

## **Proteólise como regulador da atividade biológica de polímeros de laminina: um evento molecular a ser considerado na inflamação e na tumorigênese**

*Proteolysis as a regulator of the biological activity of laminin polymers: a molecular event to be considered in inflammation and tumorigenesis*

Livia Bacelar<sup>1\*</sup>, Maria de Fátima Dias Costa<sup>2</sup>, Elisabete Freire<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Farmacêutica, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. UFBA

<sup>2</sup>Professora Titular do Departamento de Biofunção e do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. UFBA <sup>3</sup> Professora Adjunto do Departamento de Biorregulação e do Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. UFBA

### **Resumo**

**Introdução:** A glicoproteína laminina é normalmente encontrada em formas poliméricas que constituem o principal elemento formador das membranas basais. Apresenta diversos domínios de reconhecimento celular, sendo capaz de induzir várias respostas biológicas. Em situações patológicas, como crescimento tumoral ou inflamação, a matriz extracelular torna-se exposta à ação de proteases que, entre outros efeitos, podem degradar elementos da matriz. **Objetivo:** Neste estudo, serão discutidos os referenciais teóricos que norteiam a construção da hipótese de que a proteólise de polímeros de laminina, no contexto da inflamação ou crescimento tumoral, pode apresentar função reguladora associada à manutenção da saúde tecidual. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão da literatura, realizada a partir da seleção e análise de artigos originais e de revisão, publicados nos últimos dez anos, na base de dados Biblio. Figuras Literatura Internacional em Ciências da Saúde (PubMed). **Resultado:** A aplicação do descritor “Proteólise e membrana basal” possibilitou a seleção de 87 artigos. Entre estes, apenas 12 referiam a proteólise de elementos da membrana basal com descrição de atividade biológica associada a eles. A pesquisa, utilizando como descritor “Proteolysis and laminin”, permitiu a seleção de 70 artigos, dos quais apenas 9 estavam associados à questão de interesse. Entre os 9, 4 foram coincidentes com o resultado da primeira busca. Assim, um total de 17 artigos foi selecionado, sendo apenas 11 encontrados e utilizados para a construção do embasamento teórico da hipótese levantada. **Conclusão:** O presente artigo apresenta o racional e o embasamento teórico da construção da hipótese de que a proteólise de polímeros de laminina, no contexto da inflamação ou crescimento tumoral, pode apresentar função reguladora associada à manutenção da saúde tecidual. Consequentemente, o artigo constitui-se em ponto de partida para o desenvolvimento de novas pesquisas sobre o tema. O aprofundamento do conhecimento pode ser relevante no campo da biologia celular e do desenvolvimento, como também no campo da bioengenharia, considerando a possibilidade do uso.

**Palavras-chave:** Laminina. Proteólise. Polimerização.

### **Abstract**

**Introduction:** The laminin is a glycoprotein usually found in polymeric forms that constitutes the main element of basement membranes. This protein presents various cell recognition domains able to induce a variety of biological responses. In pathological conditions such as tumor growth, or inflammation, extracellular matrix becomes exposed to the action of proteases which, among other effects can degrade matrix elements. **Objective:** This review will discuss the theoretical frameworks that guide the construction of the hypothesis that proteolysis of laminin polymers, in the context of inflammation or in tumor growth, may have regulatory function associated with the maintenance of tissue health. **Methodology:** This is a literature review conducted by the selection and analysis of original and review articles published in the last ten years in the bibliographic database – International Literature on Health Sciences (PubMed). **Result:** The search using “Proteolysis and basement membrane” as a descriptor allowed the selection of 87 articles. Among these only 12 characterized the proteolysis of the basement membrane with description of biological activity associated to fragments. The search using “Proteolysis and laminin” as a descriptor allowed the selection of 70 articles, of which only 9 associated with the matter investigated, but 4 overlap with the result of the first search. Thus, a total of 17 articles were selected, among which only 11 were found and used to build the foundation of the hypothesis. **Conclusion:** This paper presents the rationale and theoretical basis for the construction of the hypothesis that the proteolysis of laminin polymers in the context of inflammation or tumor growth may have regulatory function associated with the maintenance of tissue health. Consequently, the article is a point of departure for the development of new research on the topic. The deepening of knowledge can be relevant in the field of cell and developmental biology as well as in the field of bioengineering, considering the biotechnological use of bioactive fragments in tissue recovery.

