



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

Marta Riba Baques

Març 2022

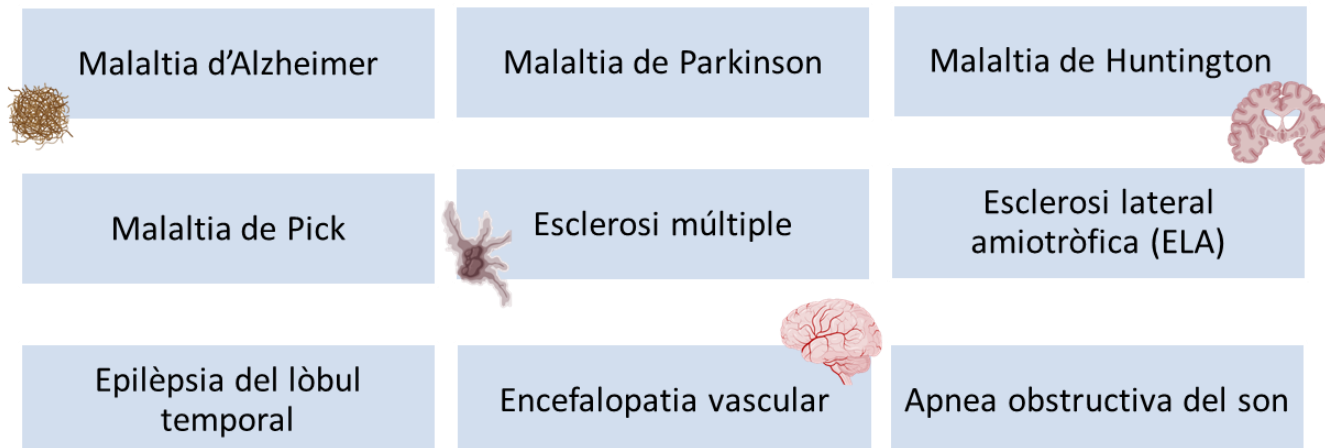
Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació  
Departament de Bioquímica i Fisiologia  
Grup de la Barrera Hematoencefàlica



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Cossos amilacis cerebrals

- Van ser descrits per primera vegada per JE Purkinje l'any 1837
- Estructures glicoprotèiques
- Esfèrics (2-20  $\mu\text{m}$  de diàmetre)
- S'acumulen al cervell humà durant l'**envelliment** i algunes **malalties** majoritàriament **neurodegeneratives**



# Cossos amilacis cerebrals



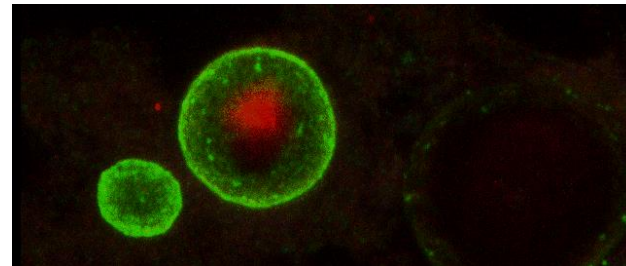
## Composició

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

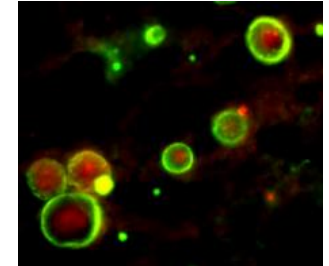


Eliminació de substàncies de rebuig

GS + Ubi

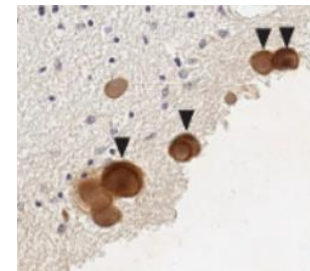


Ubi + p62

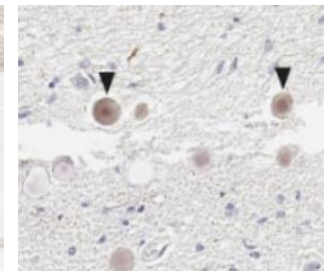


Augé *et al.*, 2018

Tau1



Tau5



Wander *et al.*, 2020

1) Els CA acumulen substàncies de rebuig

## Cossos amilacis cerebrals

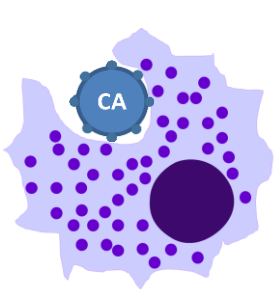
### CA Neo-epítops

- 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

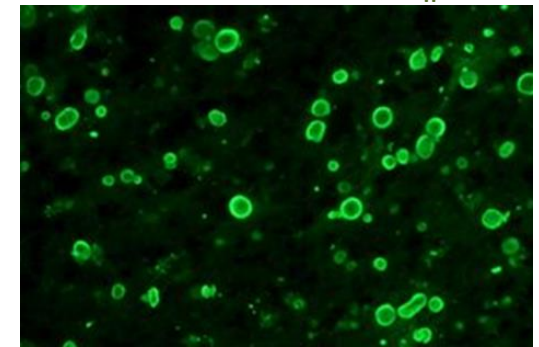


Els CA poden ser fagocitats per macròfags

2) Els CA podrien ser fagocitats per macròfags



IgM<sub>h</sub> α-NE

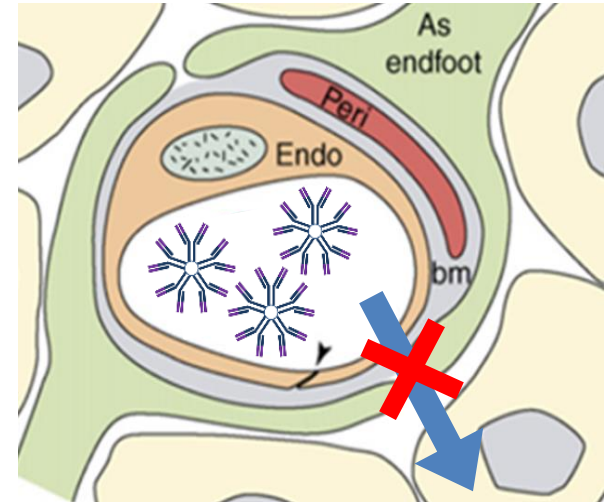


Augé et al., 2017

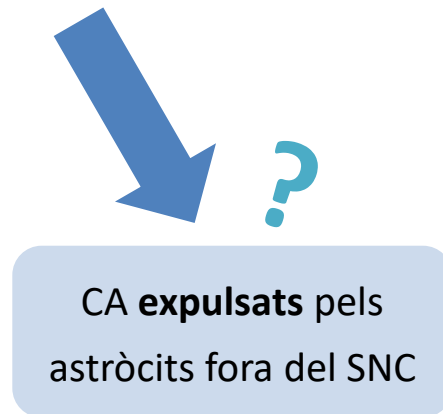
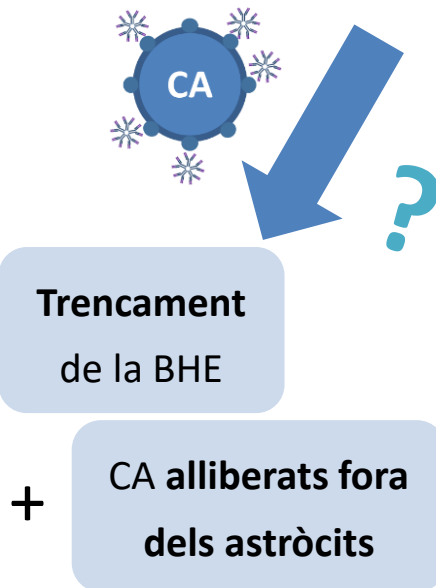
## Cossos amilacis cerebrals

### ❄ Interacció entre IgMs i neo-epítops

- A causa de la barrera hematoencefàlica (BHE), les **IgM no accedeixen al sistema nerviós central (SNC)**.
- En el SNC els **CA són intracel·lulars (intra-astrocítics)**



Saunders *et al.*, 2008

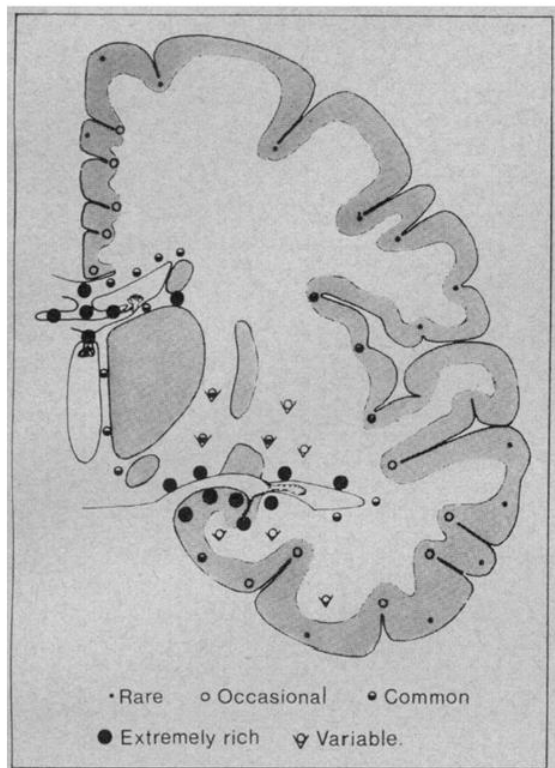






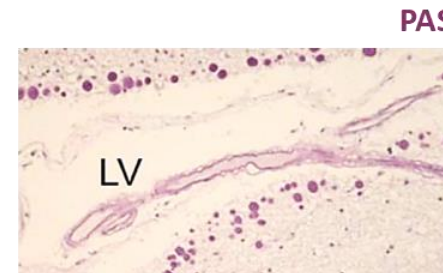
# Cossos amilacis cerebrals

## Localització



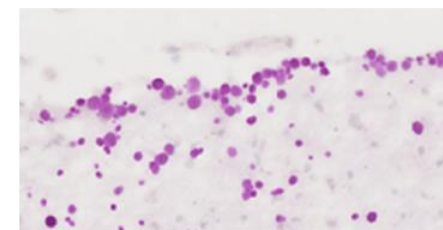
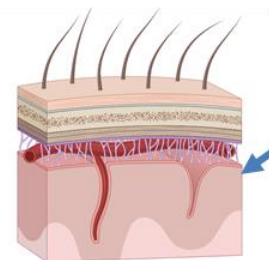
Sakai *et al.*, 1969

### Periventriculars



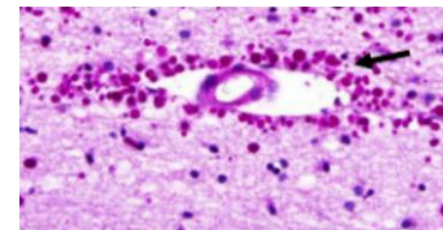
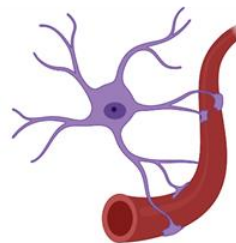
Nam *et al.*, 2012

