

Eliminació de substàncies de rebuig cerebrals mitjançant *wasteosomes* (cossos amilacis)

Marta Riba Baques
2022

Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació
Departament de Bioquímica i Fisiologia
Grup de la Barrera Hematoencefàlica



UNIVERSITAT DE
BARCELONA







Institut de Neurociències
UNIVERSITAT DE BARCELONA

Cossos amilacis cerebrals

- Van ser descrits per primera vegada per JE Purkinje l'any 1837
- Esfèrics (2-20 μm de diàmetre)
- S'acumulen al cervell humà durant l'**envelliment** i algunes **malalties neurodegeneratives**



Malaltia d'Alzheimer 	Malaltia de Parkinson	Malaltia de Huntington 
Malaltia de Pick	Esclerosi múltiple 	Esclerosi lateral amiotròfica (ELA)
Epilèpsia del lòbul temporal	Encefalopatia vascular 	Apnea obstructiva del son

Cossos amilacis cerebrals



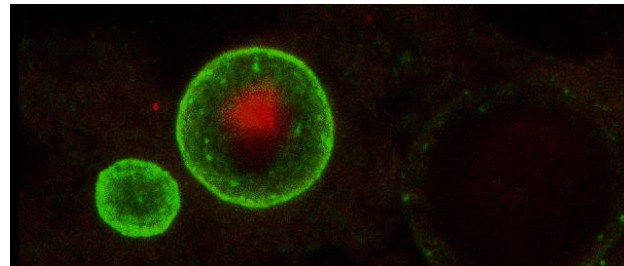
Composició

- 68% hexoses polimeritzades (principalment glucosa)
- Glicogen sintasa (GS)
- Productes de rebuig d'astròcits, neurones, oligodendròcits
- Proteïnes d'agents infecciosos
- Ubiquïtina (Ubi)
- p62

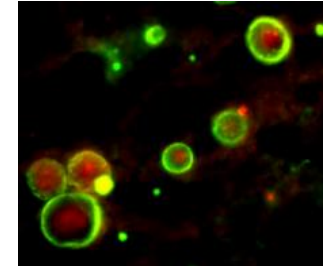


Eliminació de substàncies de rebuig

GS + Ubi

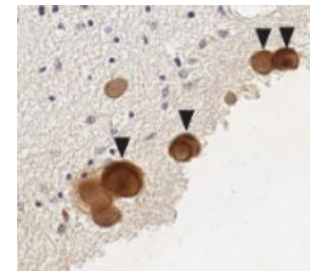


Ubi + p62

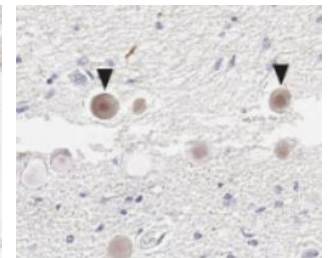


Augé *et al.*, 2018

Tau1



Tau5



Wander *et al.*, 2020

1) Els CA acumulen substàncies de rebuig

Cossos amilacis cerebrals

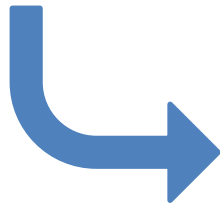
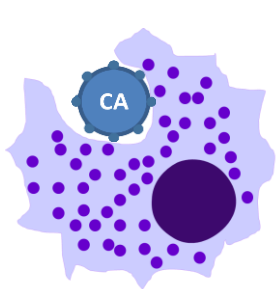
Neo-epítops


- Els cossos amilacis (CA) cerebrals contenen **neo-epítops** (NE)

Els NE són epítops que apareixen *de novo* en el propi organisme (en restes cel·lulars, cossos apoptòtics...)

- Els NE dels CA són reconeguts per **IgM naturals**

Els **anticossos naturals** intervenen en l'**eliminació de residus propis**. El complex anticòs natural - NE pot actuar com a senyals *eat-me* per macròfags

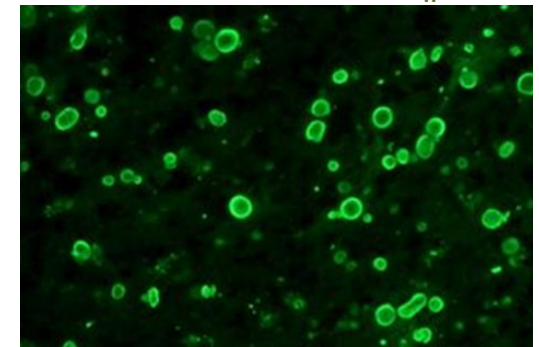


Els CA poden ser fagocitats per macròfags 

2) Els CA podrien ser fagocitats per macròfags



IgM_h α-NE



Augé et al., 2017



Cossos amilacis cerebrals

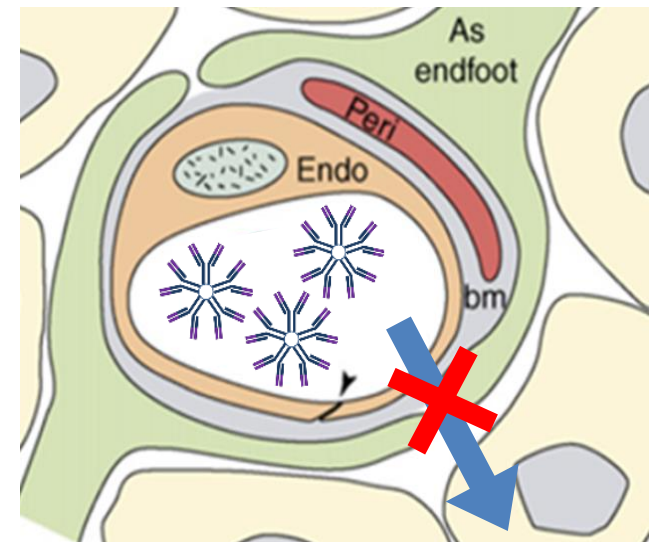
Interacció entre IgM i neo-epítops

A causa de la barrera hematoencefàlica (BHE), les **IgM no accedeixen al sistema nerviós central (SNC).**



Trencament
de la BHE

CA expulsats fora
del SNC



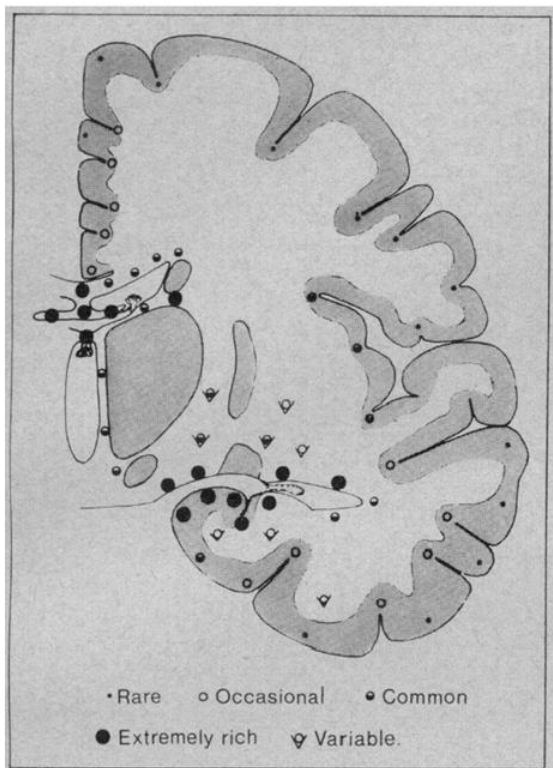
Saunders *et al.*, 2008



Cossos amilacis cerebrals

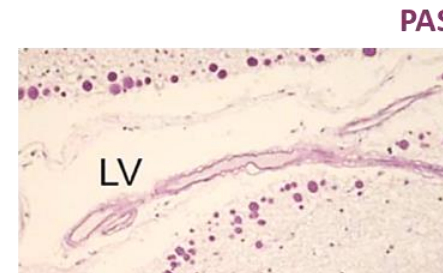


Localització



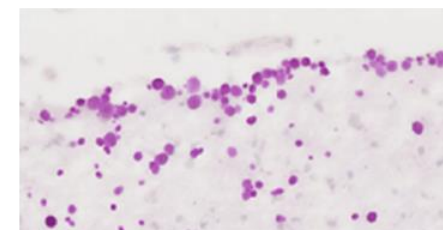
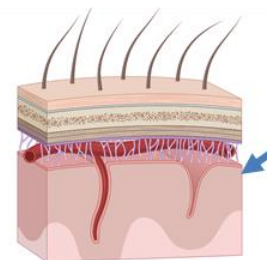
Sakai *et al.*, 1969

Periventriculars



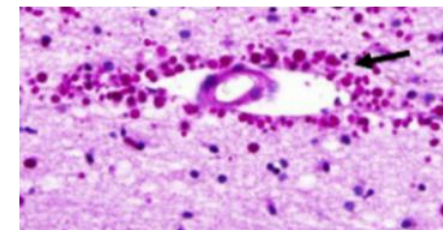
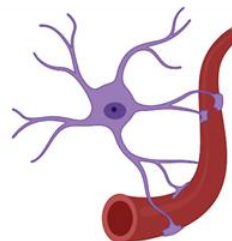
Nam *et al.*, 2012