**Keywords:** Laminin. Proteolysis. Polymerization.

Correspondente / **Corresponding:** \*Livia Bacelar, Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Federal da Bahia. Endereço: Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela, Salvador, Bahia, Brasil. CEP: 40.110-902. Tel:(71)3283-8959 E-mail: liviabcacelar@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

As membranas basais constituem uma especialização da matriz extracelular (MEC), com forma semelhante a uma folha, e são compostas principalmente pelas proteínas: laminina (LMN), colágeno do tipo IV, fibronectina e nidogen, e pelo proteoglicano perlecan (TANZER, 2006). Virtualmente, todos os órgãos e tecidos, no animal adulto, têm uma arquitetura organizada, contendo células aderentes a uma membrana basal (MB) subjacente. As membranas basais (MB) encontram-se, portanto, na interface entre as células parenquimatosas e os tecidos de sustentação. Mais especificamente, são encontradas abaixo da superfície basal de todos os epitélios, em torno dos adipócitos, das células musculares, nos glomérulos renais e em torno dos vasos sanguíneos (HOHENESTER; YURCHENCO, 2013). Na vasculatura do sistema nervoso central (SNC), é elemento importante na formação da barreira hematoencefálica (ROBERTS; KAHLE; BIX, 2012).

Estudos mostram que moléculas de colágeno tipo IV e LMN são capazes de formar estruturas poliméricas que criam uma rede de bloqueio resistente e insolúvel. Dessa forma, as MB funcionam, *a priori*, como uma barreira mecânica para os solutos grandes, impenetrável para a maioria das células em tecidos adultos. Entretanto, apresentam funções moleculares que contribuem substancialmente para a organização, a estabilidade e a diferenciação celular, sendo imprescindível para a homeostase tecidual (YURCHENCO; PATTON, 2009). Alterações na arquitetura molecular, e conseqüentemente na permeabilidade, são detectadas em processos inflamatórios, quando, por exemplo, leucócitos são recrutados a partir do capilar para a defesa do corpo. Além disso, células tumorais metastáticas entram na circulação por violar a membrana basal no local do câncer primário e rompê-la novamente ao entrar no parênquima de um tecido distante (ROBERTS; KAHLE; BIX, 2012).

As alterações moleculares nas MB, que influenciam principalmente na sua permeabilidade, são fundamentalmente decorrentes de alterações na expressão dos seus constituintes moleculares e de processos de proteólise que geram fragmentos de colágeno, perlecan e LMN. Em especial no SNC, sob condições patológicas, a expressão e a proteólise de componentes MEC são alteradas devido a um aumento da atividade das proteases, incluindo as metaloproteinases de matriz (MMP), catepsinas e outras (FUKUDA et al., 2004). A proteólise gera, além de degradação da MB vascular, perturbações e disfunção da barreira hematoencefálica (BHE). Diversas doenças neurológicas, tais como esclerose múltipla, doença de Alzheimer, acidente vascular cerebral, além de processos inflamatórios e tumorais, têm sido associadas a alterações e ou disfunção da BHE (D'AVERSA, 2013; YANG; ROSENBERG, 2011; ZLOKOVIC, 2008). Entretanto, embora a proteólise de constituintes da MB possa produzir alterações na arquitetura desses constituintes com perda no controle do fluxo molecular e celular, evidências sugerem que a geração de fragmentos proteicos possa apresentar

influências positivas sobre os outros aspectos da saúde tecidual (ROBERTS; KAHLE; BIX, 2012).

Dessa forma, considerando que: 1) a LMN é o principal componente proteico das MB; 2) ela apresenta múltiplos domínios com diversas atividades biológicas, já bem caracterizadas (SUZUKI; YOKOYAMA; NOMIZU, 2005); 3) apresenta a capacidade de formar estruturas poliméricas *in vitro* e *in vivo* (COLOGNATO; YURCHENCO, 2000); 4) a arquitetura dos polímeros pode ser modificada *in vitro*, por manipulação no meio de polimerização, e *in vivo*, por variações nas condições fisiológicas e ou patológicas do meio (FREIRE; COELHO-SAMPAIO, 2000; YURCHENCO et al., 1985; ZHOU, 1990); e 5) em situações patológicas, como inflamação e crescimento tumoral, os polímeros tornam-se expostos à ação de proteases (FUKUDA et al., 2004). É possível que os produtos gerados pela degradação catalítica possam variar em função da modulação da catálise, pela organização espacial diferencial dos polímeros. Portanto, o objetivo desta revisão é associar os conceitos que levam à construção da hipótese de que a forma polimérica pode influenciar na proteólise de LMN e, conseqüentemente, de que a proteólise diferencial dos polímeros de LMN, no contexto da inflamação ou crescimento tumoral, pode apresentar função reguladora, associada à manutenção da saúde tecidual.