### Subpials



Augé *et al.*, 2018

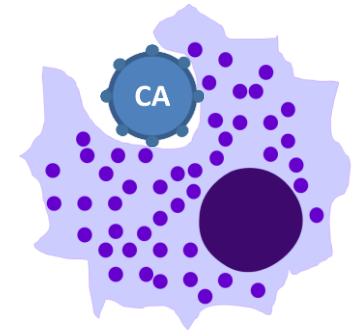
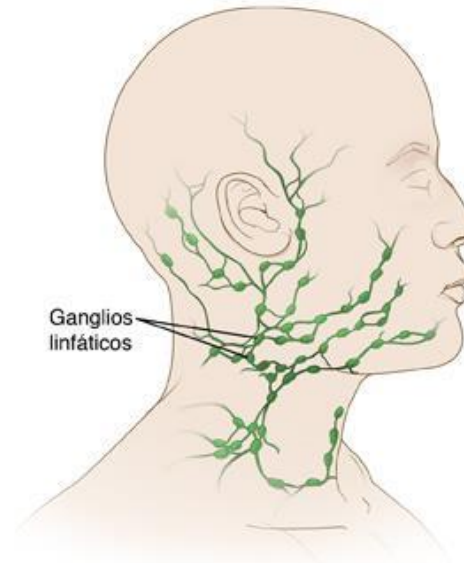
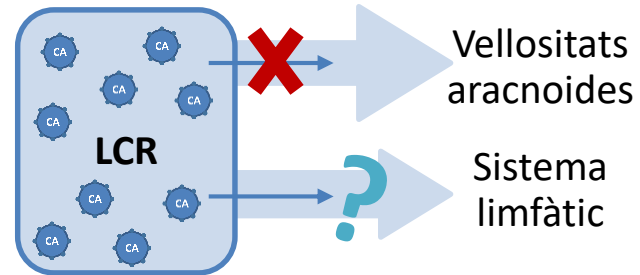
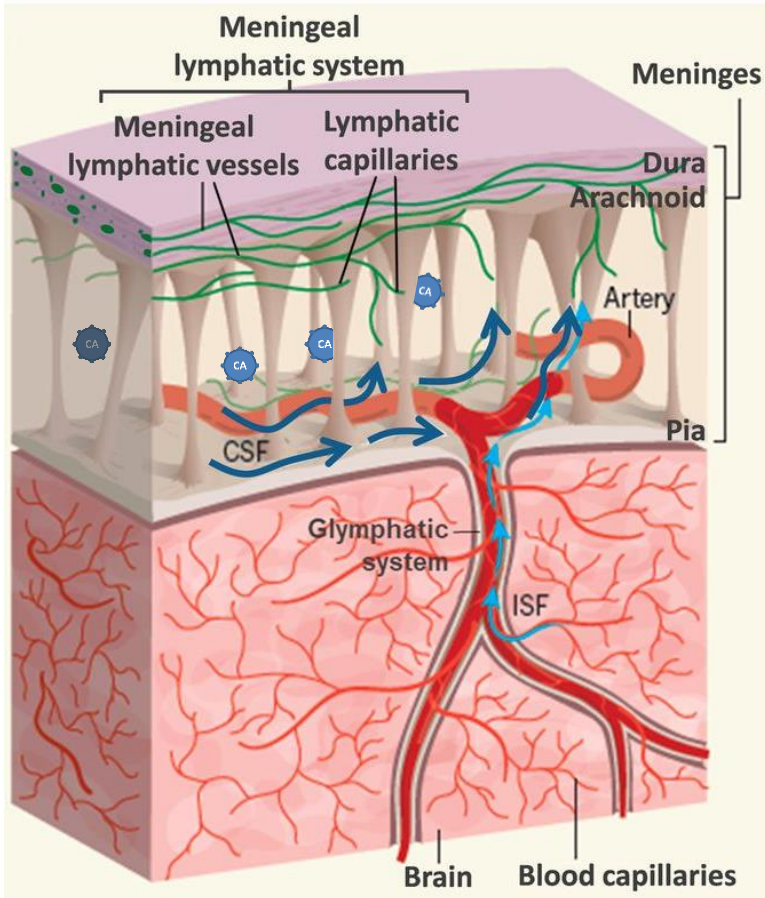
### Perivasculars



REGIONS RELACIONADES AMB EL LÍQUID CEFALORRAQUIDI (LCR)

3) Els CA podrien ser alliberats al LCR

## Cossos amilacis cerebrals



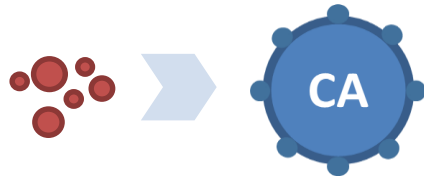
Adaptat de Sweeney i Zlokovic, 2018

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

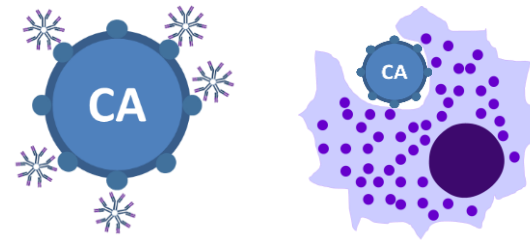
# Hipòtesi



1) Acumulen de **substàncies de rebuig**



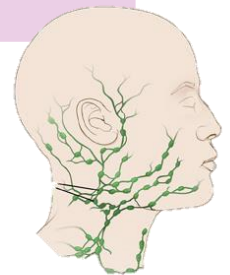
2) Contenen **NE** i podrien ser **fagocitats per macròfags**



3) Podrien ser **alliberats al LCR**



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



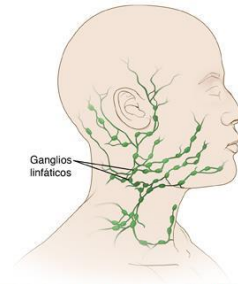


## Objectius

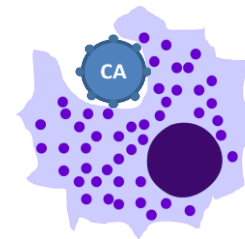


1 Determinar la presència de **CA** al **LCR**.

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



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



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

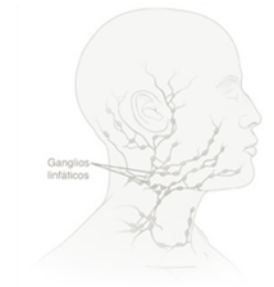


## Objectius



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**.



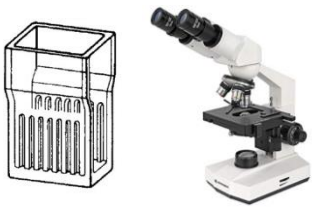
# Determinar la presència de CA al LCR



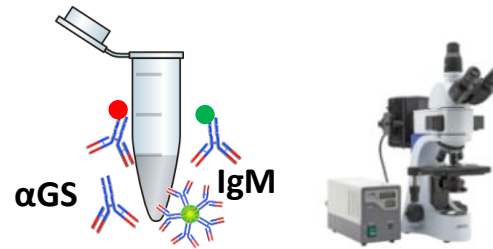
LCR ventricular humà



## Tinció de PAS



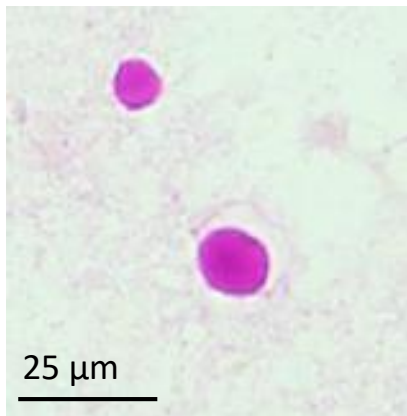
## Immunofluorescència



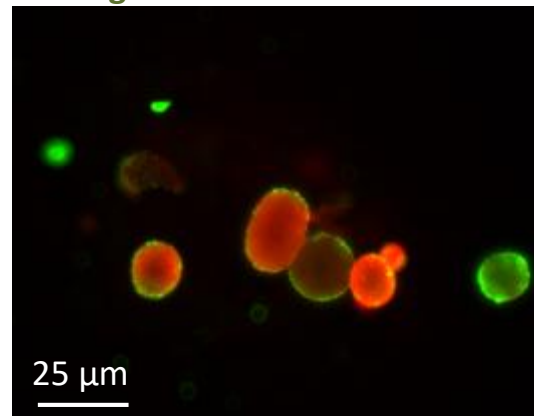
## Microscòpia electrònica de transmissió (MET) de rastreig (MER)



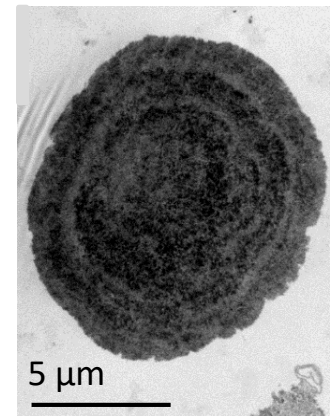
PAS



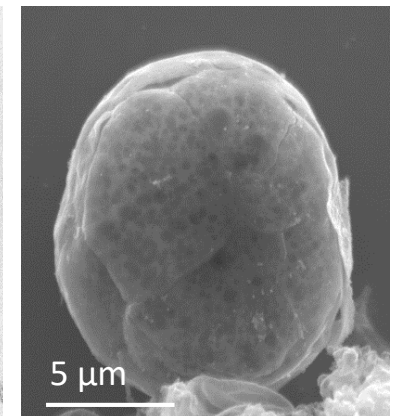
GS + IgM



MET



MER



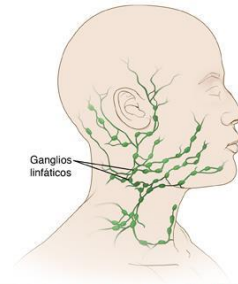
El LCR humà conté CA

## 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**.



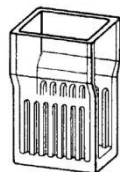
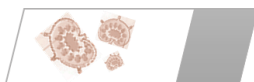
# Determinar la presència de CA als ganglis limfàtics cervicals



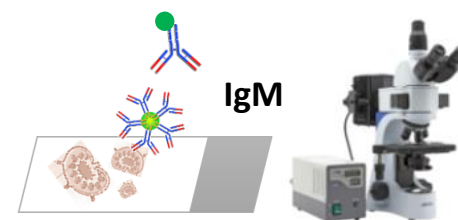
## Tinció de PAS



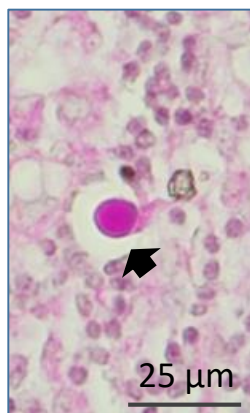
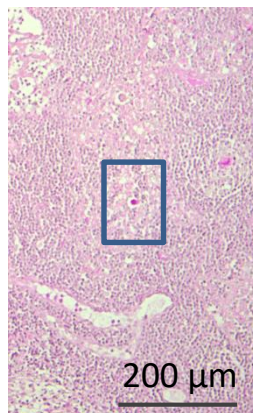
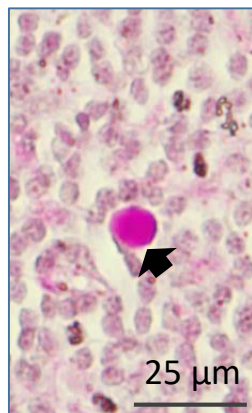
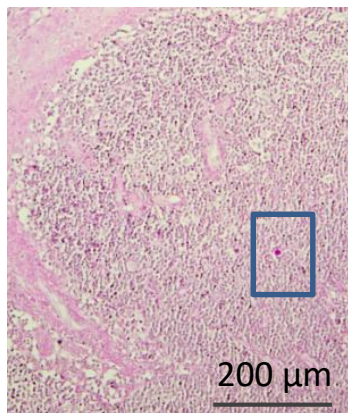
Ganglis limfàtics cervicals humans