Subpials



Augé *et al.*, 2018

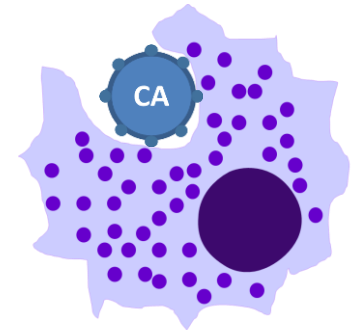
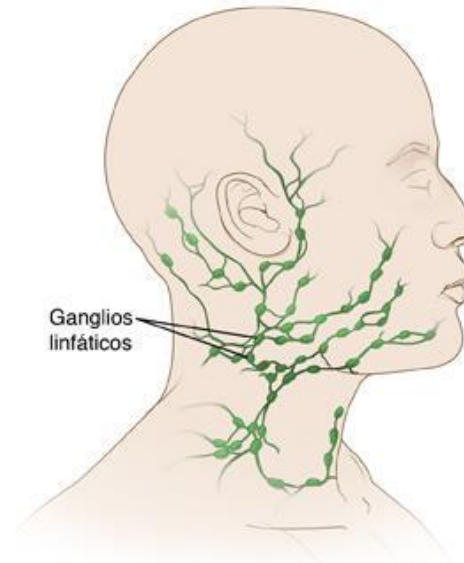
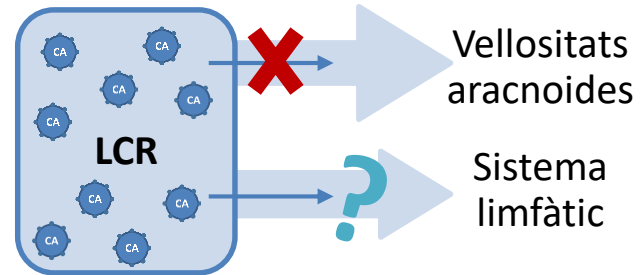
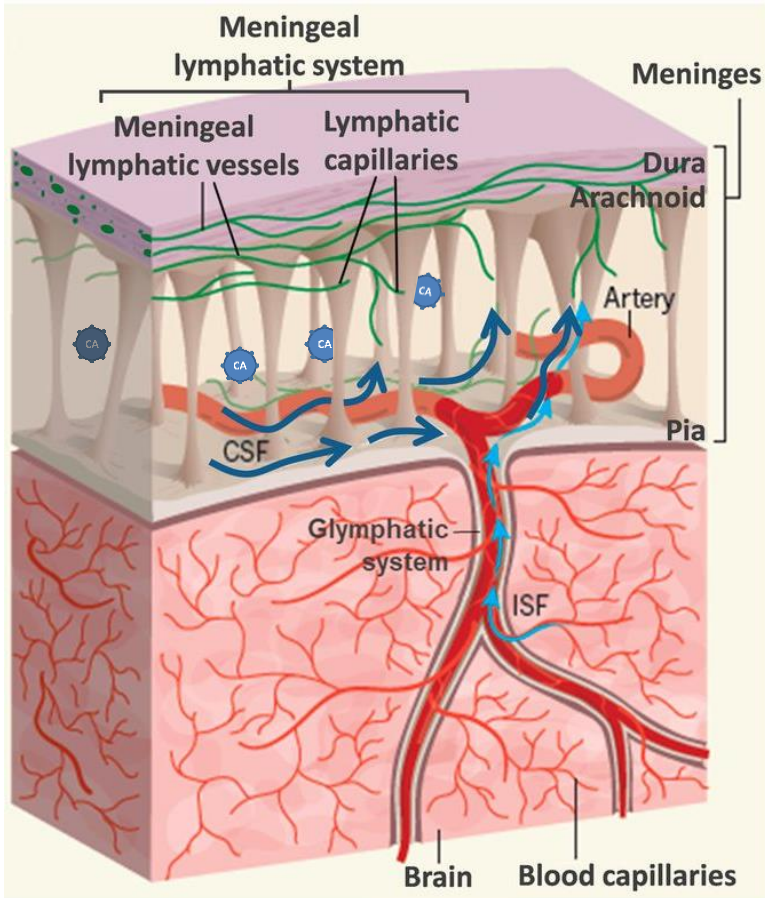
Perivasculars



REGIONS RELACIONADES AMB EL LÍQUID CEFALORRAQUIDI (LCR)

3) Els CA podrien ser alliberats al LCR

Cossos amilacis cerebrals



Adaptat de Sweeney i Zlokovic, 2018

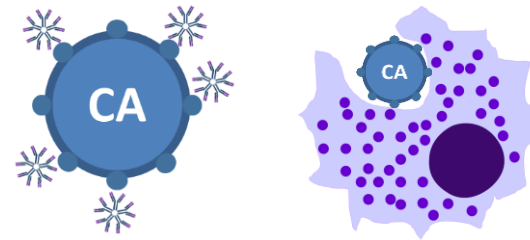
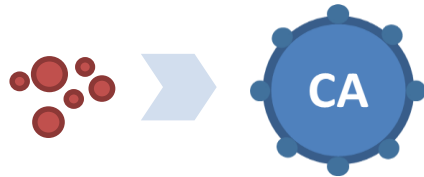
4) Els CA podrien accedir al sistema limfàtic i arribar als ganglis limfàtics

Hipòtesi



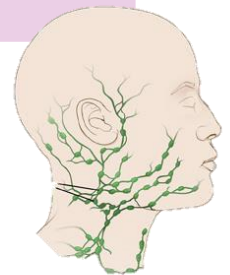
1) Acumulen de **substàncies de rebuig**

2) Contenen **NE** i podrien ser **fagocitats per macròfags**



3) Podrien ser **alliberats al LCR**

4) Podrien accedir al **sistema limfàtic** i arribar als **ganglis limfàtics**

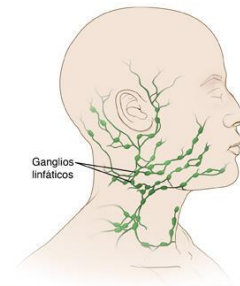


Objectius

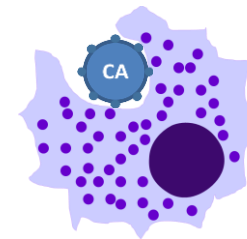


1 Determinar la presència de **CA** al **LCR**.

2 Determinar la presència de **CA** als **ganglis limfàtics cervicals**.



3 Estudiar les interaccions entre **CA** i **macròfags**.



4 Determinar la **naturalesa** dels **NE**.

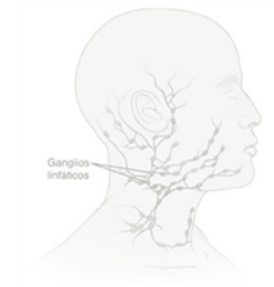


Objectius



1 Determinar la presència de **CA** al **LCR**.

2 Determinar la presència de **CA** als **ganglis limfàtics cervicals**.



3 Estudiar les interaccions entre **CA** i **macròfags**.



4 Determinar la **naturalesa** dels **NE**.



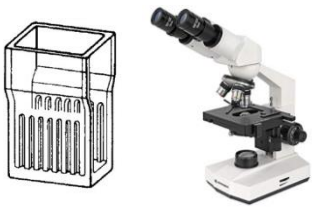
Determinar la presència de CA al LCR



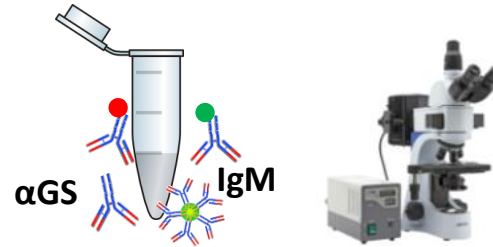
LCR ventricular humà



Tinció de PAS



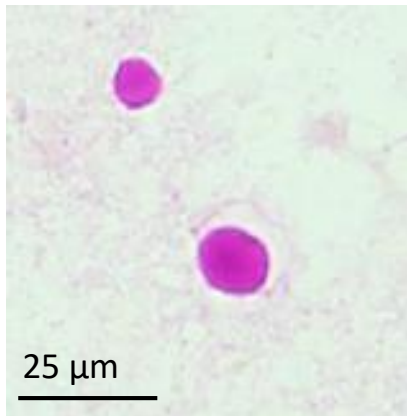
Immunofluorescència



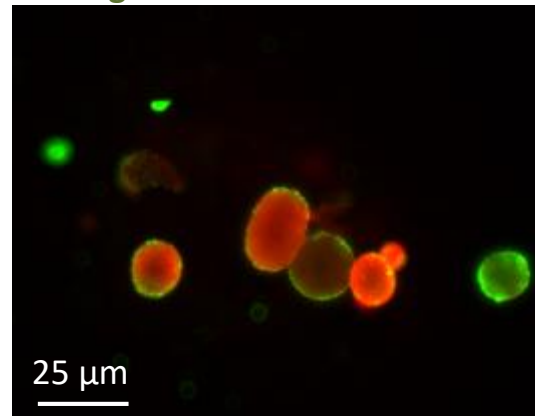
Microscòpia electrònica de transmissió (MET) de rastreig (MER)



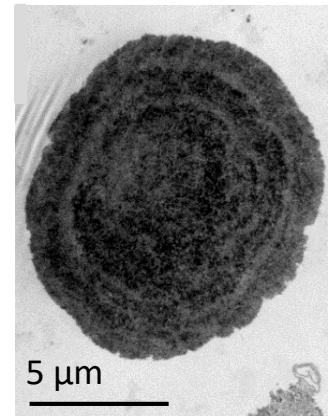
PAS



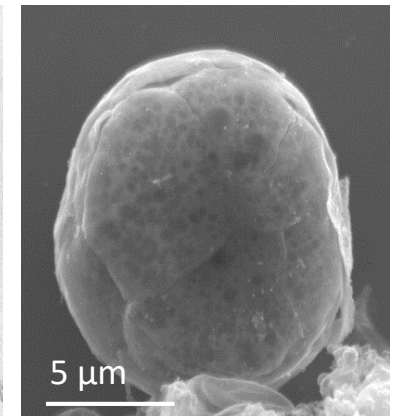
GS + IgM



MET



MER



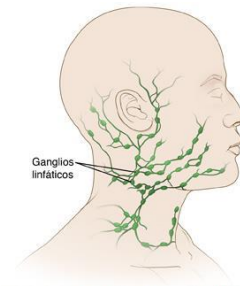
El LCR humà conté CA

Objectius



1 Determinar la presència de **CA** al **LCR**.

2 Determinar la presència de **CA** als **ganglis limfàtics cervicals**.



3 Estudiar les interaccions entre **CA** i **macròfags**.



4 Determinar la **naturalesa** dels **NE**.



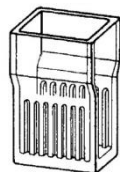
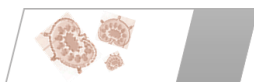
Determinar la presència de CA als ganglis limfàtics cervicals



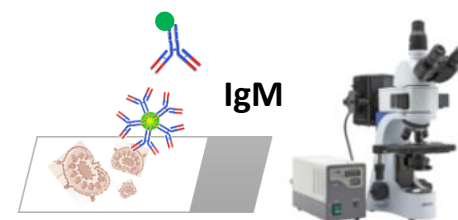
Tinció de PAS



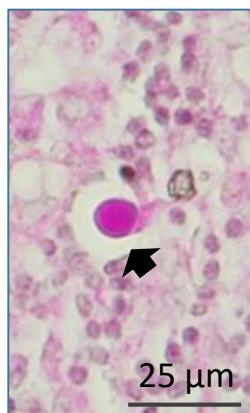
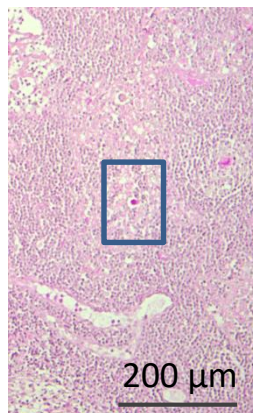
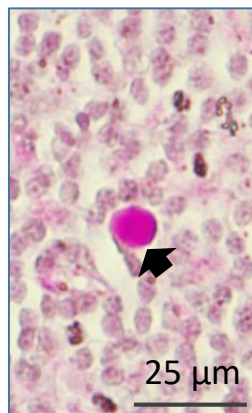
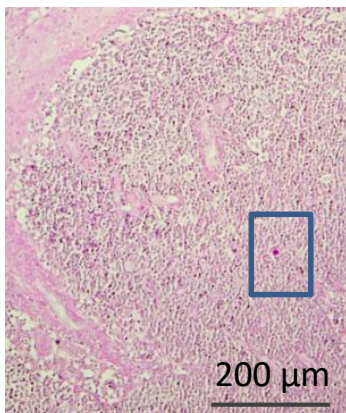
Ganglis limfàtics cervicals humans