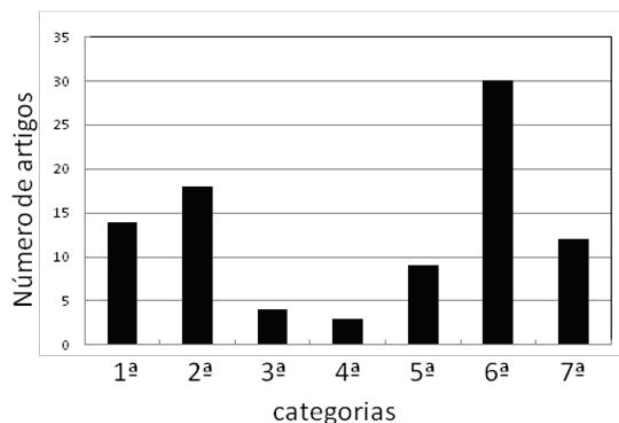
## METODOLOGIA

As buscas foram realizadas na base de dados bibliográficas Literatura Internacional em Ciências da Saúde (PubMed). Selecionaram-se artigos originais e de revisão, publicados entre 2004 e 2014, a partir dos descritores: *Proteolysis and basement membrane* (descritor 1), *Laminin proteolysis* (descritor 2), *Laminin fragmentation* (descritor 3) e *Laminin and proteolysis* (descritor 4). Os artigos inicialmente selecionados com os descritores 1 e 4 foram submetidos a uma avaliação pela leitura dos respectivos resumos. Subseqüentemente, os artigos especificamente relacionados à proteólise de elementos das MB, com descrição de atividade biológica a eles associada, foram submetidos a uma análise mais detalhada, sendo utilizados na construção do embasamento da hipótese levantada.

## RESULTADOS

A busca pelo descritor 1 permitiu a seleção de 87 artigos. A leitura dos respectivos resumos resultou na classificação em sete categorias: 1ª) Estudos sobre aspectos gerais associados a eventos de invasão da MB por células tumorais; 2ª) Estudos sobre a expressão e regulação da atividade de metaloproteases; 3ª) Estudos que descrevem mecanismos associados à participação de receptores em processos de invasão tecidual; 4ª) Estudos sobre aspectos estruturais de elementos da MB, tendo a proteólise como ferramenta de análise; 5ª) Estudos que descrevem alterações na expressão de componentes da MB associadas a patologias; 6ª) Estudos sobre proteólise

de outras membranas ou de elementos não constituintes, mas fixados à MB; 7ª) Estudos que referem atividade biológica associada a produtos da proteólise de elementos da MB (Figura 1). Assim sendo, a sétima categoria é a que reúne os 12 artigos diretamente associados à questão de interesse. No entanto, entre os 12, apenas 4 descrevem especificamente proteólise de LMN.



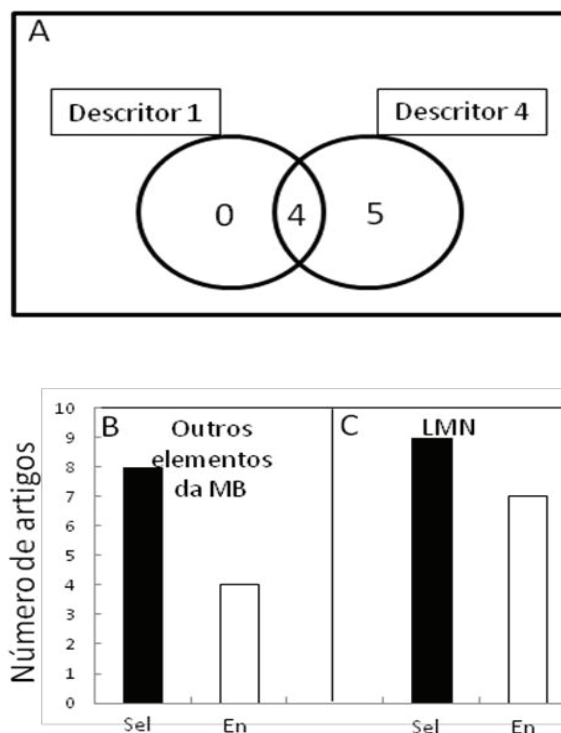
**Figura 1** – Classificação em categorias dos artigos selecionados

**Legenda:** Categorias utilizadas na classificação dos artigos obtidos segundo o descritor “Proteolysis and basement membrane”: 1ª) Estudos sobre aspectos gerais associados a eventos de invasão da MB por células tumorais; 2ª) Estudos sobre a expressão e regulação da atividade de metaloproteases; 3ª) Estudos que descrevem mecanismos associados à participação de receptores em processos de invasão tecidual; 4ª) Estudos sobre aspectos estruturais de elementos da MB, tendo a proteólise como ferramenta de análise; 5ª) Estudos que descrevem alterações na expressão de componentes da MB associadas a patologias; 6ª) Estudos sobre proteólise de outras membranas ou de elementos não constituintes, mas fixados à MB; 7ª) Estudos que referem atividade biológica associada a produtos da proteólise de elementos da MB.