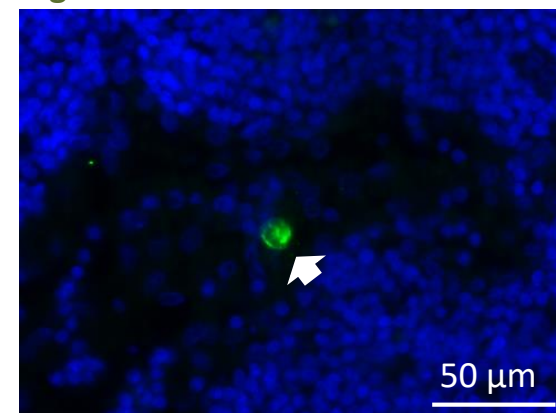
## Immunofluorescència



## PAS



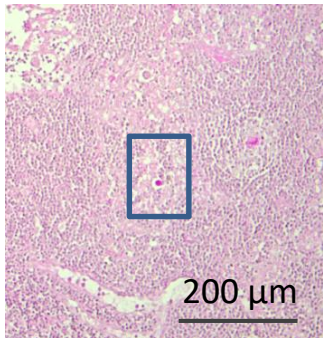
## IgM



Els ganglis limfàtics cervicals contenen CA



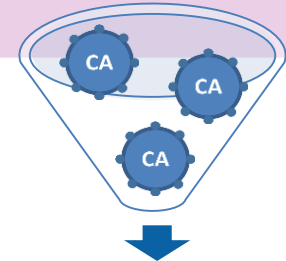
# Determinar la presència de CA als ganglis limfàtics cervicals



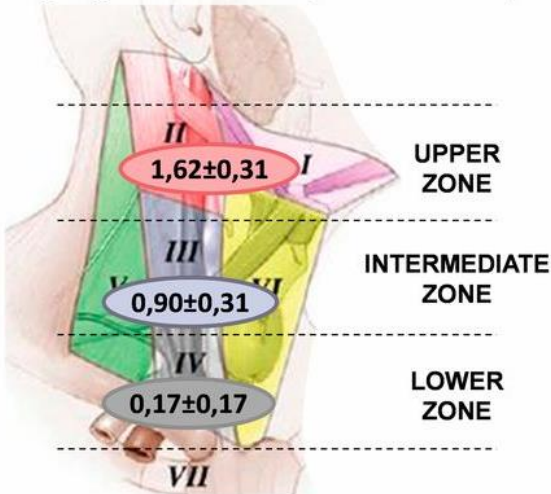
CA localitzats en zones de pas de la limfa

CA en contacte amb cèl·lules ganglionars

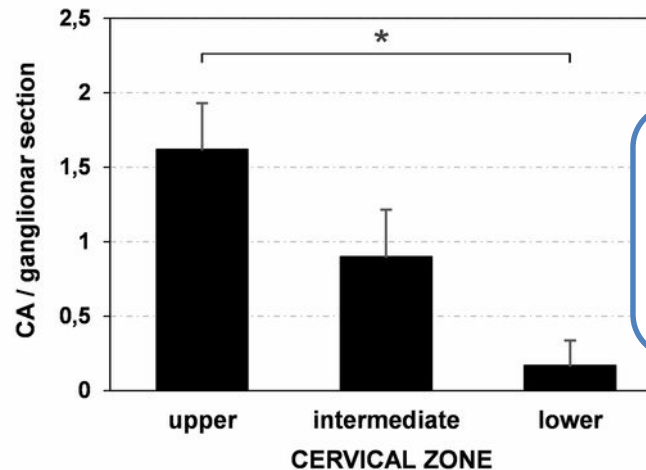
Els ganglis limfàtics cervicals actuarien de filtre en l'eliminació dels CA



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



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



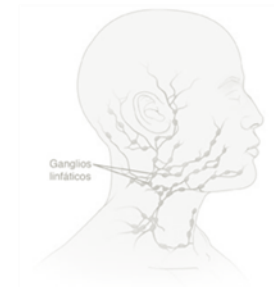
Major nombre de CA en els ganglis de la zona superior del coll respecte als ganglis de la zona inferior

## Objectius

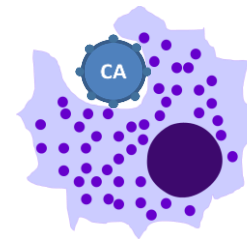


1 Determinar la presència de **CA** al **LCR**.

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



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



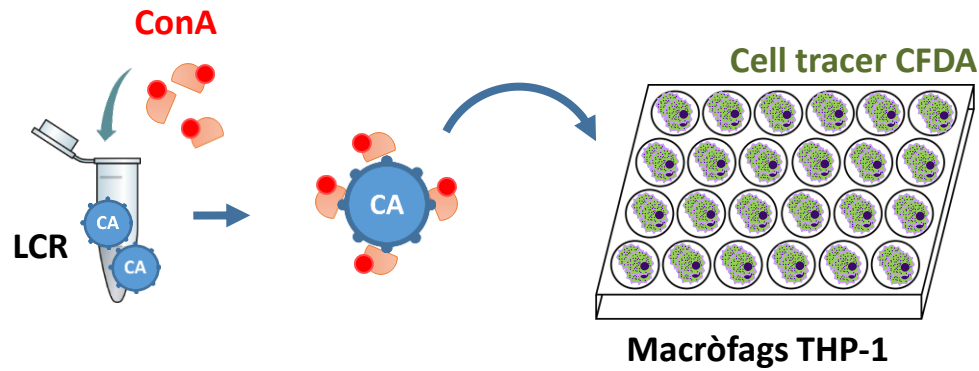
4 Determinar la **naturalesa** dels **NE**.



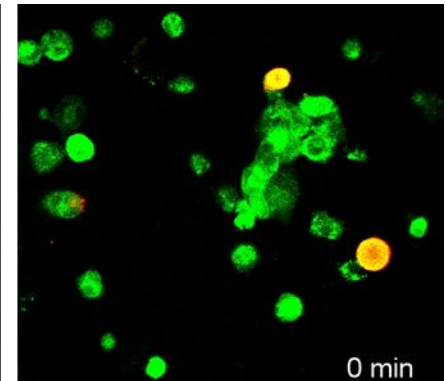
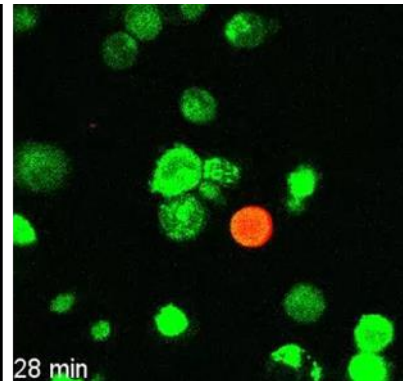
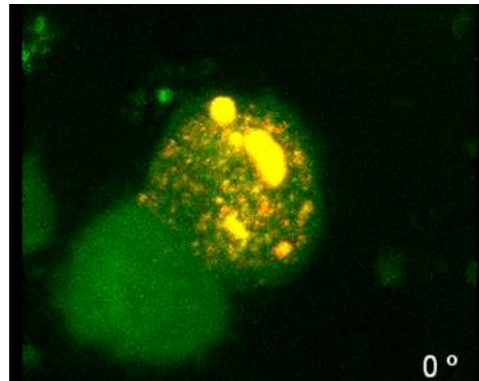
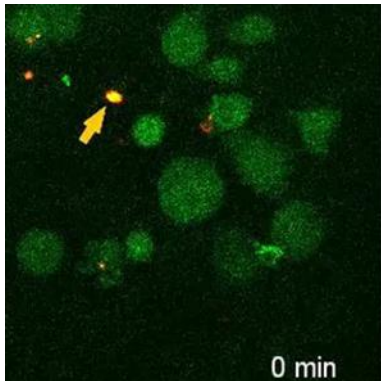
# Avaluar les interaccions macròfag-CA



## Cultius de macròfags THP-1



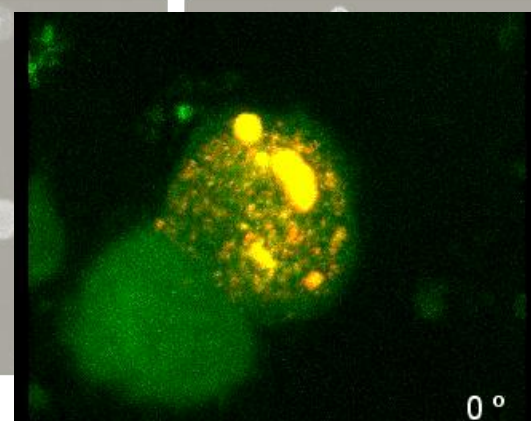
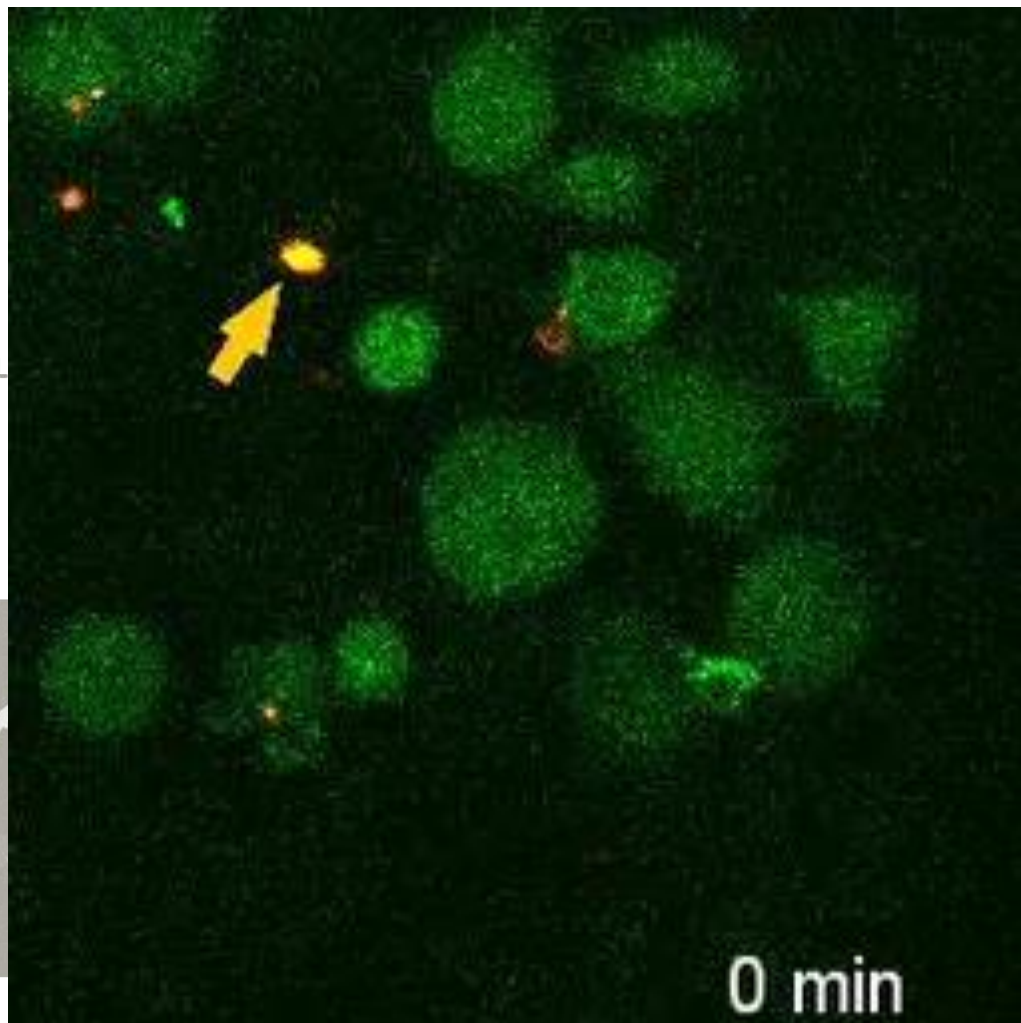
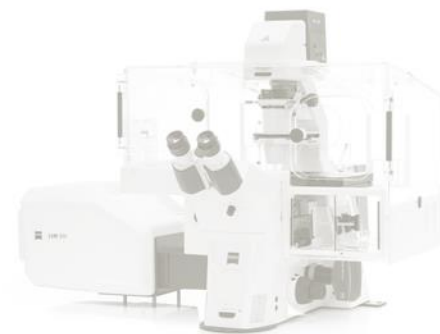
## Time-lapse