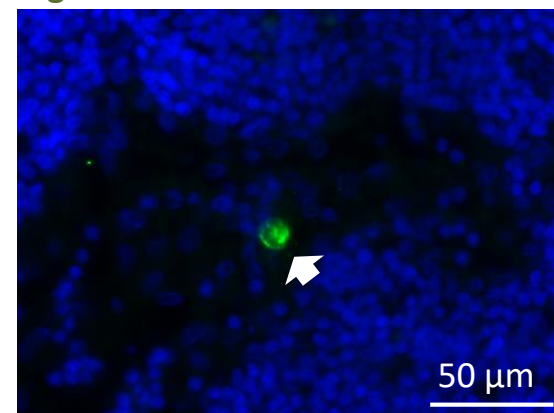
Immunofluorescència



PAS



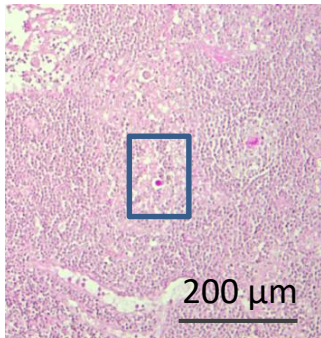
IgM



Els ganglis limfàtics cervicals contenen CA



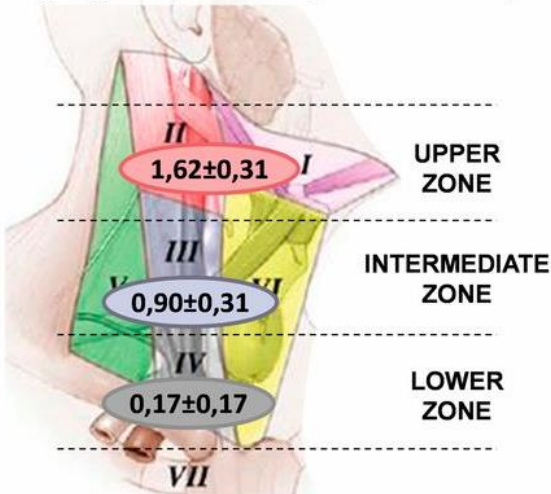
Determinar la presència de CA als ganglis limfàtics cervicals



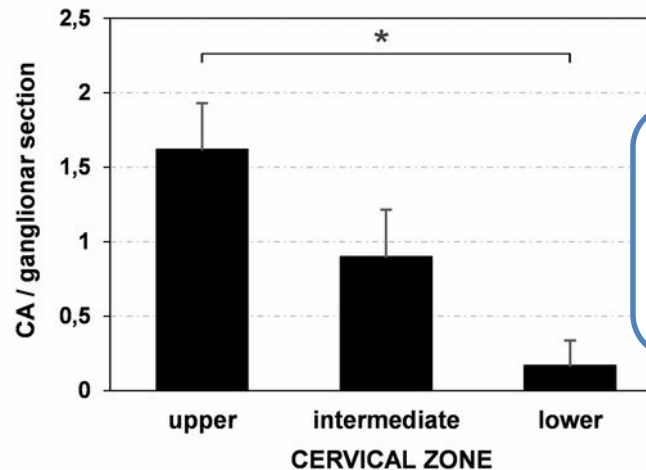
CA localitzats en zones de pas de la limfa

CA en contacte amb cèl·lules ganglionars

CA / ganglionar section (mean \pm s.e.m.)

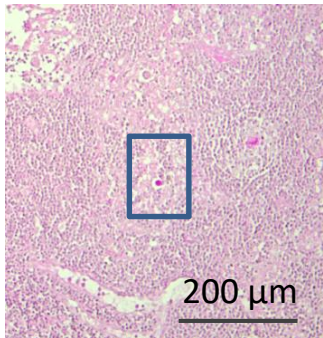


CA / ganglionar section (mean \pm s.e.m)



Major nombre de CA en els ganglis de la zona superior del coll respecte als ganglis de la zona inferior

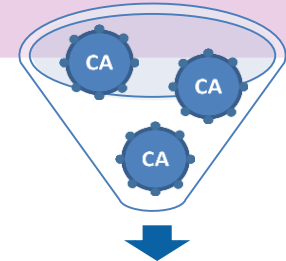
Determinar la presència de CA als ganglis limfàtics cervicals



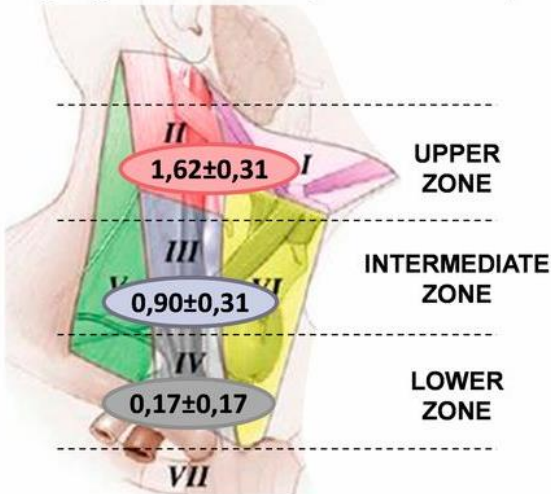
CA localitzats en zones de pas de la limfa

CA en contacte amb cèl·lules ganglionars

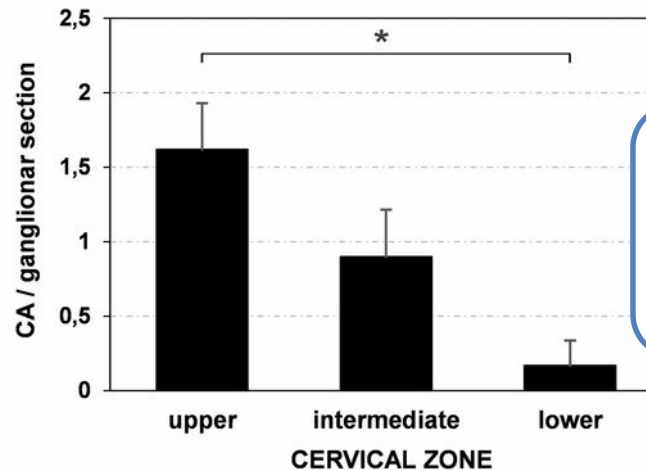
Els ganglis limfàtics cervicals actuarien de filtre en l'eliminació dels CA



CA / ganglionar section (mean ± s.e.m.)



CA / ganglionar section (mean ± s.e.m)



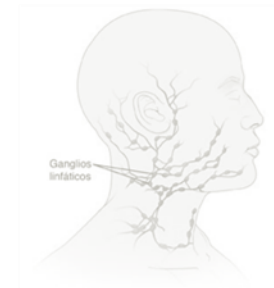
Major nombre de CA en els ganglis de la zona superior del coll respecte als ganglis de la zona inferior

Objectius

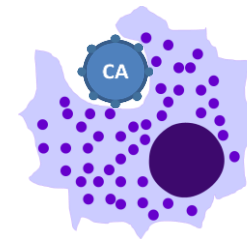


1 Determinar la presència de **CA** al **LCR**.

2 Determinar la presència de **CA** als **ganglis limfàtics cervicals**.



3 Estudiar les interaccions entre **CA** i **macròfags**.



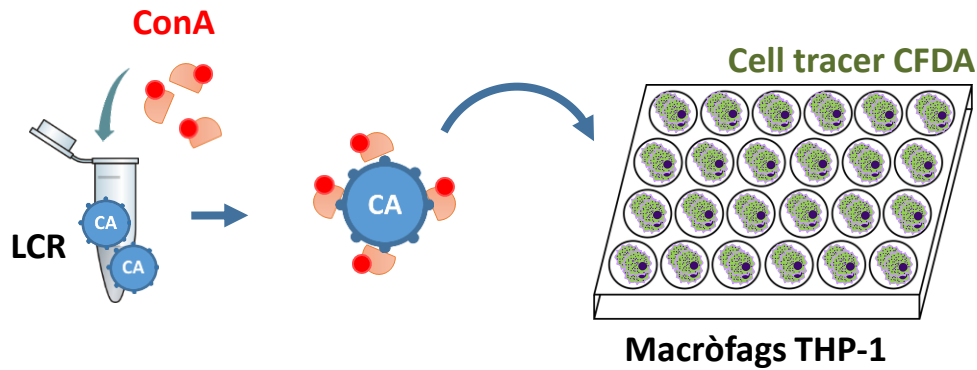
4 Determinar la **naturalesa** dels **NE**.



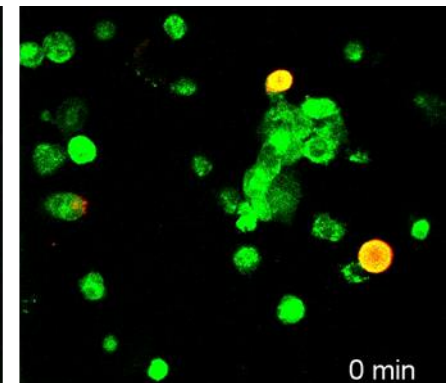
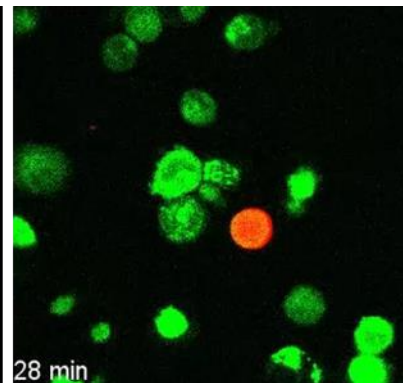
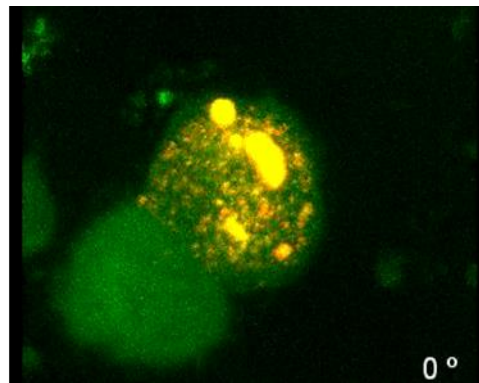
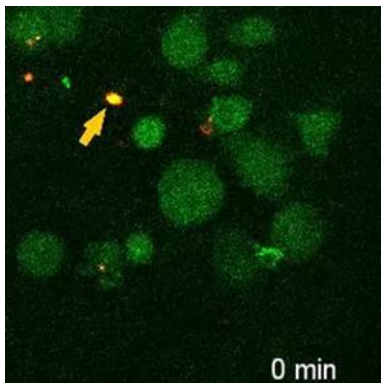
Avaluar les interaccions macròfag-CA