**Fonte:** Elaboração dos autores.

Na tentativa de ampliar a literatura selecionada, foram realizadas buscas com os: *Laminin proteolysis* (seguintes descritores descritor 2) e *Laminin fragmentation* (descritor 3). As buscas não resultaram em seleção de artigos. Uma tentativa mais ampliada com o descritor *Proteolysis and laminin* (descritor 4) gerou a seleção de 70 artigos, entre os quais apenas 9 foram relacionados à LMN, com referência à atividade biológica de produtos de sua proteólise. Entre os 9, 4 foram coincidentes com a seleção previamente realizada, utilizando o descritor 1 (Figura 2A). Portanto, um total de 17 artigos de interesse foram selecionados, sendo 8 relacionados à proteólise de outros elementos da MB (Figura 2B) e 9 relacionados

especificamente à LMN (Figura 2C). Entre os 17 selecionados, apenas 11 foram encontrados e utilizados para a construção do embasamento da hipótese levantada.



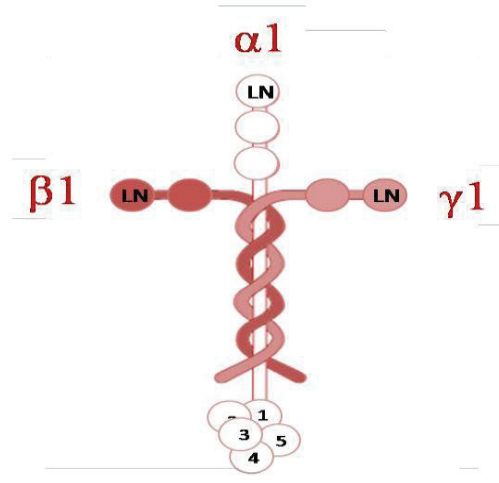
**Figura 2** – Relação entre artigos selecionados e encontrados

**Legenda:** Em (A) Total dos artigos selecionados e coincidentes, especificamente sobre proteólise de LMN, obtidos com as buscas realizadas com o descritor 1- “Proteolysis and basement membrane” e o descritor 4 – “Proteolysis and Laminin”. Em (B) Relação entre artigos selecionados e encontrados obtidos a partir da busca com o descritor 1, excetuando os que versam diretamente sobre a proteólise de LMN. Em (C) Relação entre artigos selecionados e encontrados obtidos a partir da busca com os descritores 1 e 4 que versam diretamente sobre a proteólise de LMN.

**Fonte:** Elaboração dos autores.

## DISCUSSÃO

A LMN, principal componente proteico das MB, na realidade, engloba uma grande família de heterotrímeros, compostos pela associação de três cadeias polipeptídicas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . (BURGESON; CHIQUET; DEUTZMANN, 1994) As três cadeias polipeptídicas se associam, formando um braço longo que compreende a porção C-terminal das diferentes cadeias e por 3 braços curtos independentes, compreendendo a porção N-terminal de cada cadeia (Figura 3).



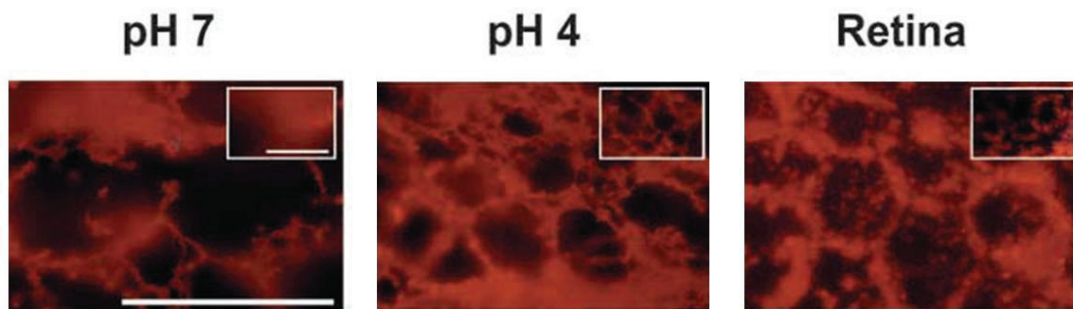
**Figura 3** – Ilustração da Estrutura da LMN-1

*Legenda:* Ilustração mostra os domínios globulares do braço Longo (LG1-LG5) e os domínios globulares dos braços curtos (LNs)

