagement of Siglec-7 receptor induces a pro-inflammatory response selectively in monocytes. *PLoS One*. 2012;7(9):e45821.
- Angata T, Varki A. Siglec-7: a sialic acid-binding lectin of the immunoglobulin superfamily. *Glycobiology*. 2000;10(4):431-8.
- Meyaard L. The inhibitory collagen receptor LAIR-1 (CD305). *J Leukoc Biol*. 2008;83(4):799-803. Review.
- Sudhan DR, Siemann DW. Cathepsin L targeting in cancer treatment. *Pharmacol Ther*. 2015;155:105-16. Review.
- Ni M, MacFarlane AW 4th, Toft M, Lowell CA, Campbell KS, Hamerman JA. B-cell adaptor for PI3K (BCAP) negatively regulates Toll-like receptor signaling through activation of PI3K. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(1):267-72.
- Vinay DS, Ryan EP, Pawelec G, Talib WH, Stagg J, Elkord E, et al. Immune evasion in cancer: mechanistic basis and therapeutic strategies. *Semin Cancer Biol*. 2015;35 Suppl:S185-98. Review.
- Carpentier SJ, Ni M, Duggan JM, James RG, Cookson BT, Hamerman JA. The signaling adaptor BCAP inhibits NLRP3 and NLRC4 inflammasome activation in macrophages through interactions with Flightless-1. *Sci Signal*. 2019;12(581):eaau0615.
- Song S, Chew C, Dale BM, Traum D, Peacock J, Yamazaki T, et al. A requirement for the p85 PI3K adapter protein BCAP in the protection of macrophages from apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. *J Immunol*. 2011;187(2):619-25.
- Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol*. 2014;5:461. Review.
- Macauley MS, Crocker PR, Paulson JC. Siglec-mediated regulation of immune cell function in disease. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(10):653-66. Review.
- Rego SL, Helms RS, Dréau D. Tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme activities and tumor-associated macrophages in breast cancer. *Immunol Res*. 2014;58(1):87-100. Review.
- Wang Y, Zhang X, Miao F, Cao Y, Xue J, Cao Q, et al. Clinical significance of leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor-1 expression in human cervical cancer. *Exp Ther Med*. 2016;12(6):3699-705.
- Saverino D, Fabbri M, Merlo A, Ravera G, Grossi CE, Ciccone E. Surface density expression of the leukocyte-associated Ig-like receptor-1 is directly related to inhibition of human T-cell functions. *Hum Immunol*. 2002;63(7):534-46.
- Zhang W, Yang HC, Wang Q, Yang ZJ, Chen H, Wang SM, et al. Clinical value of combined detection of serum matrix metalloproteinase-9, heparanase, and cathepsin for determining ovarian cancer invasion and metastasis. *Anticancer Res*. 2011;31(10):3423-8.
- Meyaard L, Hurenkamp J, Clevers H, Lanier LL, Phillips JH. Leukocyte-associated Ig-like receptor-1 functions as an inhibitory receptor on cytotoxic T cells. *J Immunol*. 1999;162(10):5800-4.
- Choong PF, Nadesapillai AP. Urokinase plasminogen activator system: a multifunctional role in tumor progression and metastasis. *Clin Orthop Relat Res*. 2003(415 Suppl):S46-58. Review.
- Zeng Y, Yao X, Chen L, Yan Z, Liu J, Zhang Y, et al. Sphingosine-1-phosphate induced epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma via an MMP-7/ syndecan-1/TGF- β autocrine loop. *Oncotarget*. 2016;7(39):63324-37.
- Vlodavsky I, Beckhove P, Lerner I, Pisano C, Meirovitz A, Ilan N, et al. Significance of heparanase in cancer and inflammation. *Cancer Microenviron*. 2012;5(2):115-32.
- Youssef G, Gillett C, Agbaje O, Crompton T, Montano X. Phosphorylation of NTRK1 at Y674/Y675 induced by TP53-dependent repression of PTPN6 expression: a potential novel prognostic marker for breast cancer. *Mod Pathol*. 2014;27(3):361-74.
- Viant C, Fenis A, Chicanne G, Payrastre B, Ugolini S, Vivier E. SHP-1-mediated inhibitory signals promote responsiveness and anti-tumour functions of natural killer cells. *Nat Commun*. 2014;5:5108.
- Kaarvatn MH, Vrbanec J, Kulic A, Knezevic J, Petricevic B, Balen S, et al. Single nucleotide polymorphism in the interleukin 12B gene is associated with risk for breast cancer development. *Scand J Immunol*. 2012;76(3):329-35.