Cultius de macròfags THP-1

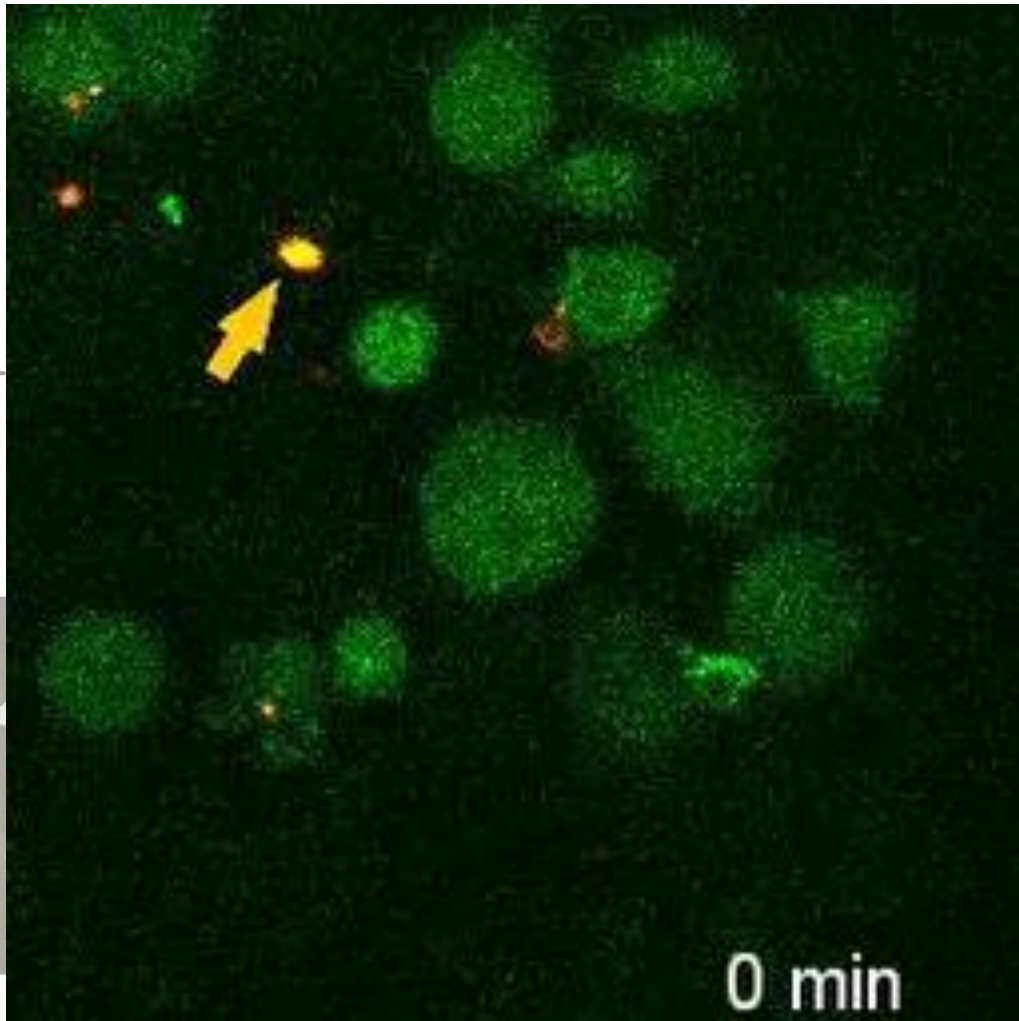


Time-lapse

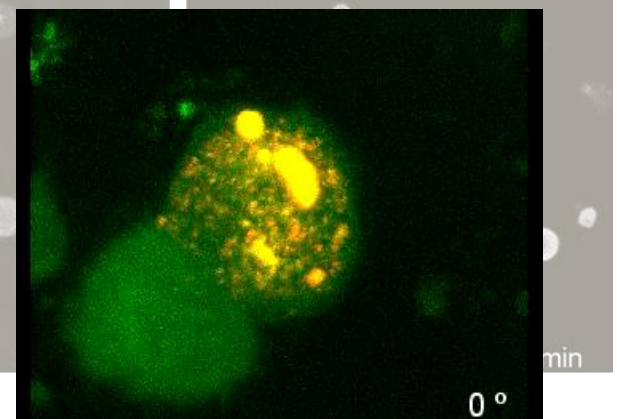
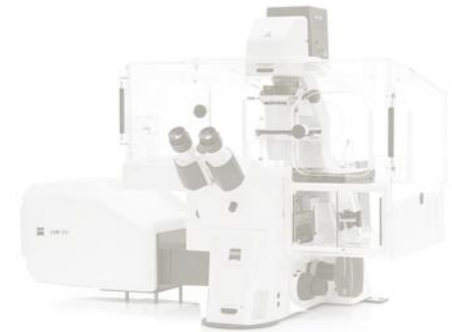


Els macròfags THP-1 fagociten els CA marcats amb ConA

Avaluar les interaccions macròfag-CA



Time-lapse



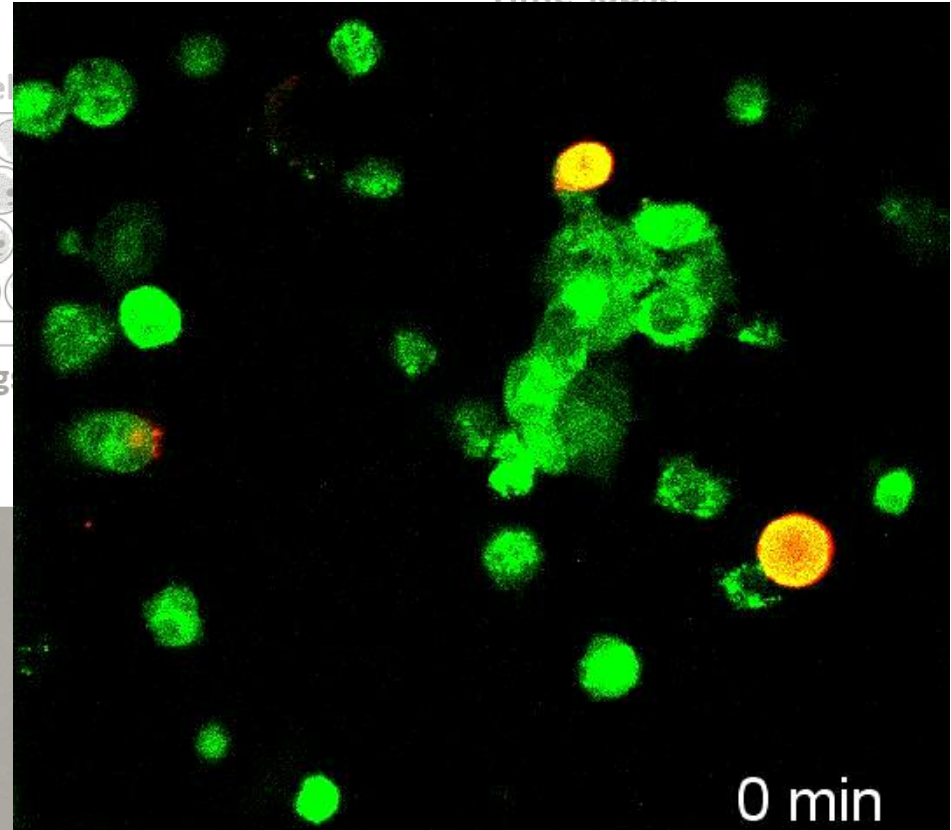
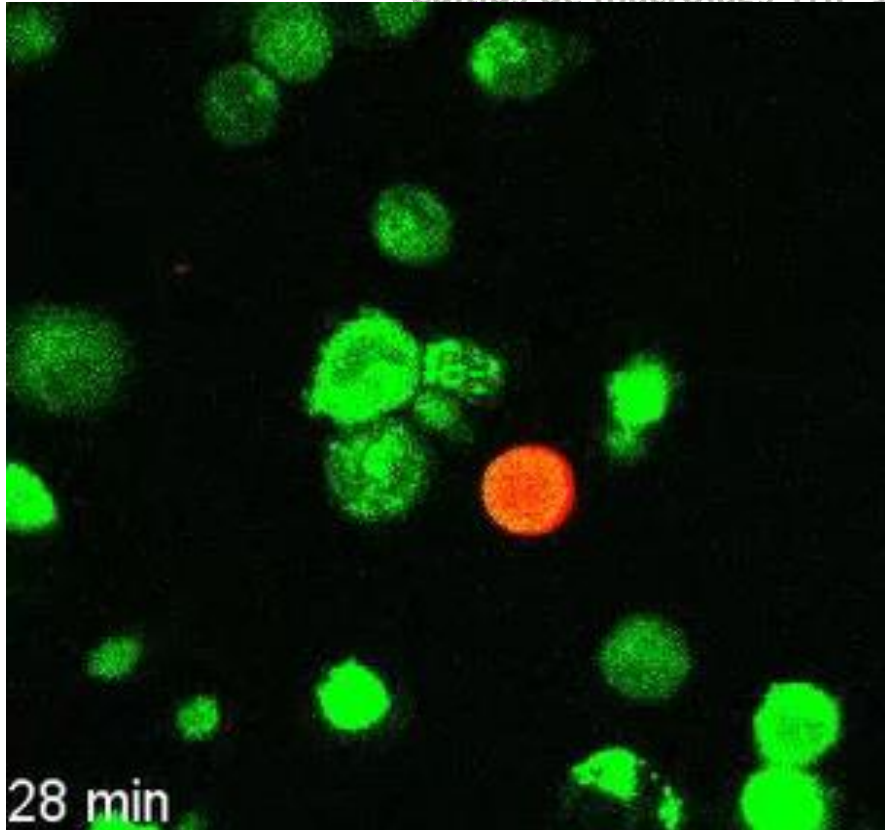
Els macròfags THP-1 fagociten els CA marcats amb ConA



Avaluar les interaccions macròfag-CA

Cultius de macròfags THP-1

Time-lapse



0 min

0 °

28 min

0 min

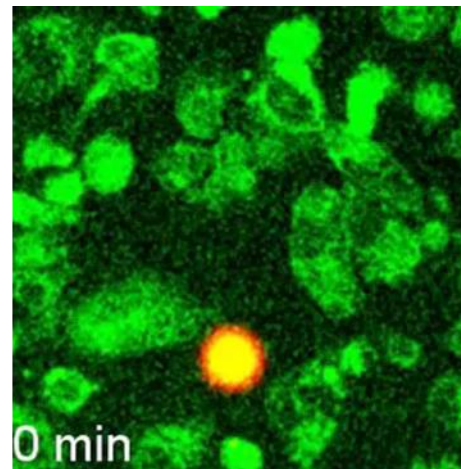
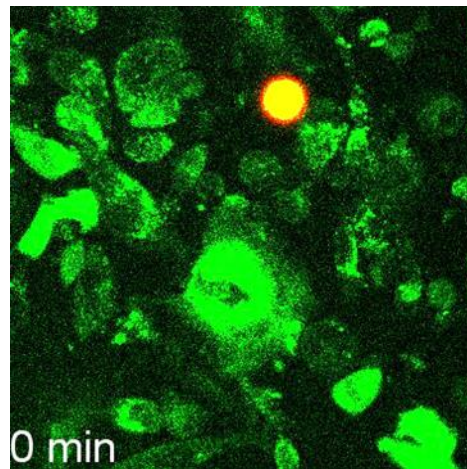
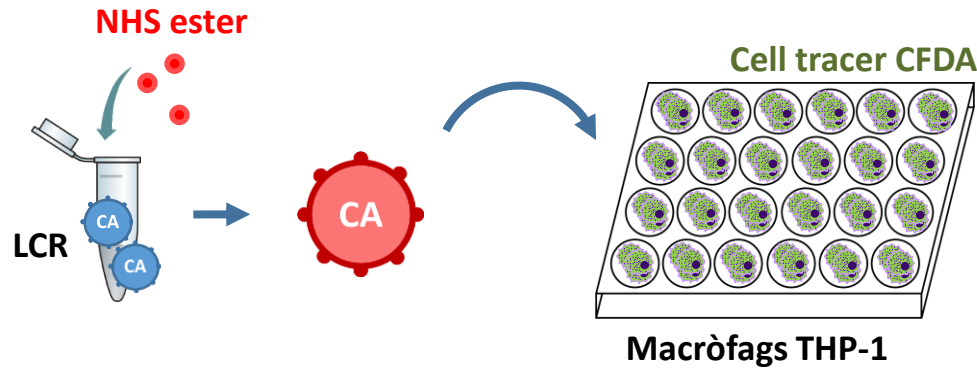
Els macròfags THP-1 fagociten els CA marcats amb ConA