# Avaluar les interaccions macròfag-CA



Time-lapse



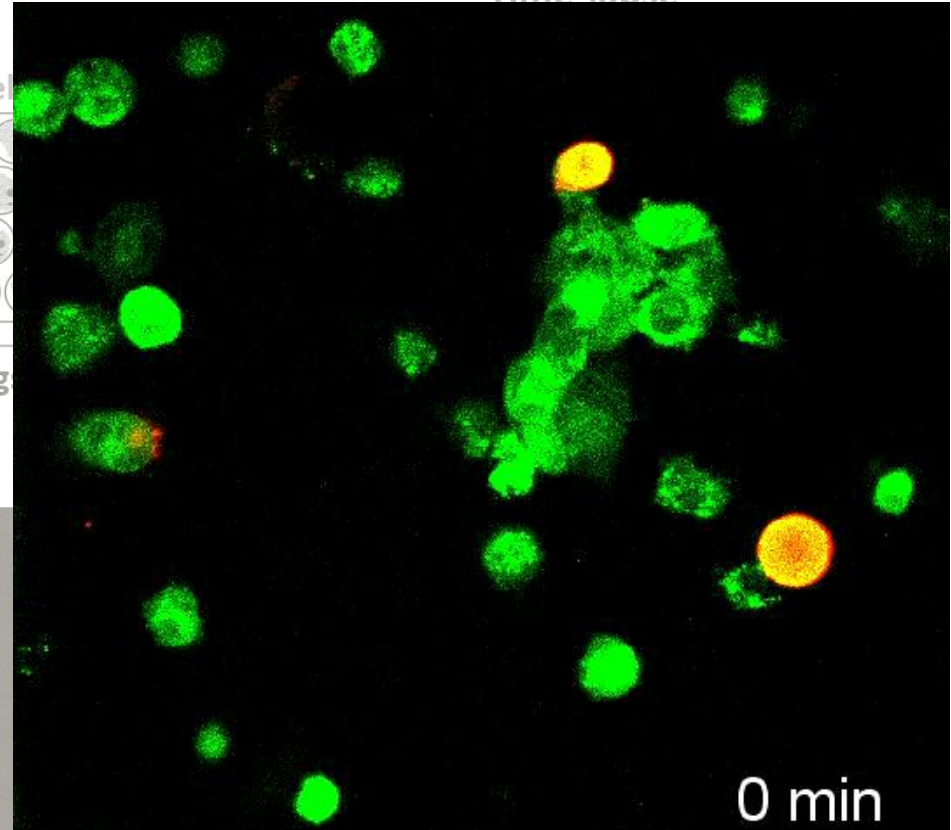
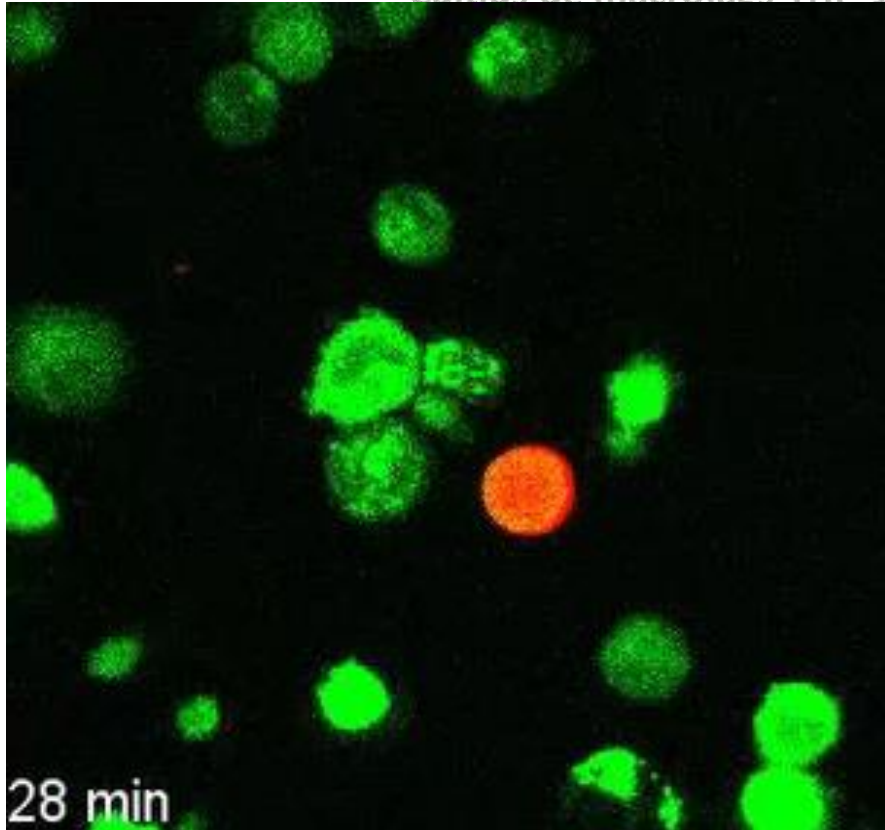




## Avaluar les interaccions macròfag-CA

Cultius de macròfags THP-1

Time-lapse



0 min

0 °

28 min

0 min

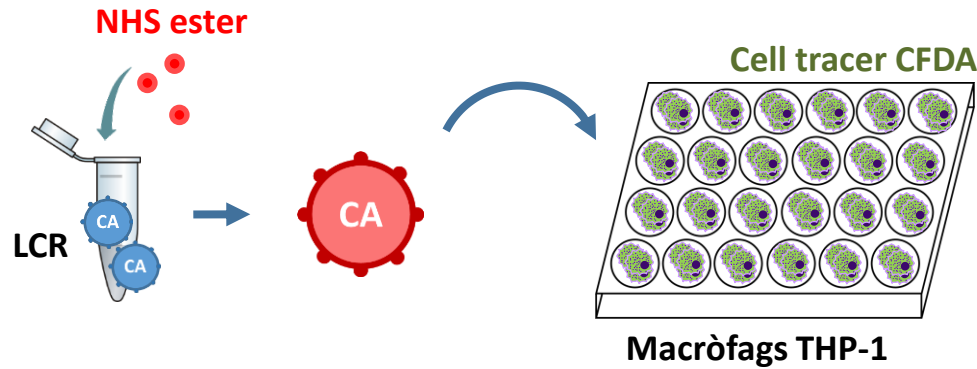
**Els macròfags THP-1 fagociten els CA marcats amb ConA**



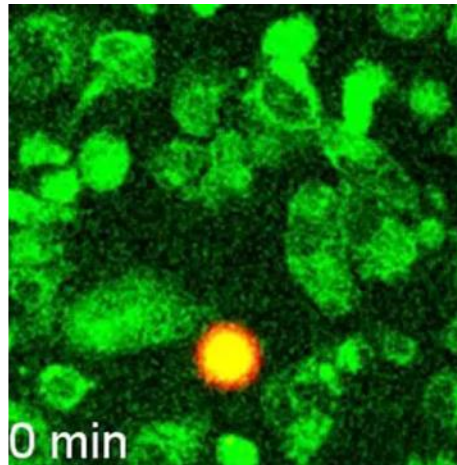
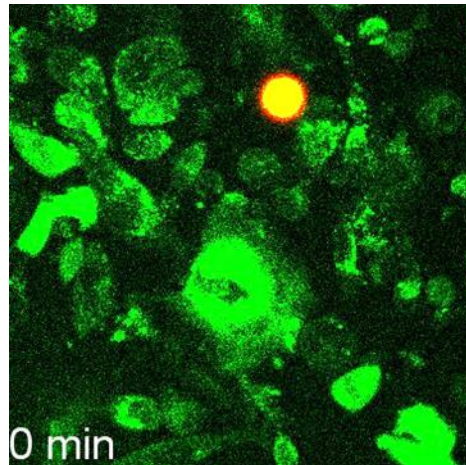
# Avaluar les interaccions macròfag-CA