**Fonte:** Extraída de Colognato e Yurchenco (2000)

Até o momento, foram identificados 5 subtipos de cadeias  $\alpha$ , 3 de cadeias  $\beta$  e 3 de cadeias  $\gamma$ . A associação entre elas é responsável por formar as 10 diferentes isoformas de LMN (AUMAILLEY et al., 2000; DURBEEJ, 2010). As LMN são proteínas multidomínios, com vários sítios de ligação a diversos receptores celulares sendo, portanto, capazes de induzir variadas respostas em diferentes tipos celulares (SUZUKI; YOKOYAMAA; NOMIZU, 2005). Ao

contrário de várias outras proteínas, a LMN é capaz de autopolimerizar, i. e., de formar estruturas poliméricas organizadas, tanto *in vivo* quanto *in vitro* (COLOGNATO; YURCHENCO, 2000). Os polímeros podem ser observados por imunomarcação: 1) Após deposição, em vidro, da LMN diluída em tampão, contendo íons cálcio; 2) Sobre a superfície de células que as secretam; ou 3) *In vivo*, em retina de ratos recém-nascidos (Figura 4) (FREIRE et al., 2002).



**Figura 4** – Polímeros de laminina

*Legenda:* Imunomarcação para polímeros de laminina formados *in vitro* por diluição da proteína em tampão neutro (pH 7) ou ácido (pH 4) ou *in vivo* na retina de animais neonatos. Barra de calibração equivale a 50  $\mu\text{m}$  e no inset a 10  $\mu\text{m}$ .

**Fonte:** Freire e colaboradores (2002)

A arquitetura dos polímeros pode ser modificada *in vitro* por manipulação, no meio de polimerização, e *in vivo*, por variações nas condições fisiológicas e patológicas do meio (COELHO-SAMPAIO, 2000; FREIRE et al., 2004; FREIRE; ZHOU, 1990; YURCHENCO et al., 1985). Esses polímeros de LMN podem se associar a receptores celulares, incluindo as integrinas, provocando diferentes vias de sinalização, em função da sua organização tridi-

mensional. Esse fato, provavelmente, deve-se à exposição diferencial de sítios de reconhecimento celular que impactam em sua atividade biológica. A outra explicação é que características físicas distintas dos polímeros como sua topografia, podem promover a mecanotransdução diferenciada. De fato, estudos evidenciam um padrão de resposta diferenciado em função da organização polimérica de LMN, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (FREIRE et al.,

2002, HOCHMAN-MENDEZ et al., 2014; MENEZES et al., 2010; PALMERO et al., 2013). Em situações patológicas, como inflamação e tumorigênese, os polímeros tornam-se expostos à ação de proteases (FUKUDA et al., 2004).

Assim, é interessante considerar o efeito da polimerização no padrão de proteólise da proteína. A visão de que a variação na organização polimérica expõe domínios distintos leva à consideração da possibilidade de que a polimerização possa modular a atividade catalítica das proteases. Considerando a diversidade de domínios apresentados pela LMN, com atividades biológicas distintas, é possível que sua degradação possa gerar efeitos específicos em situações patológicas. Assim, diferentes formas poliméricas sofreriam a ação diferenciada das proteases, tendo padrão de proteólise diversificado. O que levaria à produção de fragmentos proteolíticos, previamente identificados, ou novos, com atividade biológica distinta da forma polimérica, como um todo, ou da molécula intacta isolada. Sua proteólise diferencial pode gerar fragmentos com atividade biológica potencializada ou ainda não caracterizada. Ou seja, com essa perspectiva, fragmentos ainda não identificados poderiam ser descobertos. Assim, parece ser interessante investigar a proteólise de formas poliméricas de LMN, bem como caracterizar a atividade desses fragmentos em diferentes tipos celulares. A possibilidade ganha maior visibilidade, considerando a possibilidade do uso da LMN na bioengenharia tecidual para reparar tecidos danificados.

Alguns estudos com elementos da membrana basal demonstram que a clivagem da matriz extracelular (MEC) por proteólise desmascara locais crípticos e gera novos fragmentos, com atividade biológica funcionalmente distinta daquelas apresentadas pelas moléculas intactas. De fato, a proteólise da região C-terminal do domínio V de perlecan, após acidente vascular cerebral, gera um fragmento que atua como neuroprotetor e promotor de reparação pós-derrame cerebral (ROBERTS; KAHLE; BIX, 2012). Em outro contexto, o tratamento enzimático de perlecan por MMP-7, tal como ocorre no microambiente do tumor de próstata, atua como um interruptor da invasividade, por alterar o comportamento das células APC (BENDRIK et al., 2008). A clivagem proteolítica de colágeno IV por MMP-9 resulta no aumento da geração de fragmentos antiangiogênicos que suprimem o crescimento tumoral do cancro da mama (EGEBLAD et al., 2010). Na barreira sangue-testículo, ultraestrutura importante para a espermatogênese, o peptídeo [Col $\alpha$ 3 (IV) NC1] derivado do colágeno, via proteólise limitada pela matriz metaloproteinase-9 (MMP-9), afeta funções da célula de Sertoli, promovendo aumento da permeabilidade da barreira (WONG; CHENG, 2013).