Avaluar les interaccions macròfag-CA

Cultius de macròfags THP-1

Time-lapse



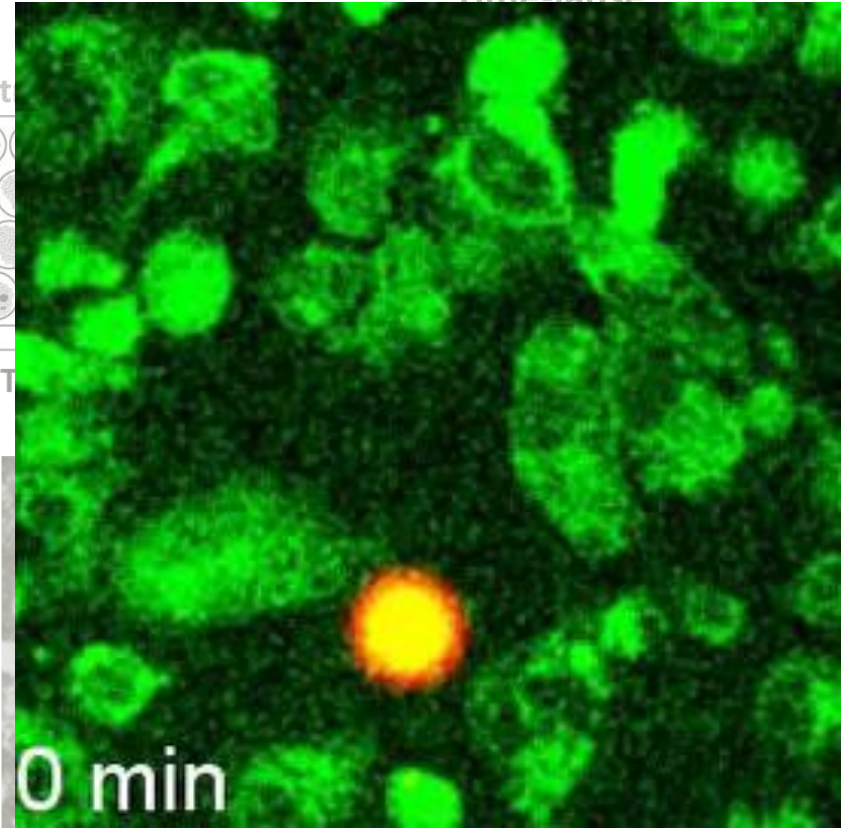
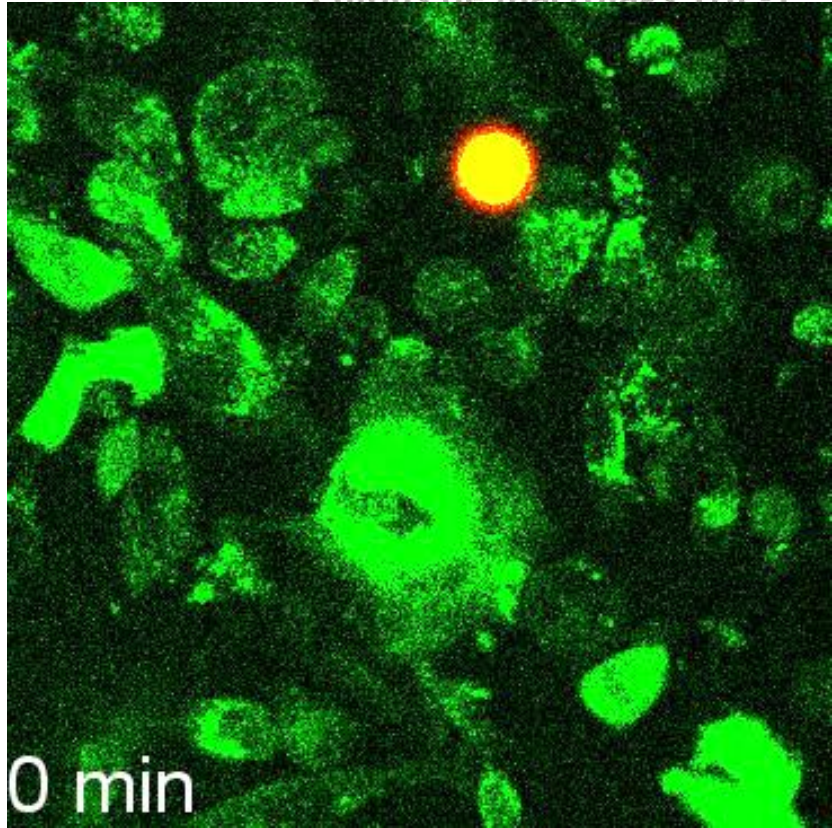
Els macròfags THP-1 fagociten els CA marcats amb NHS ester



Avaluar les interaccions macròfag-CA

Cultius de macròfags THP-1

Time-lapse



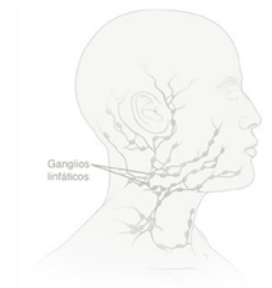
Els macròfags THP-1 fagociten els CA marcats amb NHS ester

Objectius

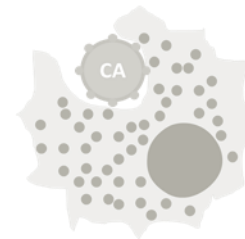


1 Determinar la presència de **CA** al **LCR**.

2 Determinar la presència de **CA** als **ganglis limfàtics cervicals**.



3 Estudiar les interaccions entre **CA** i **macròfags**.



4 Determinar la **naturalesa** dels **NE**.



Cossos amilacis cerebrals

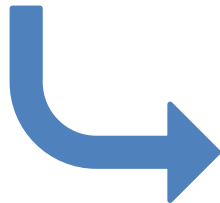
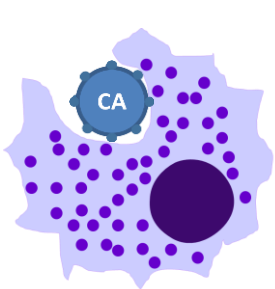
Neo-epítops


- Els cossos amilacis (CA) cerebrals contenen **neo-epítops** (NE)

Els NE són epítops que apareixen *de novo* en el propi organisme (en restes cel·lulars, cossos apoptòtics...)

- Els NE dels CA són reconeguts per **IgM naturals**

Els **anticossos naturals** intervenen en l'**eliminació de residus propis**. El complex anticòs natural - NE pot actuar com a senyals *eat-me per macròfags*

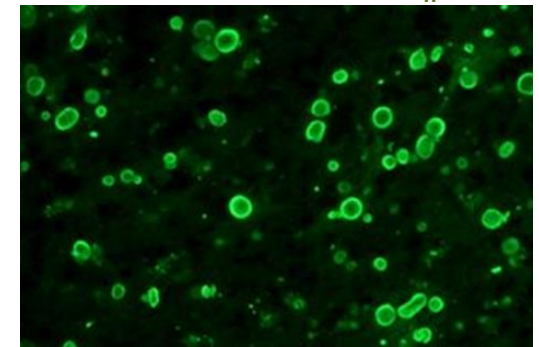


Els CA poden ser fagocitats per macròfags 

Es desconeix la composició dels NE dels CA



IgM_h α-NE



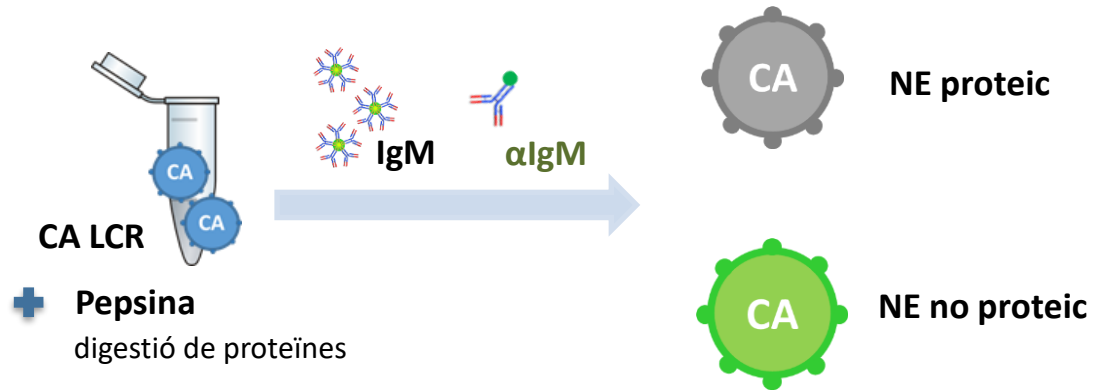
Augé et al., 2017

Determinació de la naturalesa dels NE dels CA

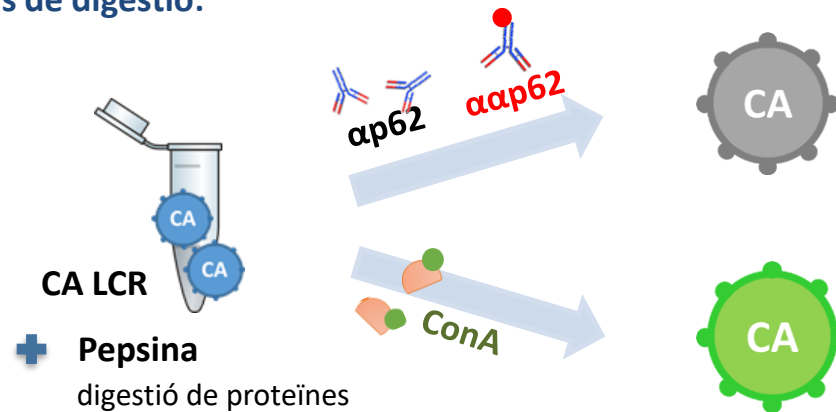


Els NE dels CA són proteïnes ?