## Cultius de macròfags THP-1



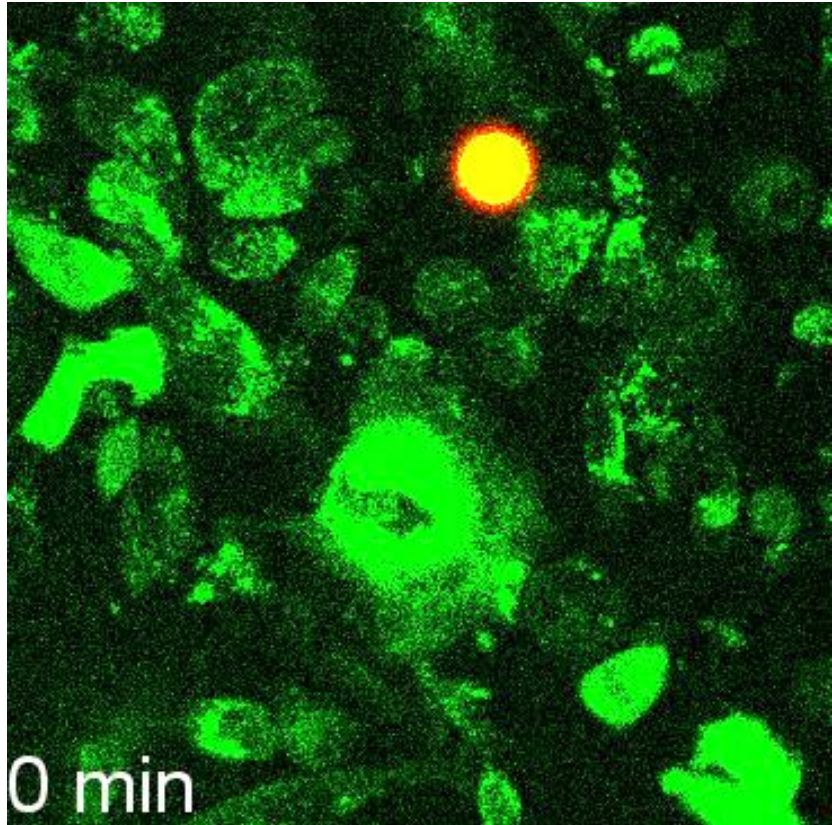
## Time-lapse



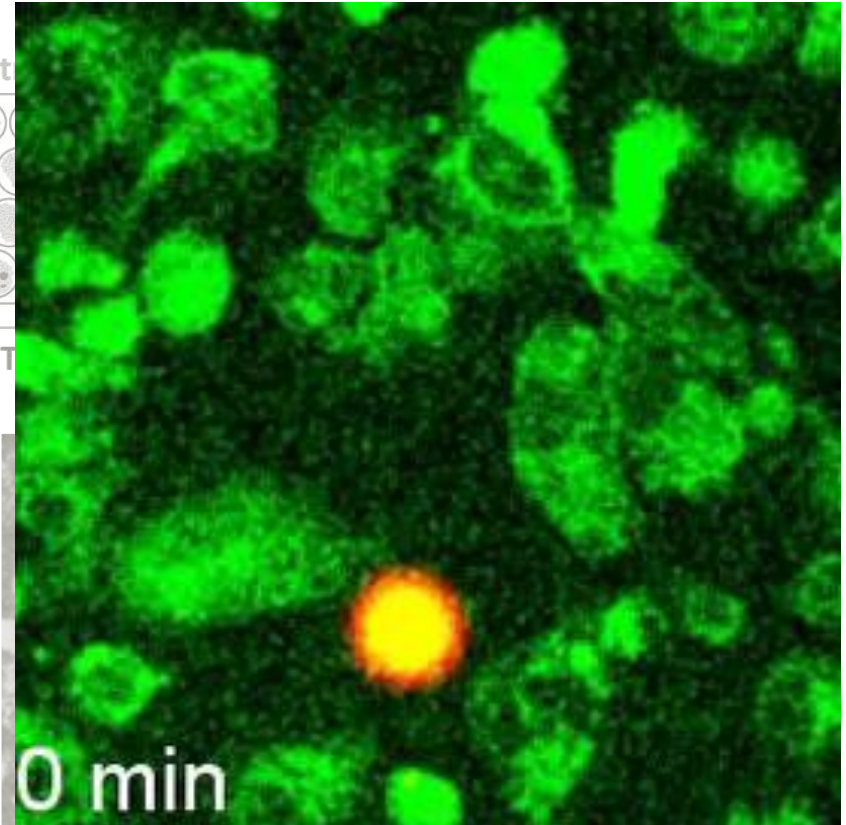


## Avaluar les interaccions macròfag-CA

Cultius de macròfags THP-1



Time-lapse



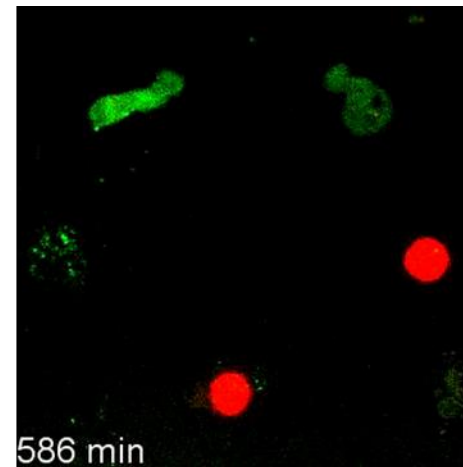
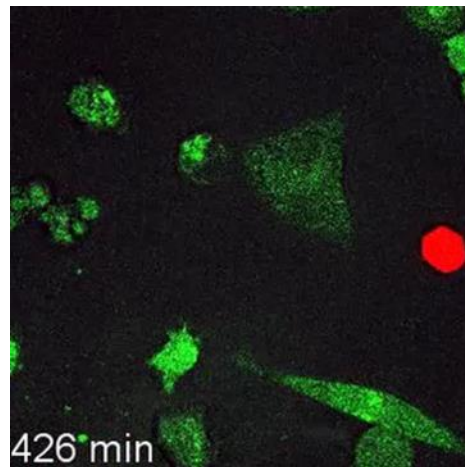
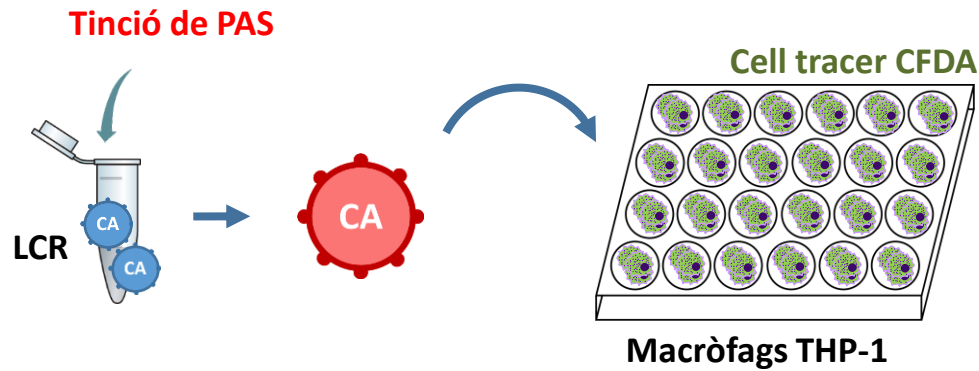
Els macròfags THP-1 fagociten els CA marcats amb NHS ester

# Avaluar les interaccions macròfag-CA



## Cultius de macròfags THP-1

## Time-lapse



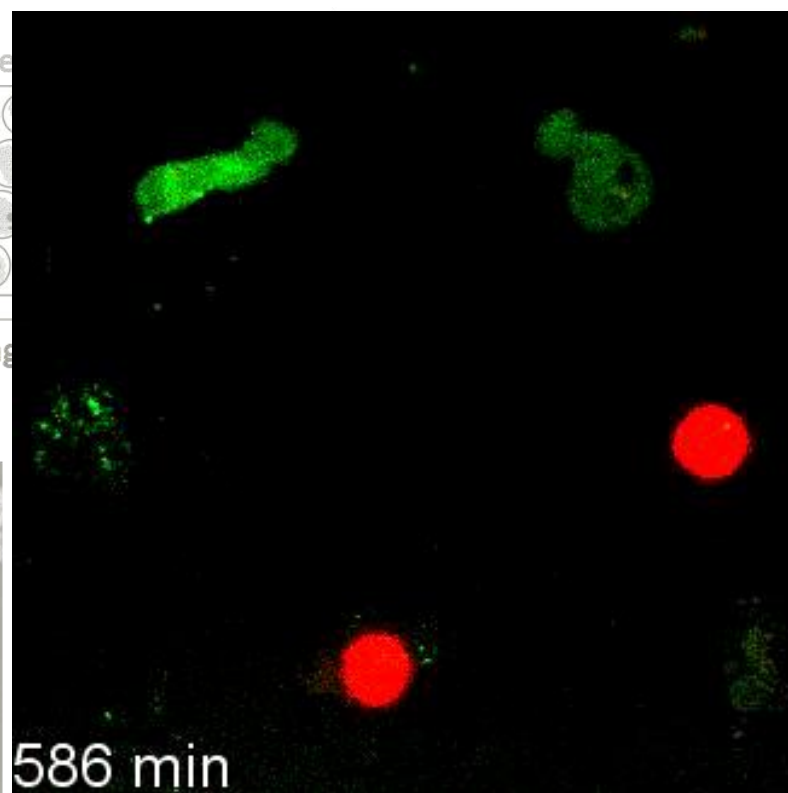
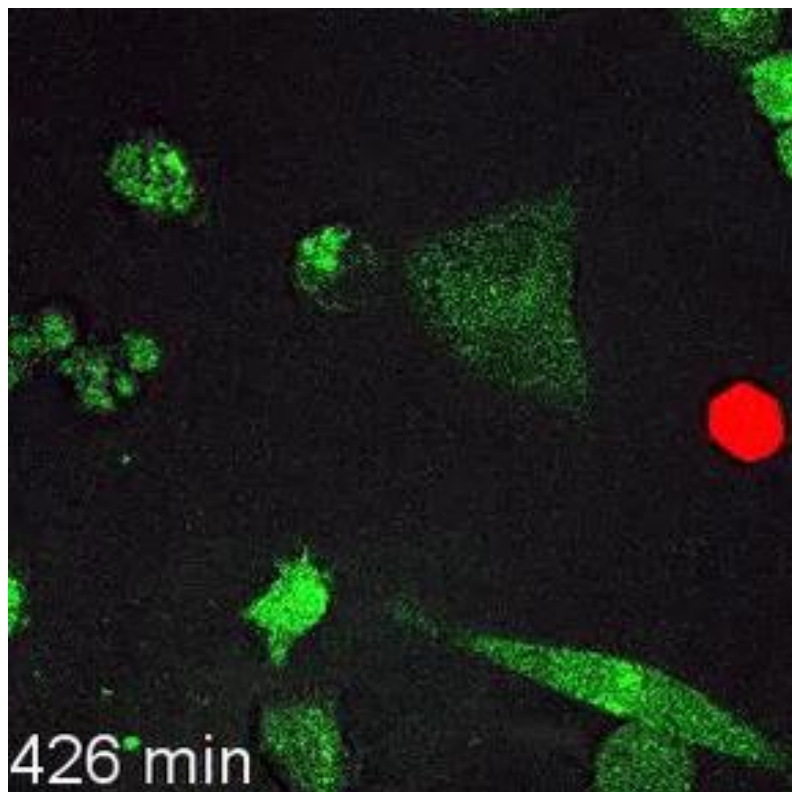




## Avaluar les interaccions macròfag-CA

Cultius de macròfags THP-1

Time-lapse



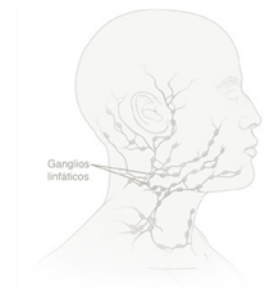
**Els macròfags THP-1 interaccionen els CA marcats amb PAS**

## Objectius

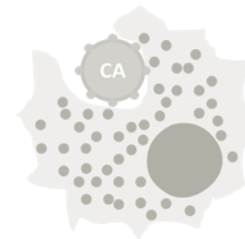


1 Determinar la presència de **CA** al **LCR**.

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

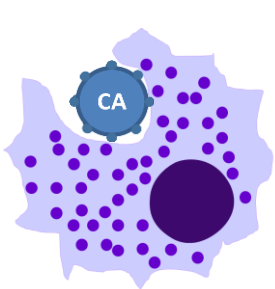
### Neo-epítops


- 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

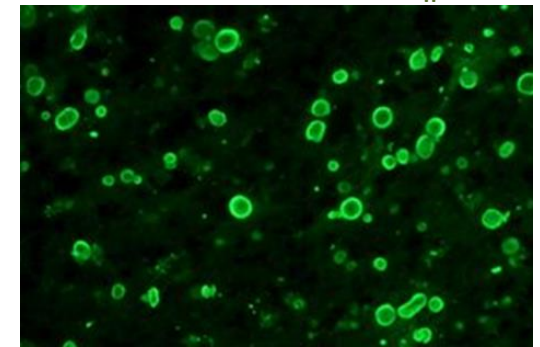


Els CA poden ser fagocitats per macròfags 

Es desconeix la composició dels NE dels CA



IgM<sub>h</sub> α-NE



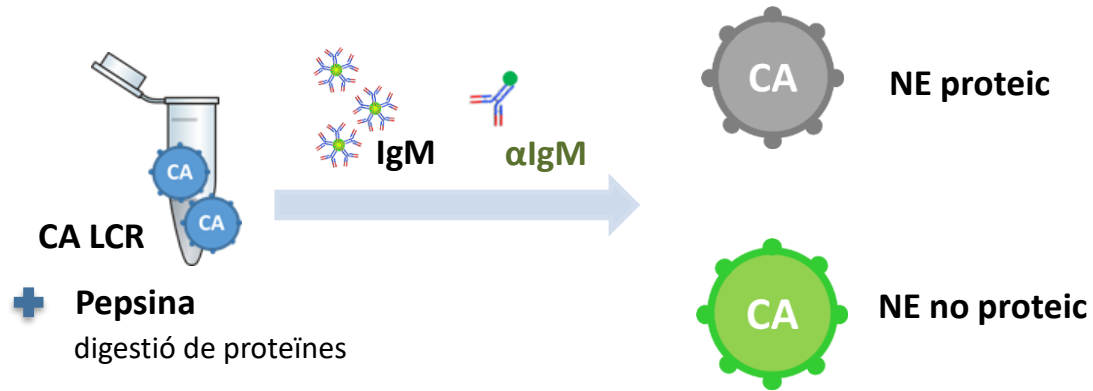
Augé et al., 2017

# Determinació de la naturalesa dels NE dels CA

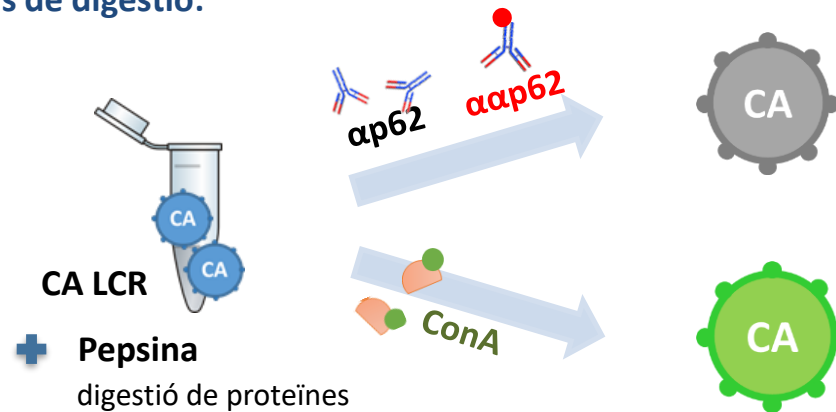


Els NE dels CA són proteïnes ?