Alguns estudos relatam a proteólise da LMN como associada a efeitos celulares positivos. Szymczak e colaboradores (2010) mostraram que a inibição de metaloproteases, em culturas de células, interferia na proliferação e diferenciação das progenitoras em relação à linhagem neuronal em um efeito dependente da presença de LMN.

O dado sugeriu a participação dos produtos de proteólise da LMN na regulação da diferenciação e proliferação de precursores neurais (SZYMCZAK et al., 2010). Estudos recentes mostram que, em situações de inflamação crônica ou aguda, as metaloproteases produzidas por neutrófilos ou macrófagos – elastase de neutrófilos (NE), a catepsina G, a proteinase – 3, e MMP – 2, -8, -9, e -12 -, geram fragmentos de LMN-332, com atividade quimiotática sobre neutrófilos (MYDEL et al., 2008). Rousselle e Beck (2013) relatam que o processamento da cadeia  $\gamma$ 2 por MMP-2, após o resíduo Ala-586 na junção do braço de curto ao domínio do filamento helicoidal, gera a remoção de todo o braço curto, resultando em um fragmento de 80 kDa. Essa clivagem expõe um local críptico na cadeia  $\alpha$ 3 que é pró-migratório para as células epiteliais da mama. Além disso, a forma  $\gamma$ 2x 80 kDa tem sido associada com os tecidos submetidos a remodelamento (revisado por ROUSSELLE; BECK, 2013). Outras MMP, incluindo MMP-3, -12, -13, -14, -19 e -20, podem clivar a cadeia  $\gamma$ 2, gerando o fragmento  $\gamma$ 2x, com capacidade de induzir a migração de células epiteliais (revisado por ROUSSELLE; BECK, 2013). Mais recentemente, foi mostrado que fragmentos proteolíticos originados pelo processamento do domínio LG4-5 das cadeias  $\alpha$ 3,  $\alpha$ 4 e  $\alpha$ 5 apresentam ampla atividade antimicrobiana e têm forte atividade quimiotática para células mononucleares. O estudo sugere o envolvimento desses peptídeos em situações de inflamação, feridas crônicas e infecção, no favorecimento da saúde da pele (SENYUREK et al., 2014).

Por outro lado, existem também relatos sobre efeitos negativos associados à fragmentação da laminina. Chen e colaboradores (2008) mostraram que a infusão de um produto da digestão de LMN por plasmina foi capaz de potencializar a degeneração neuronal induzida por estímulo ao receptor de Kainato (CHEN et al., 2008). Outro estudo, desenvolvido por Nakashima (2005), sugere que a fragmentação proteolítica da cadeia  $\beta$ 3 de LMN-332 por MMP-14 promove a migração de células de carcinoma da próstata (NAKASHIMA, 2005). Gu e colaboradores (2005) mostraram que a MMP-9 degrada a LMN e que esta degradação induz a apoptose neuronal num modelo de isquemia cerebral focal transiente em ratos (GU et al. 2005).

Embora a laminina seja uma proteína amplamente estudada no contexto da morfogênese do sistema nervoso central por modular o crescimento de neuritos (ADLER; JERDAN; HEWIT, 1985; CHAMAK; PROCHIANTZ, 1989; EDGAR; MANTHORPE et al, 1983; TIMPL; THORNEN, 1988), promover orientação axonal (COHEN et al., 1987; HAMMARBÄCK et al.; 1988; MCLOON et al., 1988), induzir diferenciação (COHEN et al., 1986) e a proliferação de células (DRAGO; NURCOMBE; BARTLETT, 1991; FRADE; MARTINEZ MORALES; RODRÍGUEZ TEBAR, 1996), pouco se sabe sobre os efeitos dos fragmentos proteolíticos gerados por metaloproteases sobre células do SNC. Além disso, os estudos descritos acima não referem o efeito da polimerização sobre o padrão de proteólise. Esse fato aumentaria a diversidade das respostas induzidas por LMN.

## CONCLUSÃO

A hipótese inicialmente traçada pode ser corroborada por dados da literatura e os estudos que dela podem derivar apresentam, como impacto, a possibilidade de gerar a identificação de elementos bioativos, apresentando assim interesse biotecnológico e clínico.