1) Digestions amb pepsina



Controls de digestió:

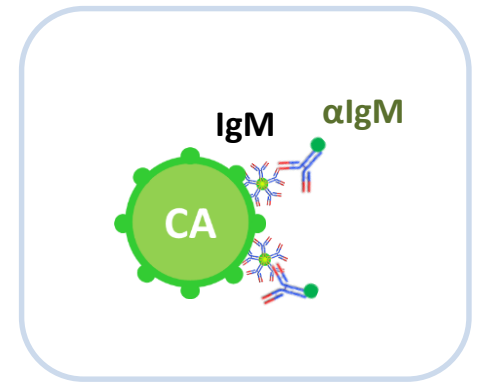
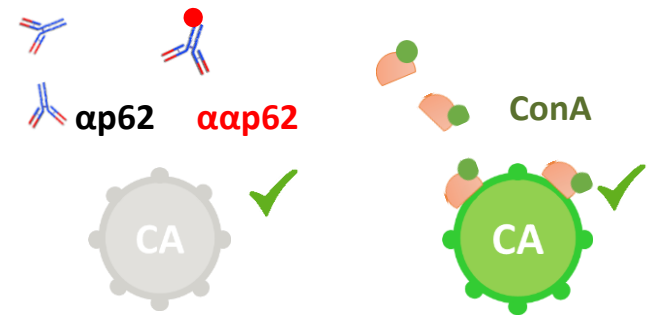
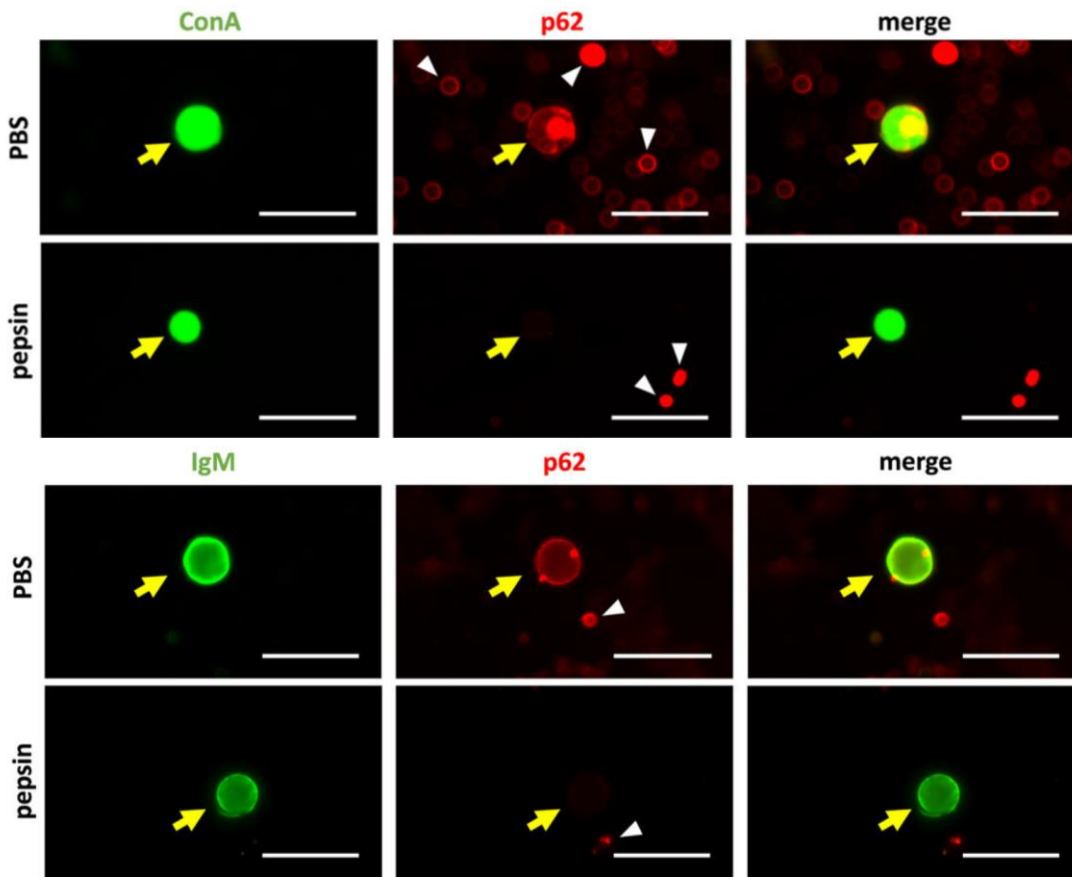


Determinació de la naturalesa dels NE dels CA



Els NE dels CA són proteïnes ?

1) Digestions amb pepsina



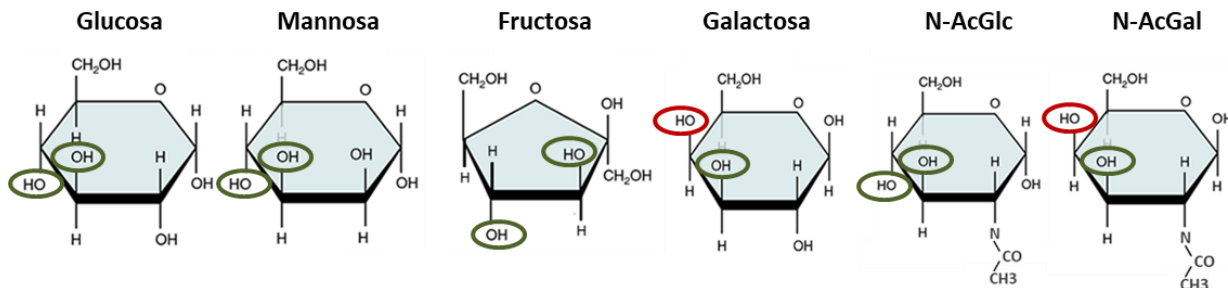
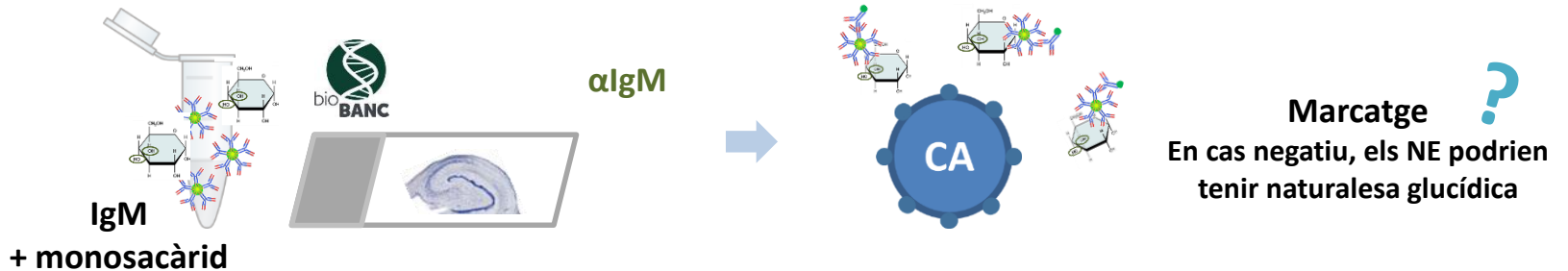
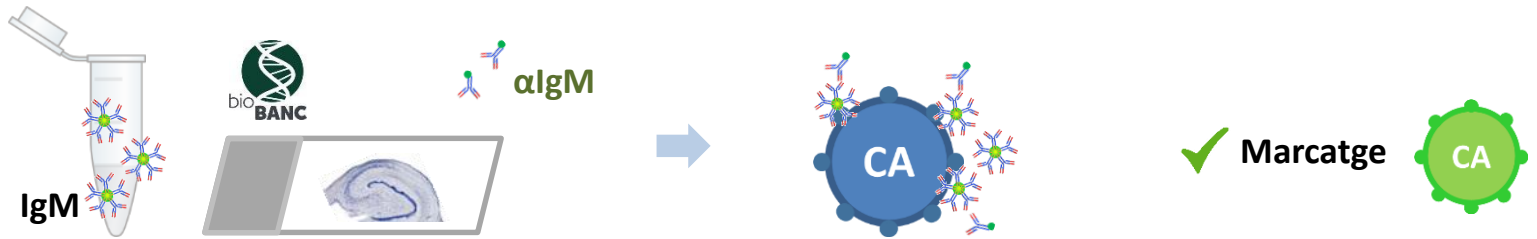
Els NE no són proteïnes

Determinació de la naturalesa dels NE dels CA



Els NE dels CA són glúcids ?

1) Preadsorcions amb monosacàrids



Determinació de la naturalesa dels NE dels CA



Els NE dels CA són glúcids



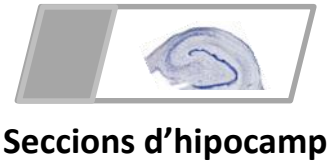
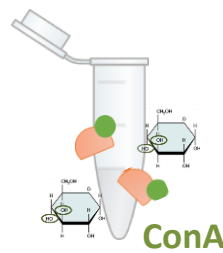
2) Controls de preadsorcions amb monosacàrids

Controls + de preadsorció

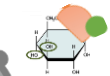
ConA

Reconeix polisacàrids

Zona d'unió és inhibida per Glc, Man, Fru i NAcGl, però no per Gal ni NAcGal



Marcatge ?



Glucosa

Mannosa

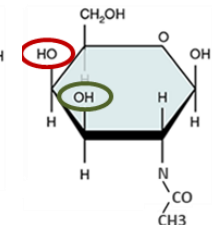
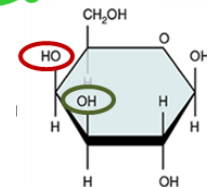
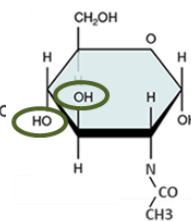
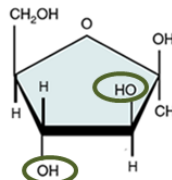
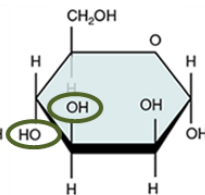
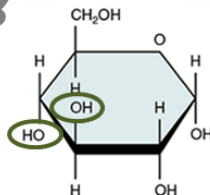
Fructosa