## 1) Digestions amb pepsina



## Controls de digestió:

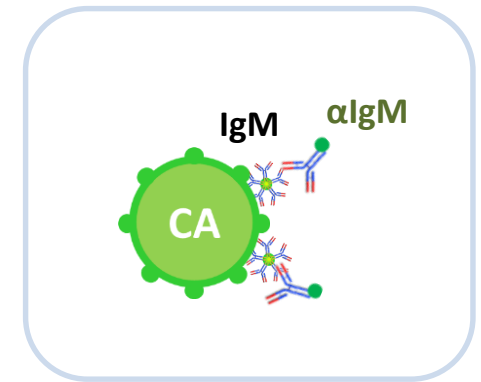
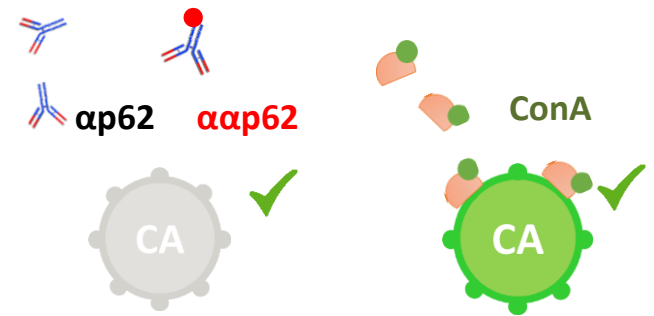
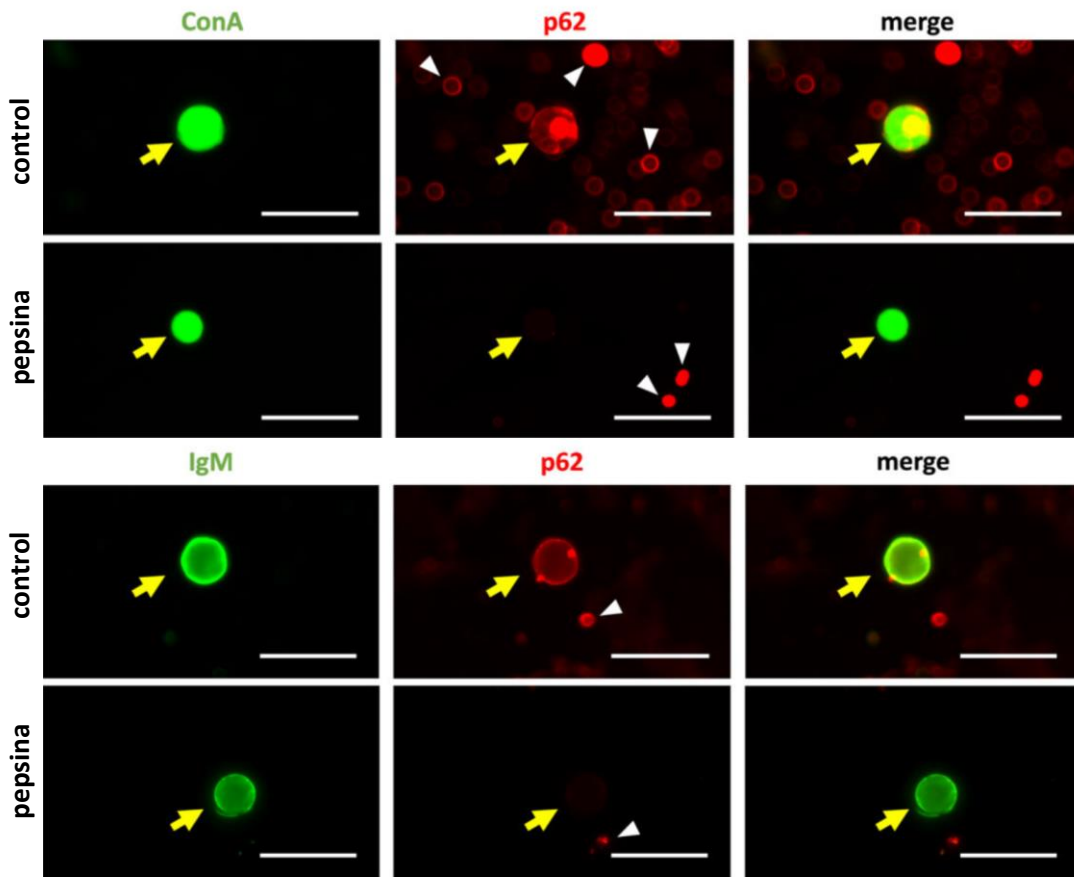


# Determinació de la naturalesa dels NE dels CA



Els NE dels CA són proteïnes ?

## 1) Digestions amb pepsina



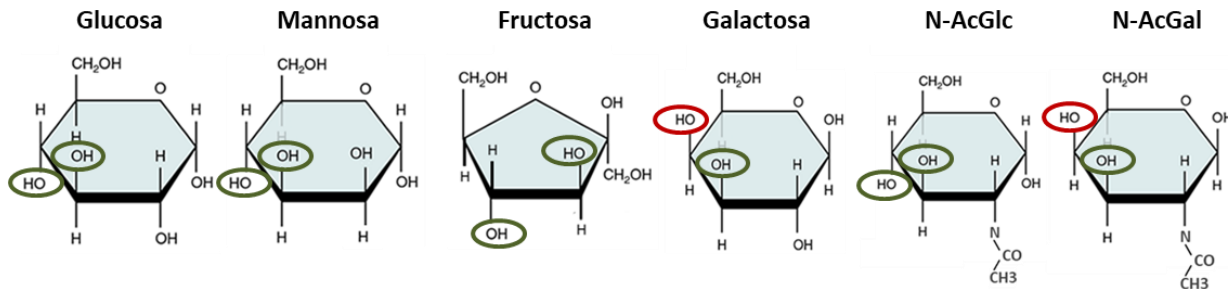
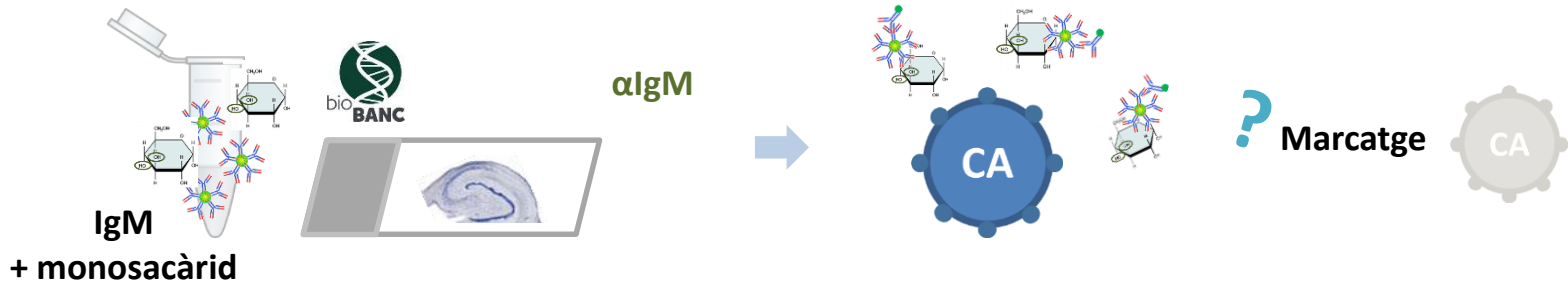
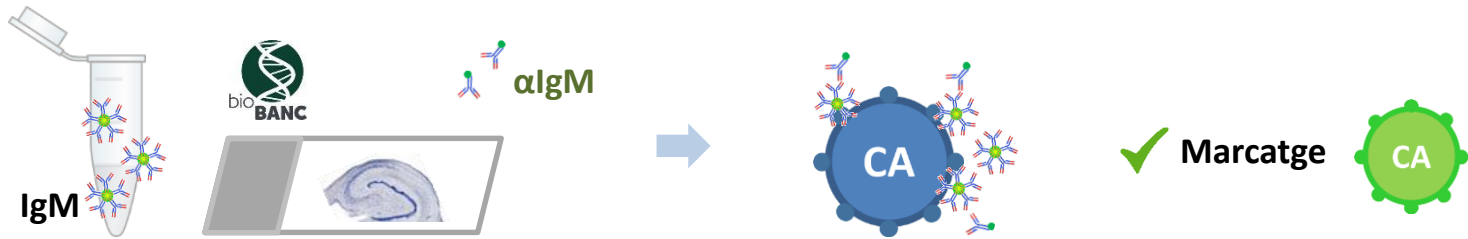
Els NE no són proteïnes

# 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

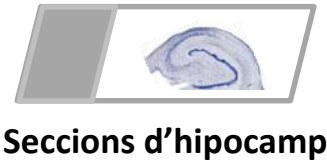
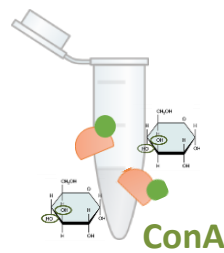
## 2) Controls de preadsorcions amb monosacàrids

### Controls + de preadsorció

ConA

Reconeix polisacàrids

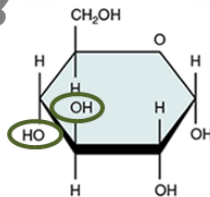
Zona d'unió és inhibida per Glc, Man, Fru i NAcGl, però no per Gal ni NAcGal



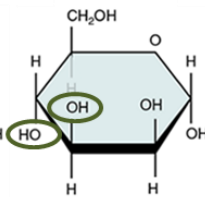
Marcatge ?