## REFERÊNCIAS

- ADLER, R.; JERDAN, J.; HEWITT, A. T. Responses of cultured neural retinal cells to substratum-bound laminin and other extracellular matrix molecules. *Dev. Biol.*, Orlando, v. 112, n. 1, p. 100-114, 1985.
- AUMAILLEY, M. et al. Altered synthesis of laminin 1 and absence of basement membrane component deposition in (beta)1 integrin-deficient embryoid bodies. *J. Cell. Sci.*, London, v. 113, n. 2, p. 259-268, 2000.
- BURGESON, R. E.; CHIQUET, M.; DEUTZMANN, R. A new nomenclature for the laminins. *Matrix Biol.*, Stuttgart, v. 14, n. 3, p. 209-211, 1994.
- BENDRIK, C. et al. Gene transfer of matrix metalloproteinase-9 induces tumor regression of breast cancer in vivo. *Cancer Res.*, v. 68, n. 9, p. 3405-3412, 2008.
- CHAMAK, B.; PROCHIANTZ, A. Influence of extracellular matrix proteins on the expression of neuronal polarity. *Development*, Cambridge, v. 106, n. 3, p. 483-491, 1989.
- CHEN, Z. et al. Proteolytic fragments of laminin promote excitotoxic neurodegeneration by up-regulation of the KA1 subunit of the kainate receptor. *J. Cell. Biol.*, New York, v. 183, n. 7, p. 1299-1313, 2008.
- COHEN, J. et al. The role of laminin and the laminin/fibronectin receptor complex in the outgrowth of retinal ganglion cell axons. *Dev. Biol.*, Orlando, v. 122, n. 2, p. 407-418, 1987.
- COHEN, J. et al. Retinal ganglion cells lose response to laminin with maturation. *Nature*, London, v. 322, n. 6078, p. 465-467, 1986.
- COLOGNATO H.; YURCHENCO, P. D. Form and function: the laminin family of heterotrimeric. *Dev. Dyn.*, New York, v. 218, n. 2, p. 213-34, 2000.
- D'AVERSA, T. G. Myelin basic protein induces inflammatory mediators from primary human endothelial cells and blood-brain barrier disruption: implications for the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, Oxford, v. 39, n. 3, p. 270-83, 2013.
- DRAGO, J.; NURCOMBE, V.; BARTLETT, P. F. Laminin through its long arm E8 fragment promotes the proliferation and differentiation of murine neuroepithelial cells in vitro. *Exp. Cell. Res.*, New York, v. 192, n. 1, p. 256 -265, 1991.
- DURBEEJ, M. Laminins. *Cell. Tissue Res.*, Berlin, v. 339, n.1, p. 259-268, 2010.
- EDGAR, D.; TIMPL, R.; THORNEN, H. Structural requirement for the stimulation of neurite outgrowth by two variants of laminin and their inhibition by antibodies. *J. Cell. Biol.*, New York, v. 106, n. 4, p. 1299-1306, 1988.
- EGEBLAD, M.; RASCH, M. G.; WEAVER, V. M. Dynamic interplay between the collagen scaffold and tumor evolution. *Curr. Opin. Cell Biol.*, London, v. 22, n. 5, p. 697-706, 2010.
- FRADE, J. M.; MARTÍNEZ-MORALES, J. R.; RODRÍGUEZ-TÉBAR, A. Laminin-1 selectively stimulates neuron generation from cultured retinal neuroepithelial cells. *Exp. Cell Res.*, New York, v. 222, n. 1, p. 140-149, 1996.
- FREIRE, E.; COELHO-SAMPAIO, T. Self-assembly of laminin induced by acidic pH. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v. 275, n. 2, p. 817-822, 2000.
- FREIRE, E. et al. Structure of laminin substrate modulates cellular signaling for neurogenesis. *J. Cell. Sci.*, London, v. 115, (Pt 24), p. 4867-4876, 2002.
- FREIRE, E. et al. Sialic acid residues on astrocytes regulate neurogenesis by controlling the assembly of laminin matrices. *J. Cell. Sci.*, London, v. 117, n. 18, p. 4067-4076, 2004.
- FUKUDA, S. et al. Focal cerebral ischemia induces active proteases that degrade microvascular matrix. *Stroke*, Dallas, v. 35, n. 4, p. 998-1004, 2004.
- GU, Z. et al. A highly specific inhibitor of matrix metalloproteinase-9 rescues laminin
- from proteolysis and neurons from apoptosis in transient focal cerebral ischemia. *J. Neurosci.*, Baltimore, v. 25, n. 27, p. 6401-6408, 2005.
- HAMMARBACK, J. A. et al. Growth cone guidance by substrate-bound laminin pathways is correlated with neuron-to-pathway adhesivity. *Dev. Biol.*, Orlando, v. 126, n. 1, p. 29-30, 1988.
- HOCHMAN-MENDEZ, C. et al. Poly(laminin) recognition by retinal cells. *J. Neurosci. Res.*, New York, v. 92, n. 1, p. 24-34, 2014.
- HOHENESTER, E.; YURCHENCO, P. D. Laminins in basement membrane assembly. *Cell. Adh. Migr.*, Austin, v. 7, n. 1, p. 56-63, 2013.
- MANTHORPE, M. et al. Laminin promotes neurite regeneration from cultured peripheral and central neurons. *J. Cell. Biol.*, New York, n. 97, n. 6, p. 1882-1890, 1983.
- MCLOON, S. C. Transient expression of laminin in the optic nerve of the developing rat. *J. Neurosci.*, Baltimore, v. 8, n. 6, p. 1981-1990, 1988.
- MENEZES, K. et al. Poly(laminin), a polymeric form of laminin, promotes regeneration after spinal cord injury. *FASEB J.*, Bethesda, v. 24, n. 11, p. 4513-4522, 2010.
- MYDEL, P. et al. Neutrophil elastase cleaves laminin-332 (Laminin-5) generating peptides that are chemotactic for Neutrophils. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v. 283, n. 15, p. 9513-9522, 2008.
- NAKASHIMA, Y. Regulation of cell adhesion and type VII collagen binding by the beta3 chain short arm of laminin-5: effect of its proteolytic cleavage. *J. Biochem.*, Tokyo, v. 138, n. 5, p. 539-552, 2005.
- PALMERO, C. Y. et al. The follicular thyroid cell line PCCL3 responds differently to laminin and to poly(laminin), a polymer of laminin assembled in acidic pH. *Mol. Cell. Endocrinol.*, Limerick, v. 376, n. 1-2, p. 12-22, 2013.
- ROBERTS, J.; KAHLE, M. P.; BIX, G. J. Perlecan and the blood-brain barrier: beneficial proteolysis? *Front. Pharmacol.*, Bélgica, v. 3, n. 155, p. 1 -5, 2012.
- ROUSSELLE, P.; BECK, K. Laminin 332 processing impacts cellular behavior. *Cell. Adh. Migr.*, Austin, v. 7, n. 1, p. 122-134, 2013.
- SENYUREK, I. et al. Processing of laminin  $\alpha$  chains generates peptides involved in wound healing and host defense. *J. Innate Immun.*, Basel, v. 6, n. 4, p. 467-84, 2014.
- SUZUKI N.; YOKOYAMA, F.; NOMIZU, M. Functional sites in the laminin alpha chains. *Connect Tissue Res*, London, v. 46, n. 3, p. 142-152, 2005.
- SZYMCZAK, P. et al. Effect of matrix metalloproteinases inhibition on the proliferation and differentiation of HUCB-NSCs cultured in the presence of adhesive substrates. *Acta Neurobiol. Exp.*, Warsaw, v. 70, n. 4, p. 325-336, 2010.