N-AcGlc

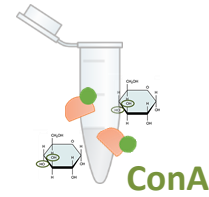


Galactosa

N-AcGal



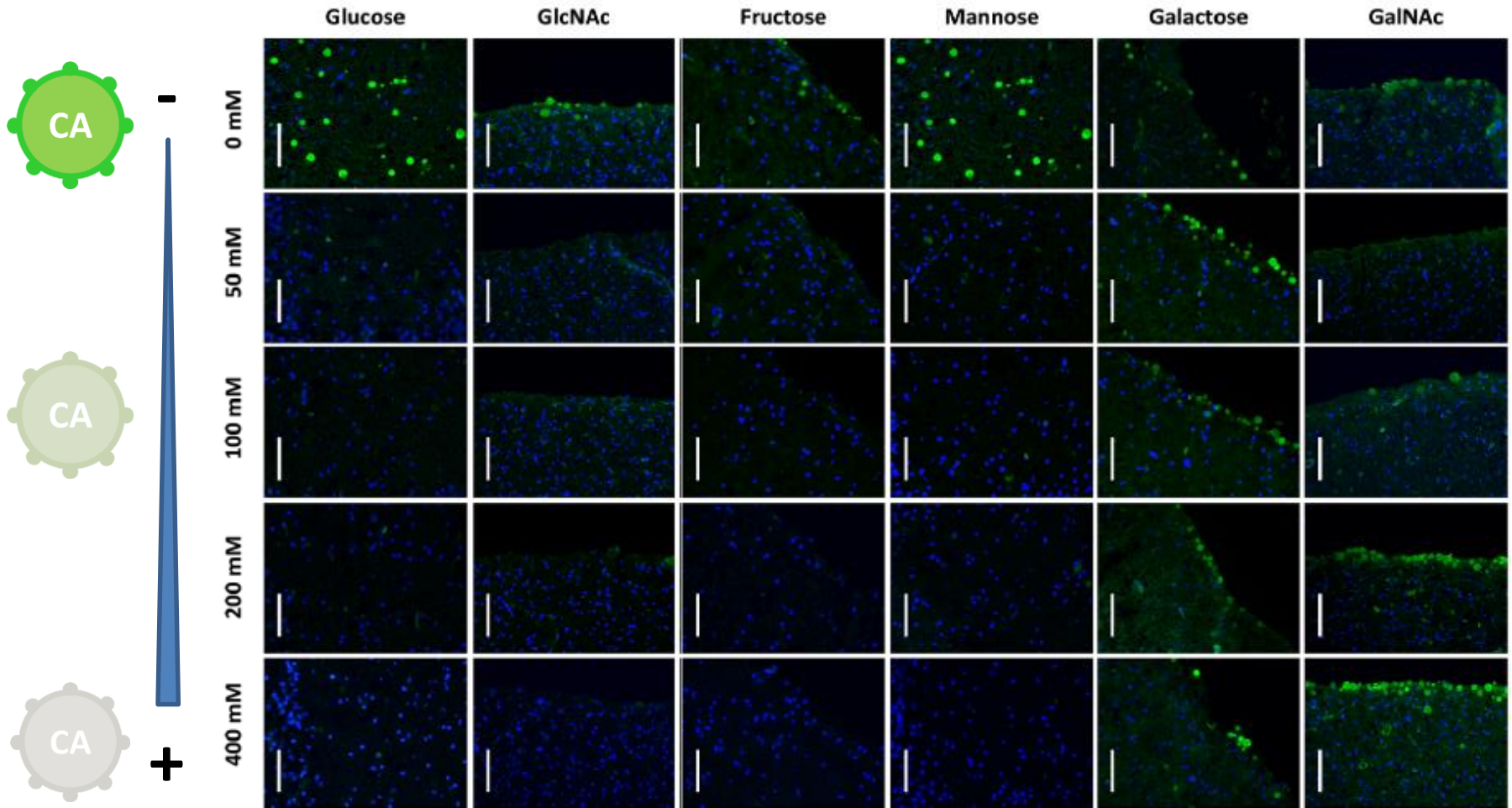
Determinació de la naturalesa dels NE dels CA



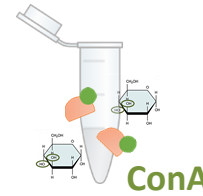
✗ Galactosa
NACGal



2) Control + (ConA+monosacàrid)



Determinació de la naturalesa dels NE dels CA

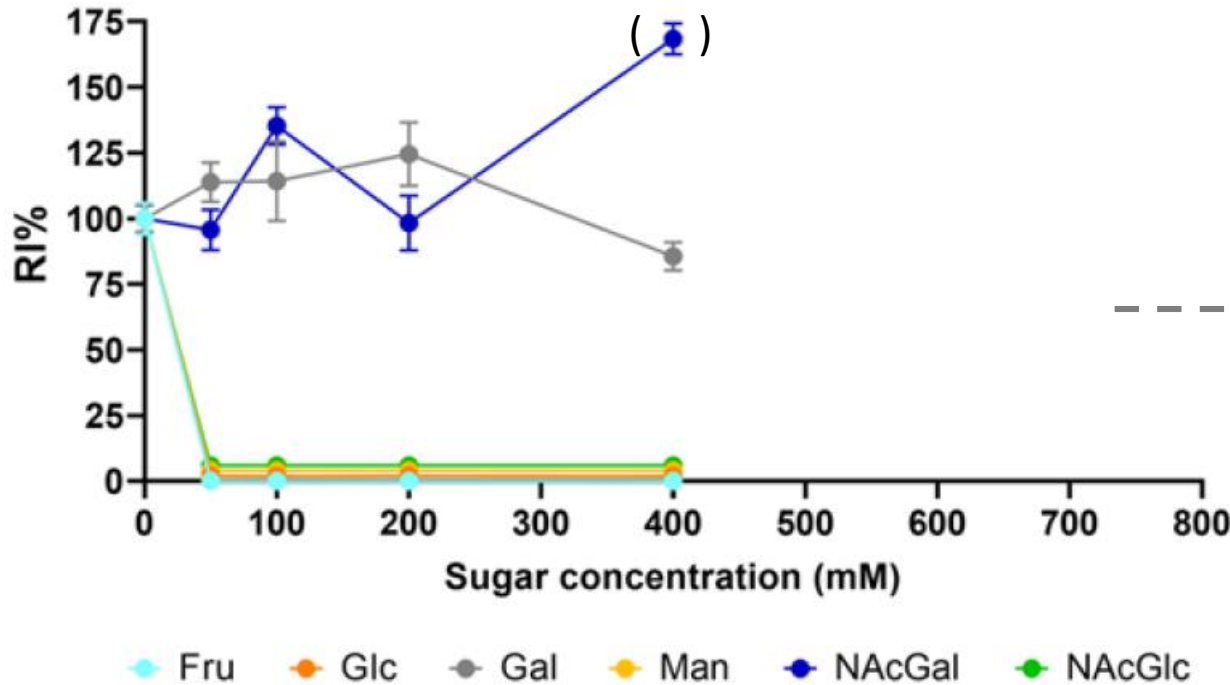


Galactosa
NACGal



2) Control + (ConA+monosacàrid)

Intensitat mitjana de fluorescència (RI%) respecte la concentració de sucre



NO disminueix marcatge CA

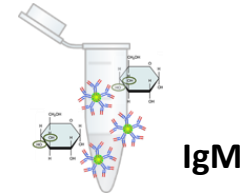
- Galactosa
 - N-Acetilgalactosamina
- ($p > 0,01$ respecte concentració 0 mM)

SÍ disminueix marcatge CA

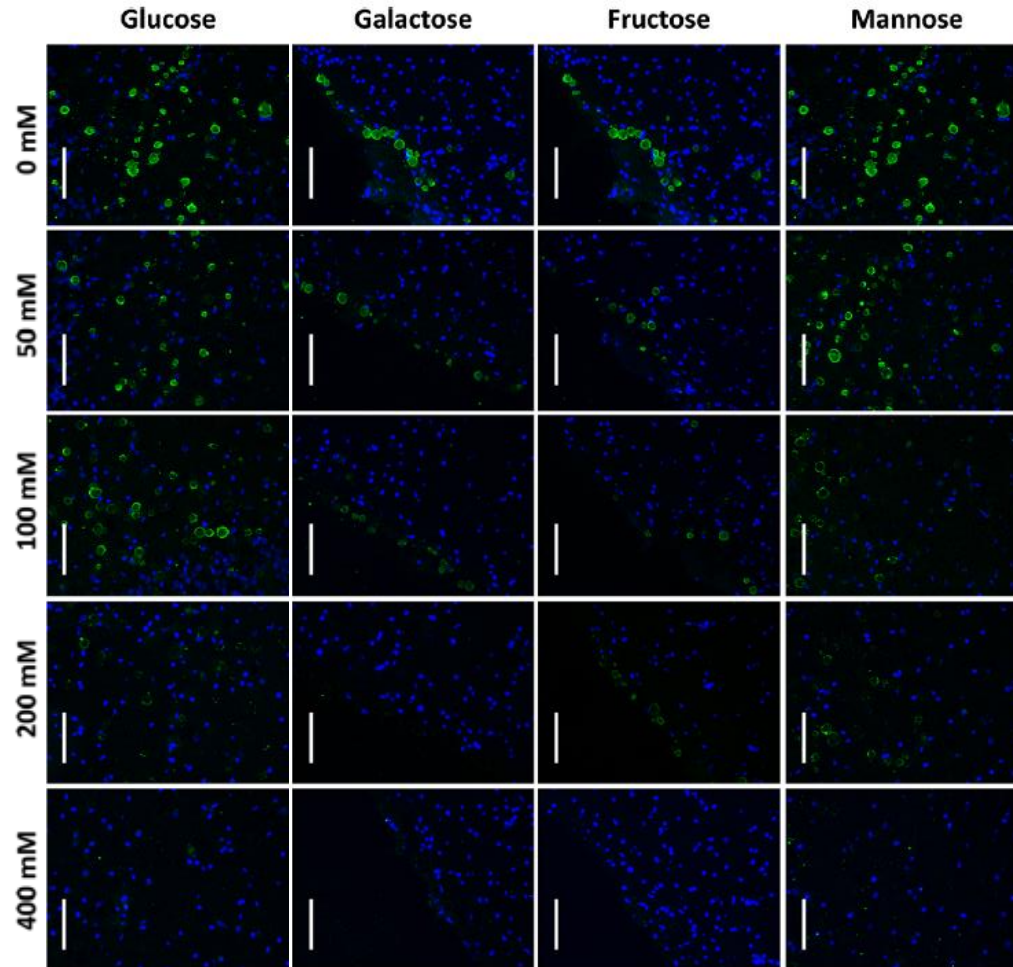
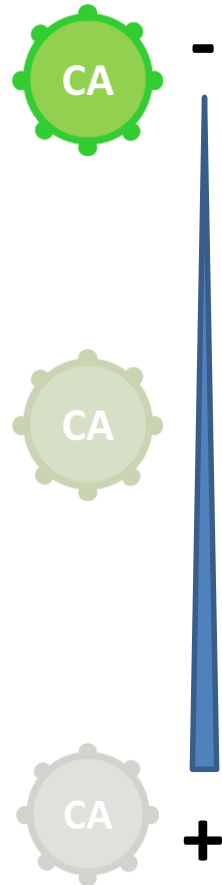
- Glucosa
 - Mannosa
 - Fructosa
 - N-Acetilglucosamina
- ($p > 0,01$ respecte concentració 0 mM)

Comportament esperat

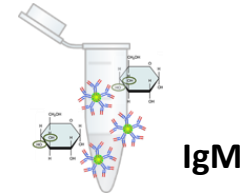
Determinació de la naturalesa dels NE dels CA