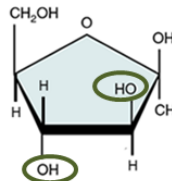
Glucosa



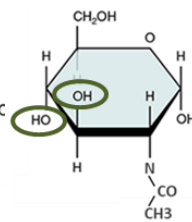
Mannosa



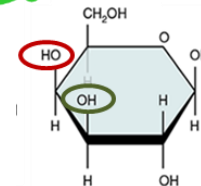
Fructosa



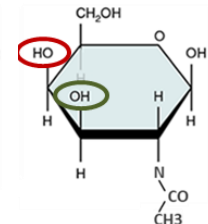
N-AcGlc



Galactosa

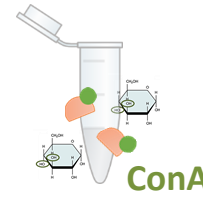


N-AcGal





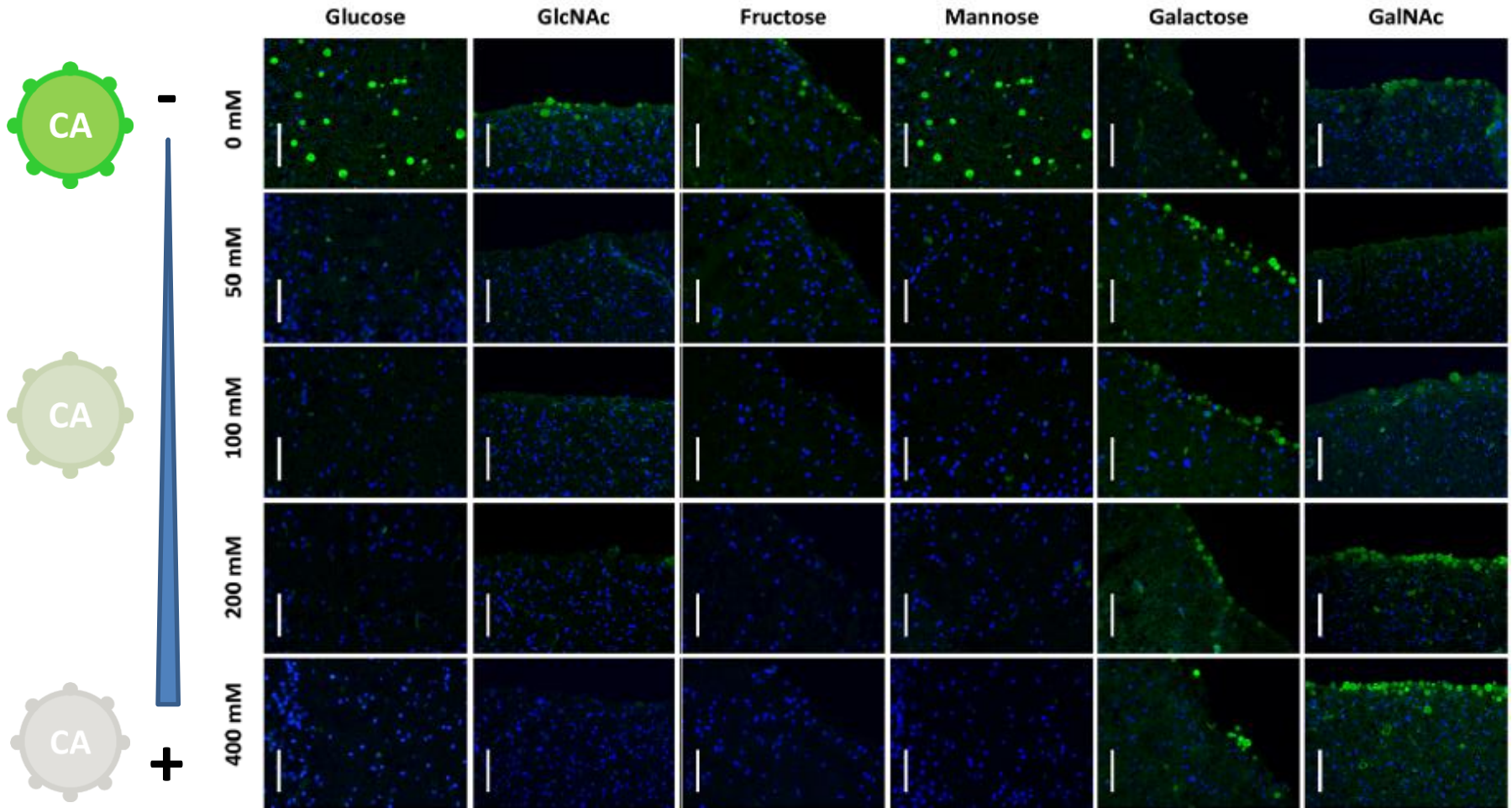
# Determinació de la naturalesa dels NE dels CA



✗ Galactosa  
NACGal

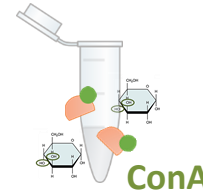


## 2) Control + (ConA+monosacàrid)



Barra d'escala: 100 µm

# Determinació de la naturalesa dels NE dels CA

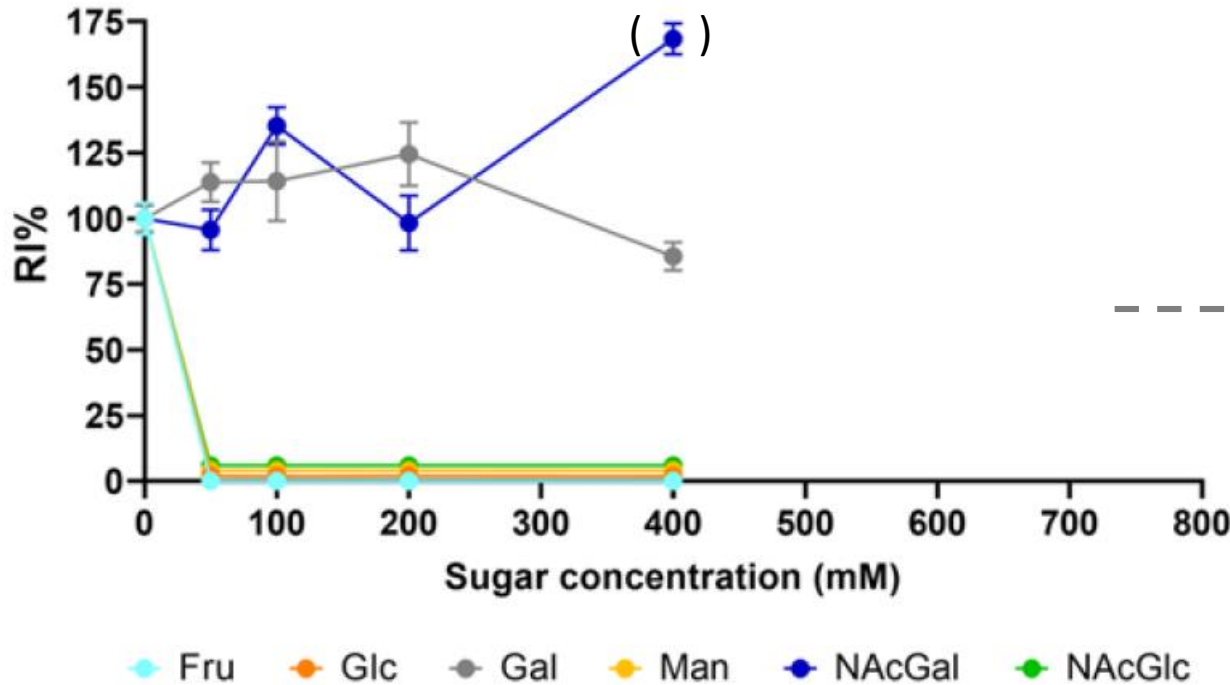


Galactosa  
NACGal



## 2) Control + (ConA+monosacàrid)

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



NO disminueix marcatge CA

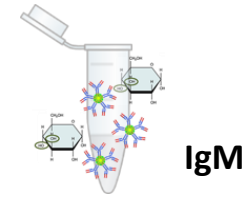
- Galactosa
  - N-Acetilgalactosamina
- ( $p > 0,01$  respecte concentració 0 mM)

SÍ disminueix marcatge CA

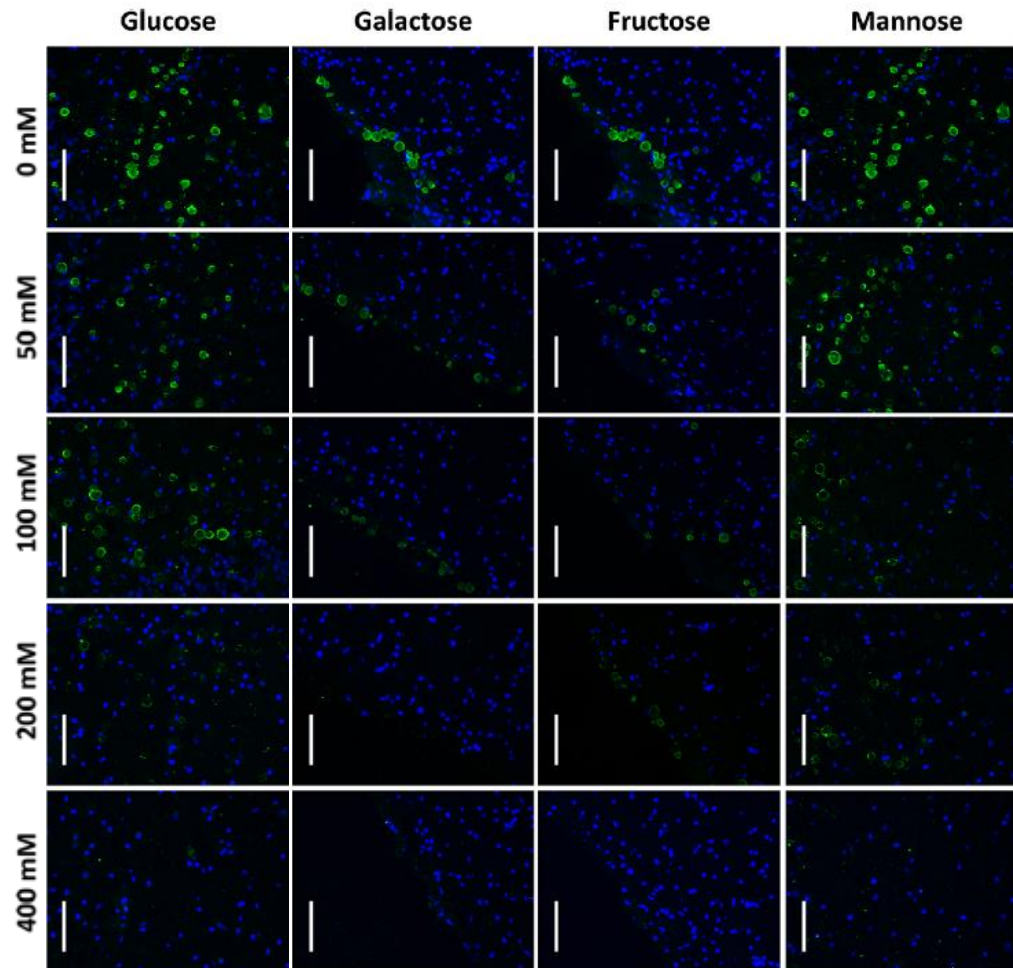
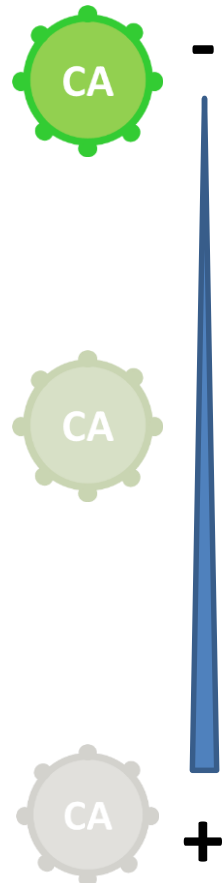
- Glucosa
  - Mannosa
  - Fructosa
  - N-Acetilglucosamina
- ( $p > 0,01$  respecte concentració 0 mM)

Comportament esperat

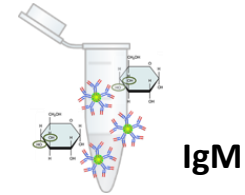
# Determinació de la naturalesa dels NE dels CA



## 2) Preadsorció d'IgM amb monosacàrids

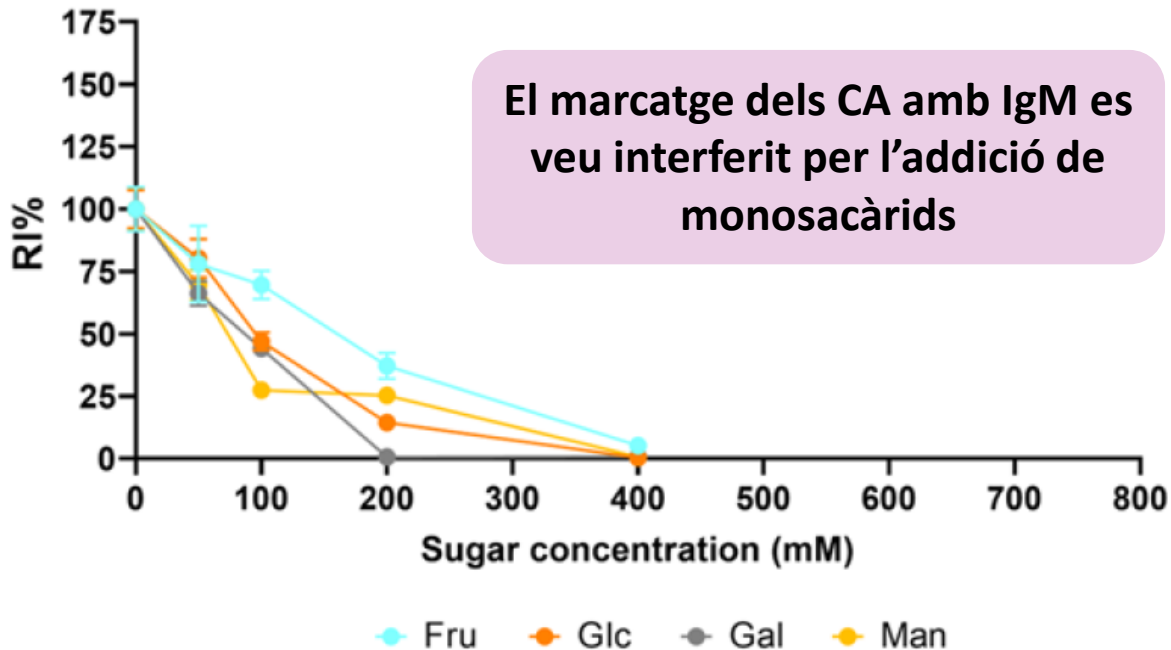


# Determinació de la naturalesa dels NE dels CA



## 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

## Cossos amilacis cerebrals



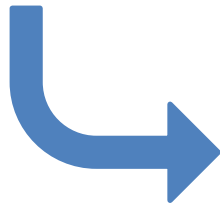
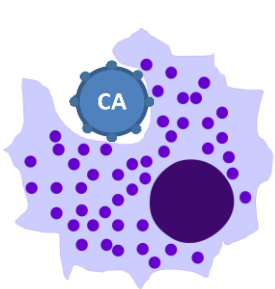
### Neo-epítops