36. TANZER, M.L. Current concepts of extracellular matrix. **J. Orthop. Sci.**, Tokyo, v. 11, n. 3, p. 326-331. 2006.
37. WONG, E. W.; CHENG, C. Y. NC1 domain of collagen  $\alpha 3$  (IV) derived from the basement membrane regulates Sertoli cell blood-testis barrier dynamics. **Spermatogenesis**, Philadelphia, v. 3, n. 2, 254-65, 2013.
38. YANG, Y.; ROSENBERG, G. A. Blood-brain barrier breakdown in acute and chronic cerebrovascular disease. **Stroke**, Dallas, v. 42, n. 11, p. 3323-3328, 2011.
39. YURCHENCO, P. D.; PATTON, B. L. Developmental and path- ogenic mechanisms of basement membraneassembly. **Curr. Pharm. Des.**, Schiphol, v. 15, n. 12, p. 1277-1294, 2009.
40. YURCHENCO, P.D. et al. Laminin polymerization in vitro: evidence for a two-step assembly with domain specificity. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 260, n. 12, p. 736-744, 1985.
41. ZHOU, F. C. Four patterns of laminin-immunoreactive structure in developing rat brain. **Brain Dev. Brain Res.**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 191-201, 1990.
42. ZLOKOVIC, B. V. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative. **Neuron.**, Cambridge, v. 57, n. 2, p. 178-201, 2008.

---

Submetido em: 6/10/2014

Aceito em: 15/12/2014