2) Preadsorció d'IgM amb monosacàrids

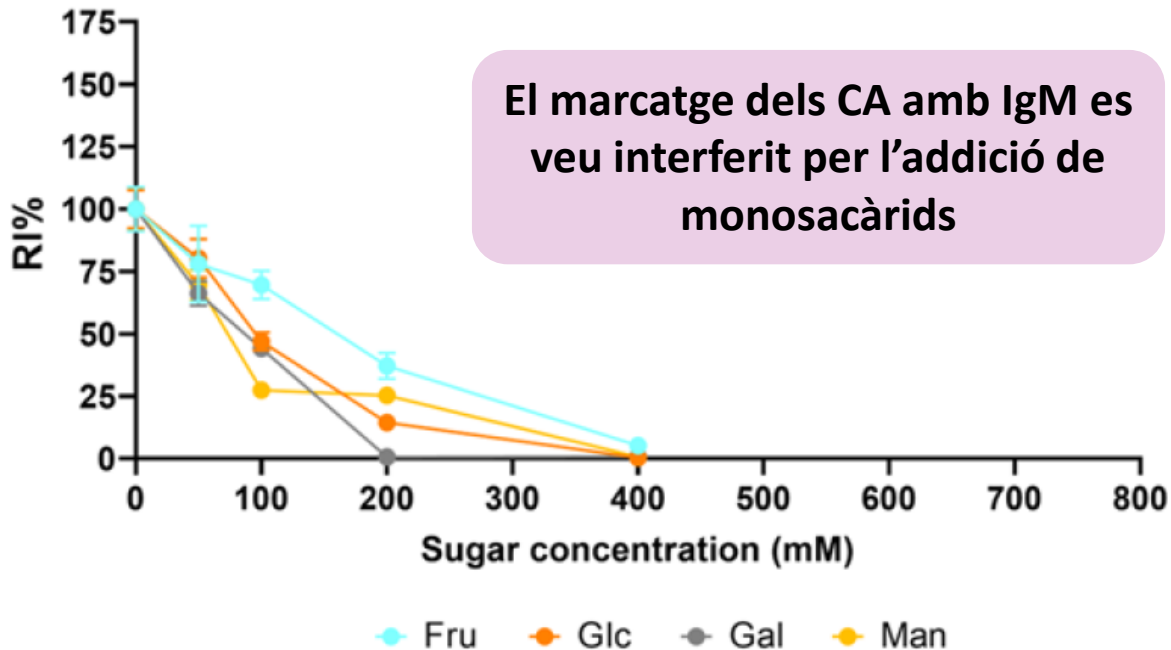


Determinació de la naturalesa dels NE dels CA



2) Preadsorció d'IgM amb monosacàrids

Intensitat mitjana de fluorescència (RI%) respecte la concentració de sucre



El marcatge dels CA amb IgM es veu interferit per l'addició de monosacàrids

Sí disminueix marcatge CA

- Fructosa
- Glucosa
- Galactosa
- Mannosa

($p > 0,01$ respecte concentració 0 mM)



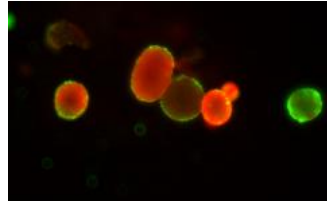
Les IgM que reconeixen els NE dels CA s'uneixen a sucres

Els NE serien glúcids

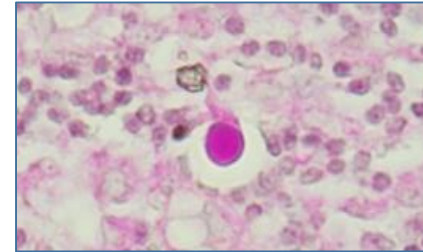
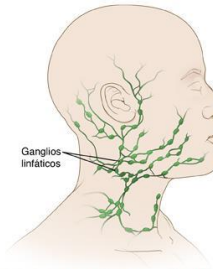
Conclusions



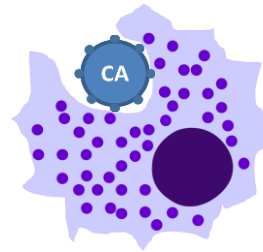
✓ El LCR conté CA.



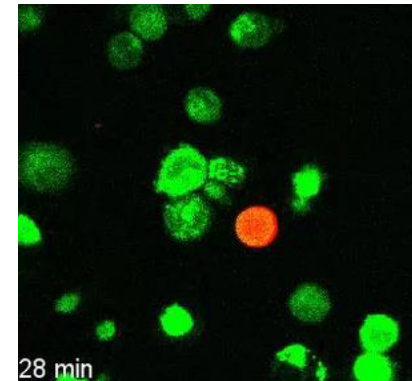
✓ Els ganglis limfàtics cervicals contenen CA.

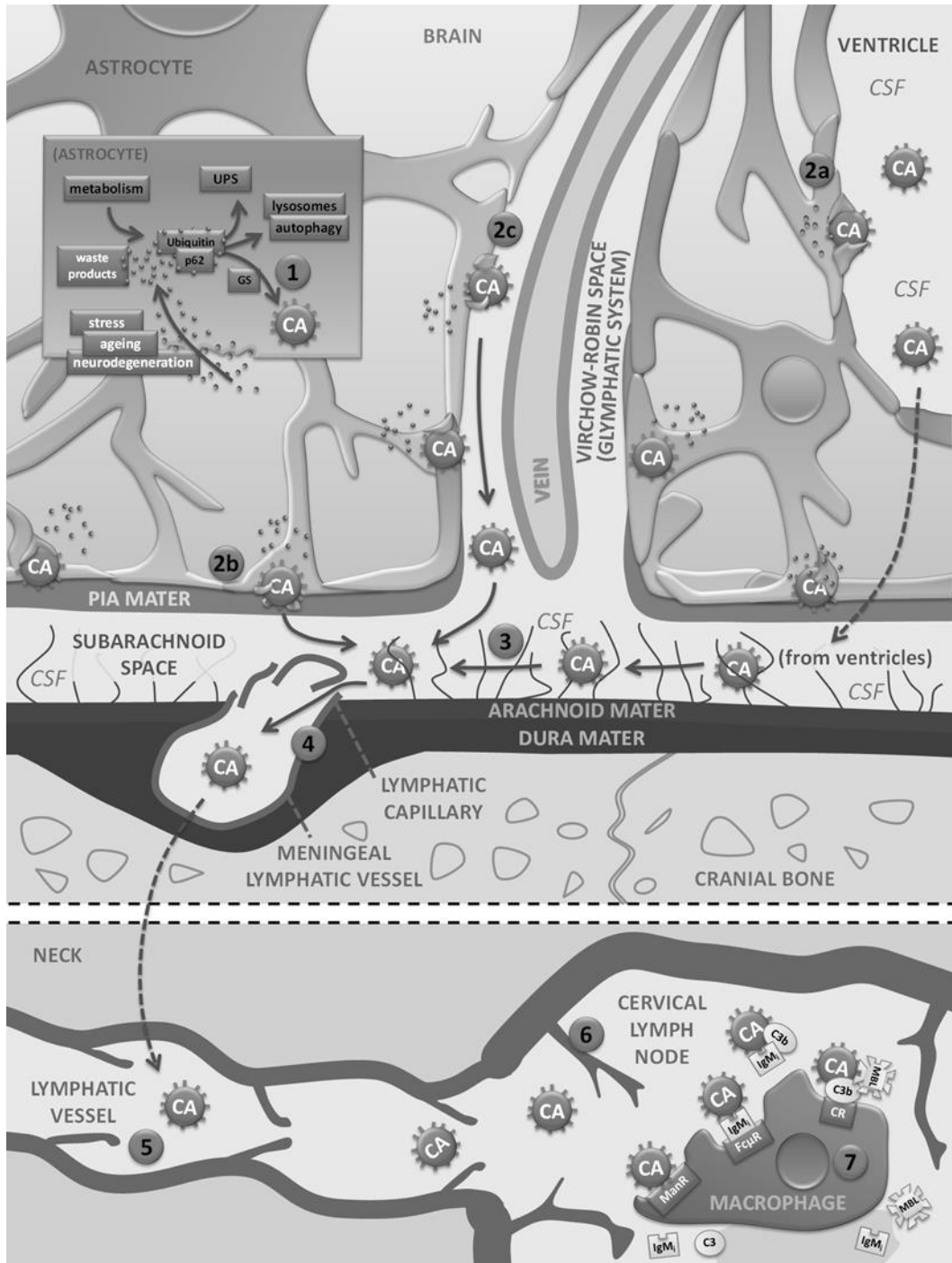


✓ Els CA són fagocitats per macròfags.



✓ Els NE dels CA són glucídics.





Conclusions

Els CA constitueixen un sistema d'eliminació de productes de rebuig del cervell.



Els cossos amilacis poden ser considerats **wasteosomes**

Corpora amylacea act as containers that remove waste products from the brain

Marta Riba^{a,b,c,1}, Elisabet Augé^{a,b,c,1}, Joan Campo-Sabariz^{a,d}, David Moral-Anter^{a,d}, Laura Molina-Porcel^e, Teresa Ximelis^e, Ruth Ferrer^{a,d}, Raquel Martín-Venegas^{a,d}, Carme Pelegrí^{a,b,c,2}, and Jordi Vilaplana^{a,b,c,2}



ORIGINAL RESEARCH
published: 28 June 2021
doi: 10.3389/fimmu.2021.618193

Ageing Research Reviews 72 (2021) 101484



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Ageing Research Reviews

journal homepage: www.elsevier.com/locate/arr

Corpora Amylacea in the Human Brain Exhibit Neopeptides of a Carbohydrate Nature

Marta Riba^{1,2,3†}, Elisabet Augé^{1,2,3†}, Iraidia Tena¹, Jaume del Valle^{1,2,3}, Laura Molina-Porcel^{4,5}, Teresa Ximelis^{4,5}, Jordi Vilaplana^{1,2,3*†} and Carme Pelegrí^{1,2,3†}

From *corpora amylacea* to wasteosomes: History and perspectives

Marta Riba^{a,b,c}, Jaume del Valle^{a,b,c}, Elisabet Augé^{a,b,c}, Jordi Vilaplana^{a,b,c,*,1}, Carme Pelegrí^{a,b,c,1}

Journal of Neuroinflammation

Wasteosomes (*corpora amylacea*) of human brain are phagocytosed by non-inflammatory macrophages

--Manuscript Draft--

Marta Riba, Joan Campo-Sabariz, Iraidia Tena, Laura Molina-Porcel, Teresa Ximelis, Maria Calvo, Ruth Ferrer, Raquel Martín-Venegas, Jaume del Valle, Jordi Vilaplana, Carme Pelegrí

(en revisió)

Agraïments



Banc de Teixits Neurològics

Laura Molina

Teresa Ximelis

Gemma Aragonès

Servei de Microscòpia Avançada

Maria Calvo

Gemma Martín

Elisenda Coll

Servei de Microscòpia Electrònica

Eva Prats

Josep Manel Rebled



BFU2016-78398-P; PID2020-115475GB-I00



Institut de Neurociències
UNIVERSITAT DE BARCELONA



Generalitat
de Catalunya

2017/SGR625



Agència
de Gestió
d'Ajuts
Universitaris
i de Recerca

Agraïments

carmepegri@ub.edu
vilaplana@ub.edu
idelvalle@ub.edu
mriba@ub.edu



Ban



onica



BFU2016-78398-P; PID2020-115475GB-I00



Institut de Neurociències
UNIVERSITAT DE BARCELONA



Generalitat
de Catalunya

2017/SGR625



Agència
de Gestió
d'Ajuts
Universitaris
i de Recerca

Eliminació de substàncies de rebuig cerebrals mitjançant *wasteosomes* (cossos amilacis)

Marta Riba Baques
2022

Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació
Departament de Bioquímica i Fisiologia
Grup de la Barrera Hematoencefàlica



UNIVERSITAT DE
BARCELONA



Institut de Neurociències
UNIVERSITAT DE BARCELONA