- 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**

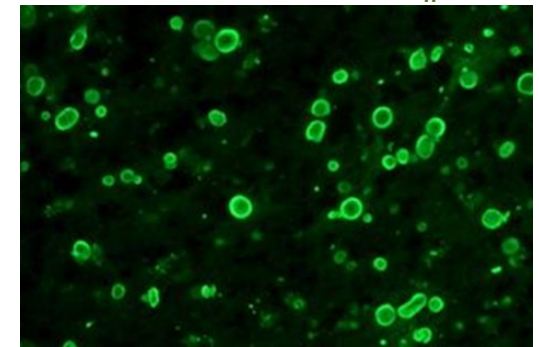


Els CA poden ser fagocitats per macròfags

**2) Els CA podrien ser fagocitats per macròfags**



IgM<sub>h</sub> α-NE



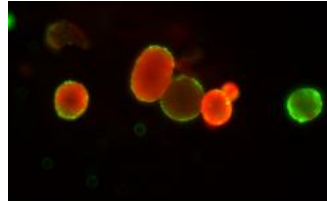
Augé et al., 2017



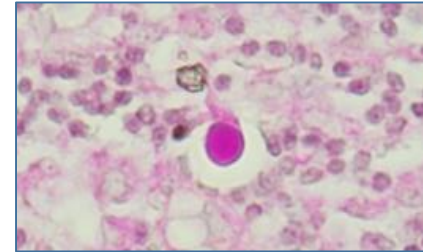
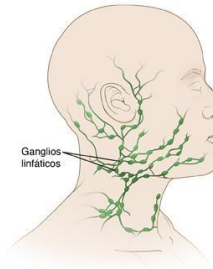
## Conclusions



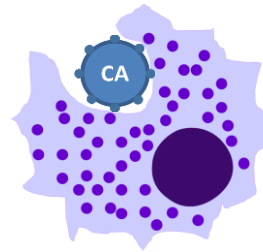
✓ El LCR conté CA.



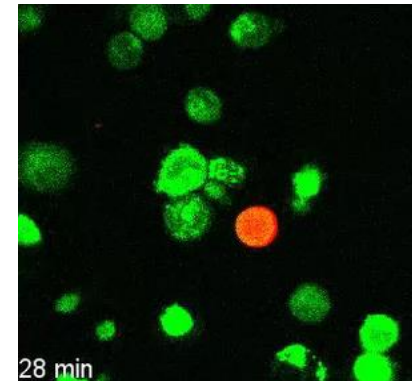
✓ Els ganglis limfàtics cervicals contenen CA.



✓ Els CA són fagocitats per macròfags.



✓ Els NE dels CA són glucídics.

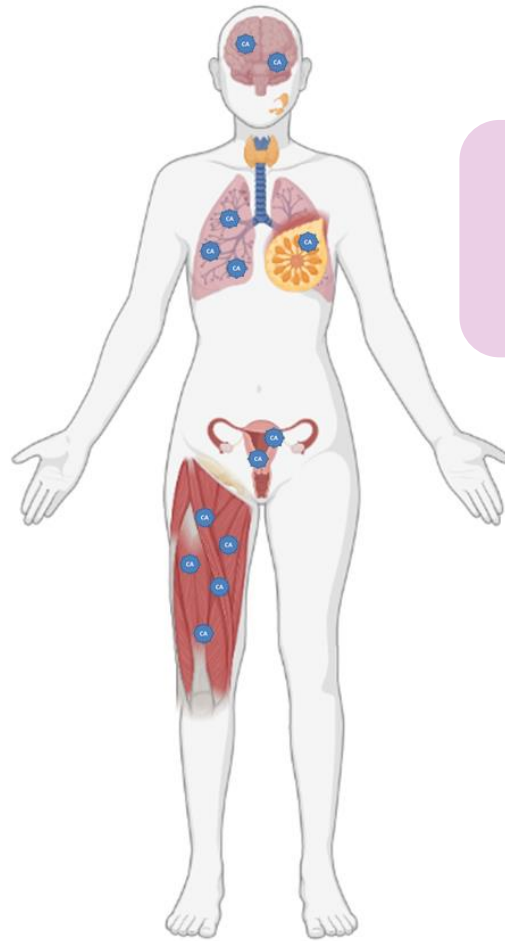
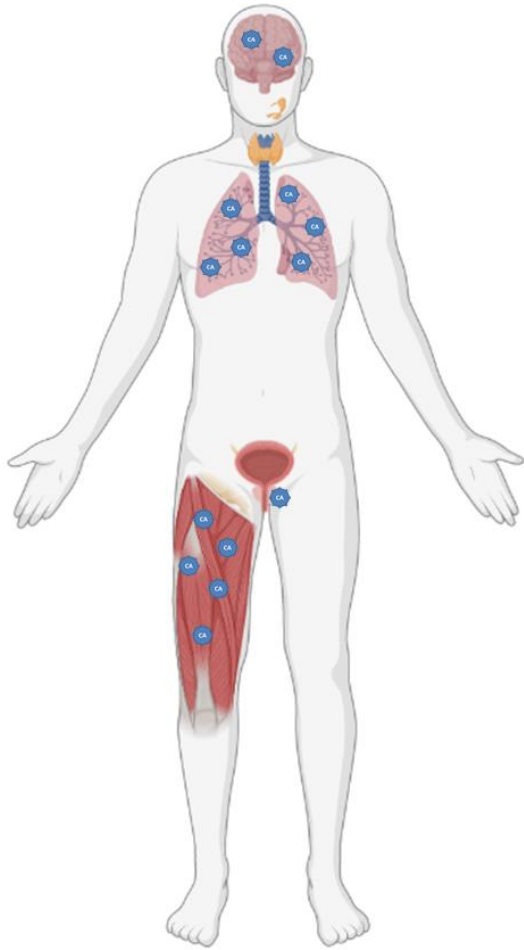






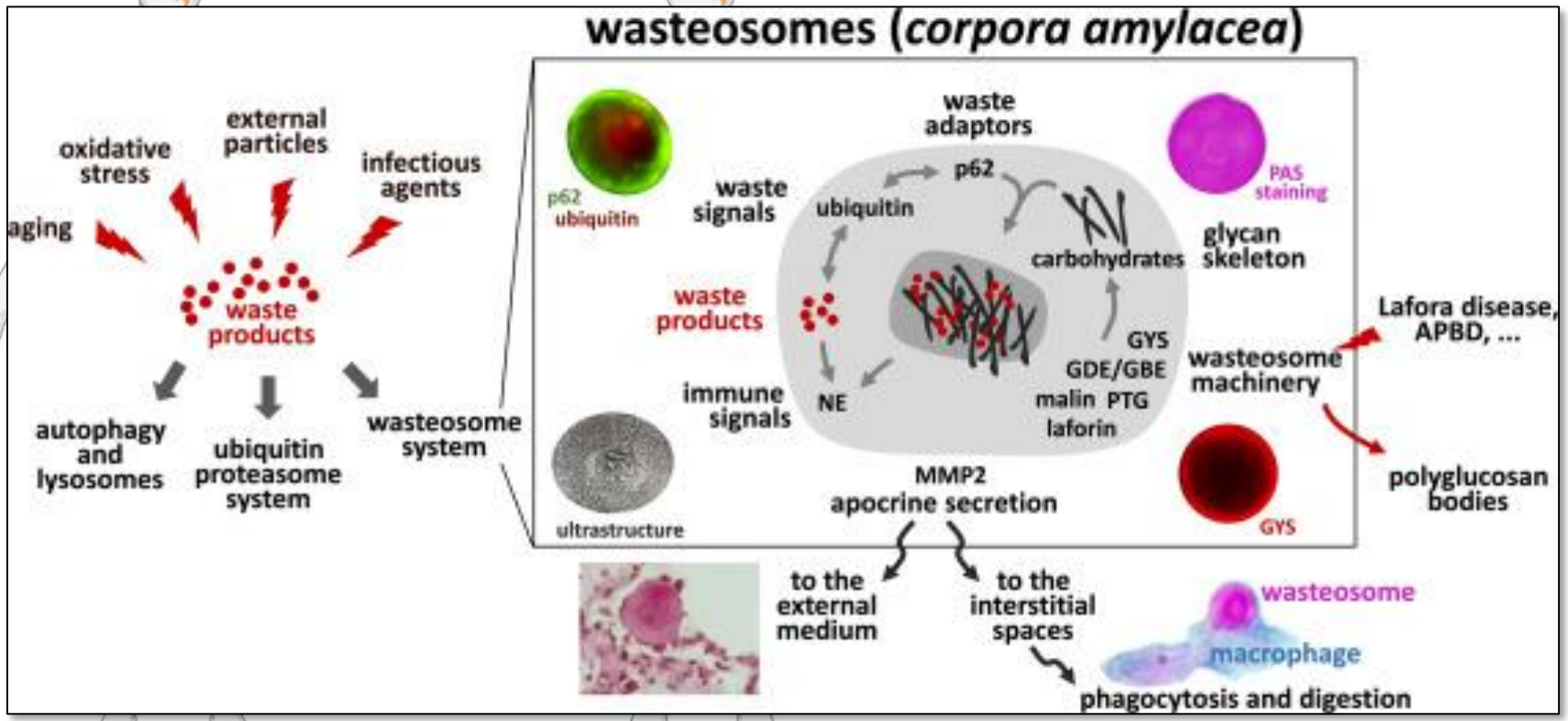


## Conclusions



Els cossos amilacis poden ser considerats **wasteosomes**

# Conclusions





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

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



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](https://www.elsevier.com/locate/arr)

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

Marta Riba<sup>1,2,3†</sup>, Elisabet Augé<sup>1,2,3†</sup>, Iraidia Tena<sup>1</sup>, Jaume del Valle<sup>1,2,3</sup>, Laura Molina-Porcel<sup>4,5</sup>, Teresa Ximelis<sup>4,5</sup>, Jordi Vilaplana<sup>1,2,3\*†</sup> and Carme Pelegrí<sup>1,2,3†</sup>

From *corpora amylacea* to wasteosomes: History and perspectives

Marta Riba<sup>a,b,c</sup>, Jaume del Valle<sup>a,b,c</sup>, Elisabet Augé<sup>a,b,c</sup>, Jordi Vilaplana<sup>a,b,c,\*,1</sup>, Carme Pelegrí<sup>a,b,c,1</sup>

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

### Grup TIFEB

Rut Ferrer

Raquel Martín-Venegas

Joan Campo-Sabariz

### 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





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

Marta Riba Baques

Març 2022

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



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA