

CADASIMUS: Análisis experimental de Everolimus y correlación clínica en la patología de CADASIL

V CONGRESO ANUAL DE ICTUS

11 y 12 de junio 2026

Madrid

RICORS - ICTUS



Cofinanciado por
la Unión Europea

Proyectos SEMILLA 2025

CADASIMUS : Análisis experimental de Everolimus y correlación clínica en la patología de CADASIL

QUIÉNES SOMOS Y DE DÓNDE VENIMOS

- **Patricia de la Riva:** Hospital Universitario de Donosti
- **Paula Villatoro González:** Institut de Recerca Sant Pau
- **Ana Domínguez:** Instituto de Biomedicina de Sevilla
- **Ana Bugallo:** Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela



Grupo Donosti



Grupo Barcelona



Institut de Recerca
Sant Pau



idisi

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA
SANTIAGO DE COMPOSTELA

Grupo
Santiago

IBiS

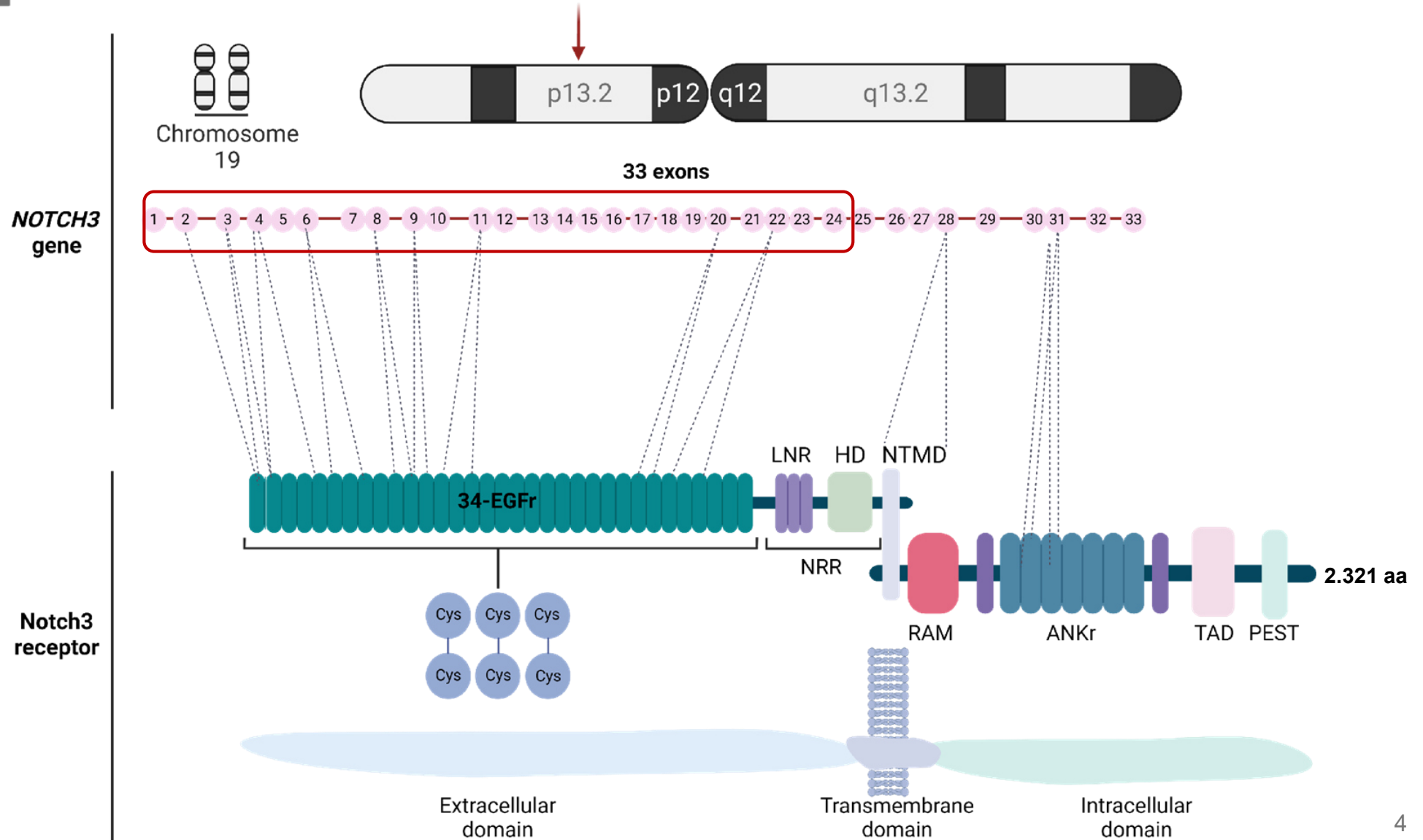
INSTITUTO DE BIOMEDICINA DE SEVILLA

Grupo Sevilla



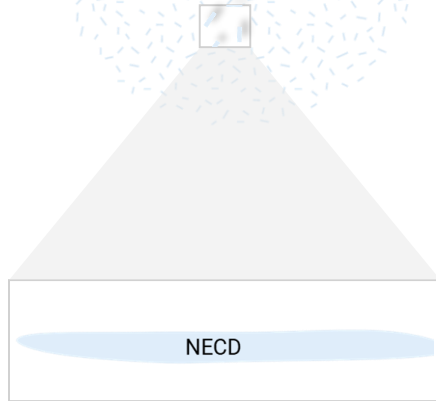
INTRODUCCIÓN

NOTCH3 gene structure

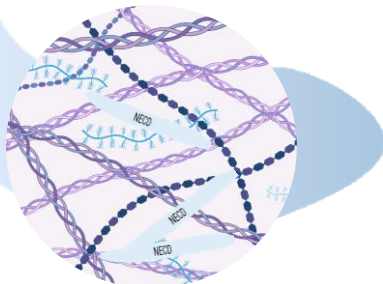


INTRODUCCIÓN

Aggregates
formation of
Notch3 (NECD)



- Intracellular
- Membrane
- Extracellular



GOM

Granular Osmiophilic Material

AUTOFAGIA-CADASIL

Depósito patológico del dominio extracelular de Notch3 en las paredes vasculares se asocia con déficits en la vía autofágica.

Esta acumulación podría interferir en la degradación lisosomal de componentes celulares

1

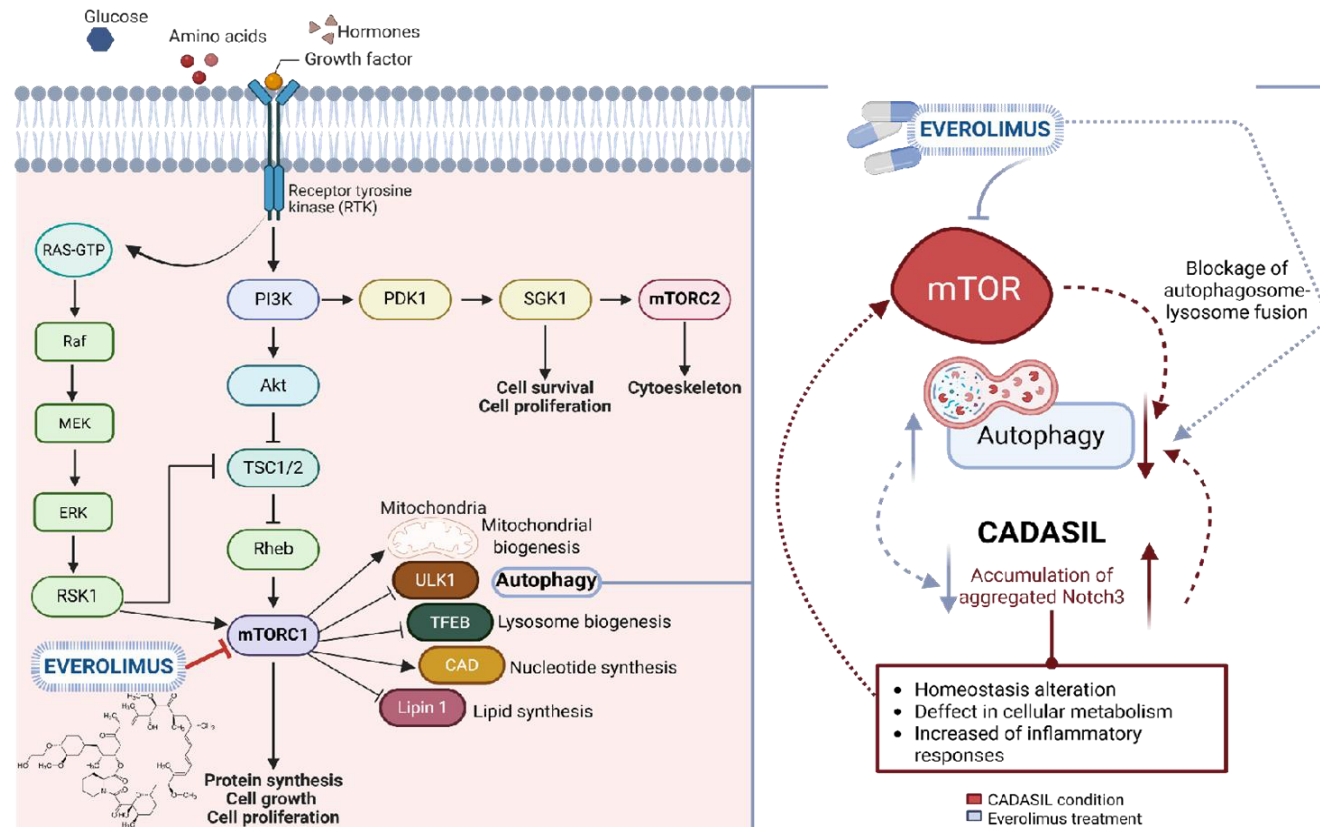
Incapacidad para eliminar proteínas aberrantes

2

Fallo en la respuesta al estrés celular vascular

HIPÓTESIS

Dado que se ha observado una elevación de mTOR en las células de músculo liso vascular de pacientes con CADASIL, junto con una alteración de la autofagia, se plantea que el uso de inhibidores de mTOR, como Everolimus, podría ser un tratamiento eficaz para CADASIL. Esto se sustentaría si Everolimus logra disminuir la agregación de Notch3 en un modelo celular de CADASIL y si las proteínas modificadas por el fármaco en este modelo se asocian con la gravedad de la enfermedad en pacientes.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

● Evaluar el potencial de Everolimus como tratamiento en pacientes con CADASIL.

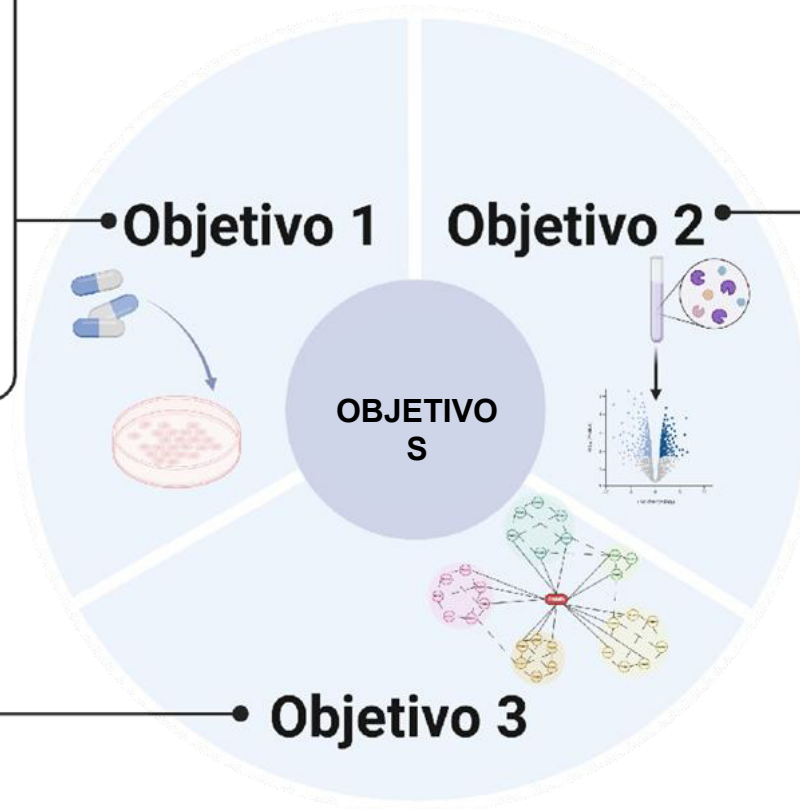
OBJETIVOS ESPECÍFICOS

● **Objetivo 1**

Evaluar si Everolimus (reposición farmacológica) en células hiPSCs (*human induced pluripotent stem cells*) derivadas de pacientes con CADASIL (en un total de 4 líneas celulares), puede ser útil para explorar si la corrección de desequilibrios en la vía mTOR y la promoción de la autofagia y si este podría tener un impacto positivo en la patología. .

● **Objetivo 3**

Establecer un perfil proteómico del modelo celular antes y después de la aplicación de Everolimus (4 dosis y diferentes tiempos de aplicación para monitorizar autofagia y acumulación de Notch3).

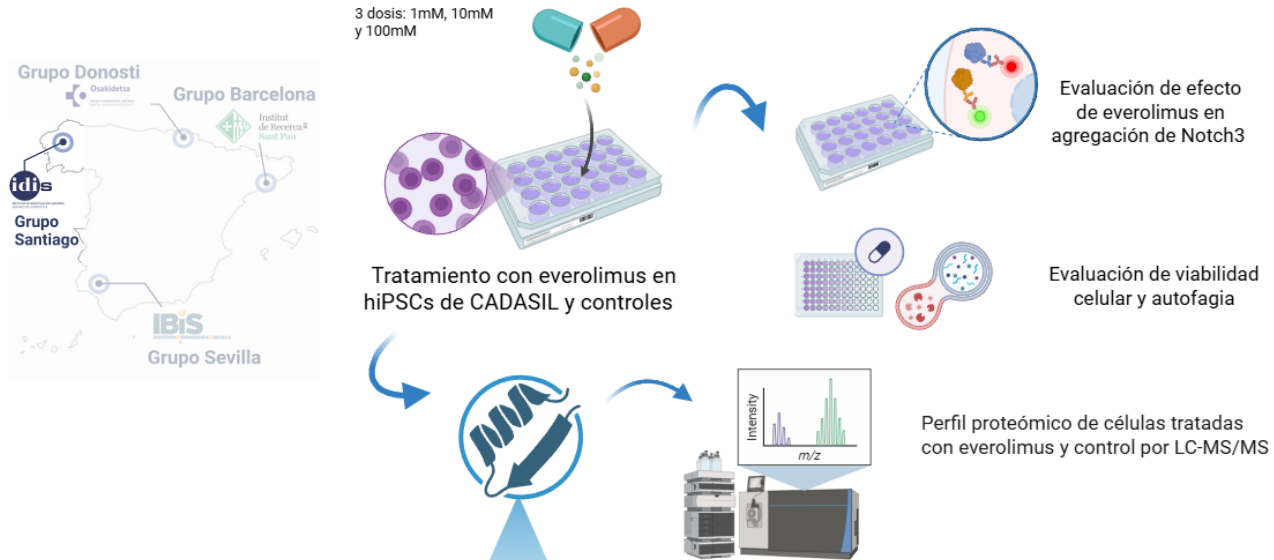


● **Objetivo 2**

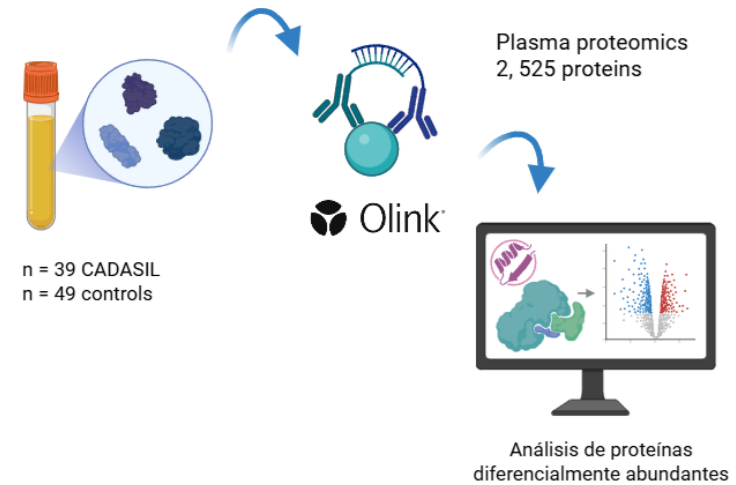
Seleccionar proteínas significativas del primer estudio proteómico (a realizar por el grupo de Santiago) en el modelo celular para luego compararlo con el perfil proteómico resultante del *screening* de esas proteínas diferenciales en muestras de pacientes (a realizar por el grupo de Barcelona con muestras propias y aportadas por grupos colaboradores de Sevilla y P.Vasco).

MÉTODOS

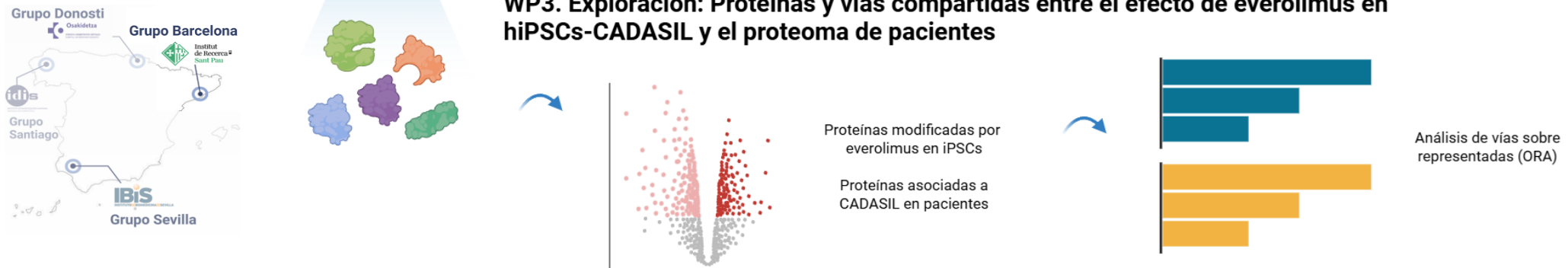
WP1. Evaluación de tratamiento con everolimus *in vitro* y estudio proteómico de modelo celular tratado



WP2. Estudio proteómico en pacientes de CADASIL



WP3. Exploración: Proteínas y vías compartidas entre el efecto de everolimus en hiPSCs-CADASIL y el proteoma de pacientes

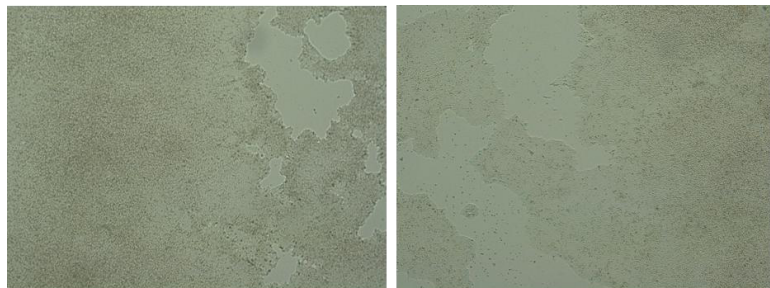


RESULTADOS WP1

Morfología hiPSCs tras la aplicación del fármaco

Dose 1

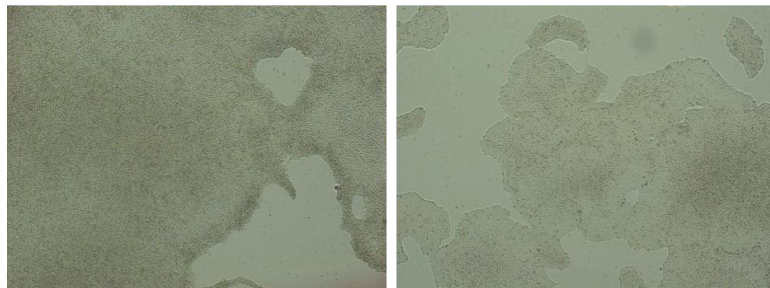
CAD21



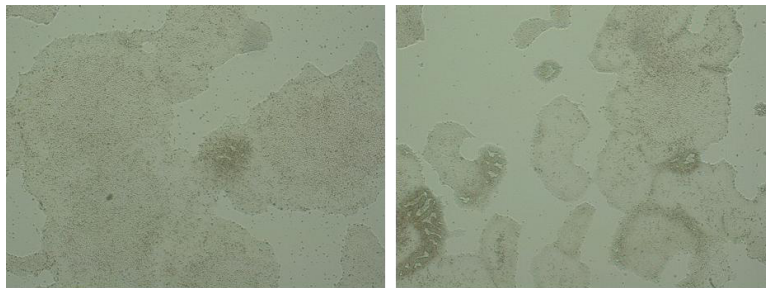
CAD28



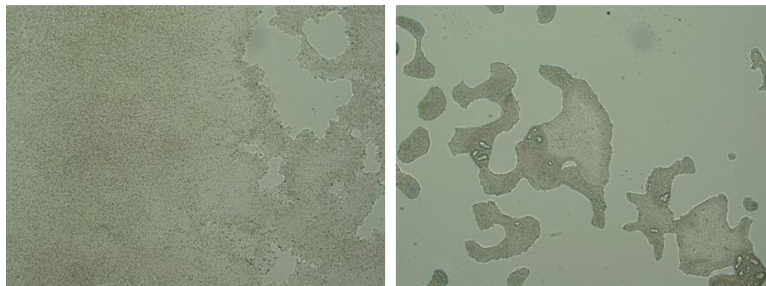
SCTi003A



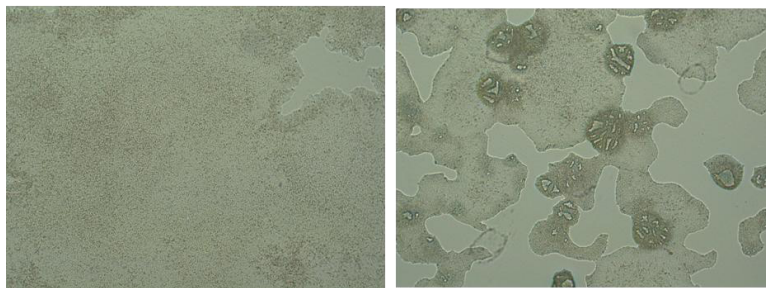
CAD21



CAD28



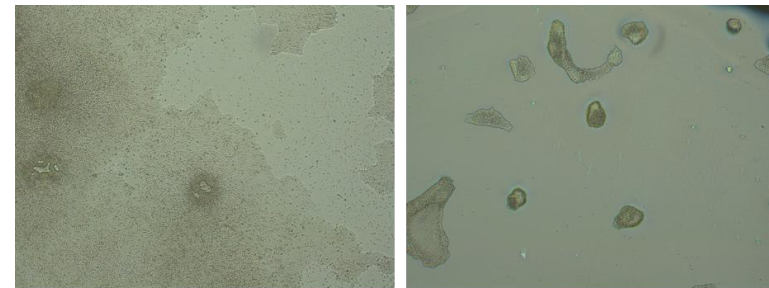
SCTi003A



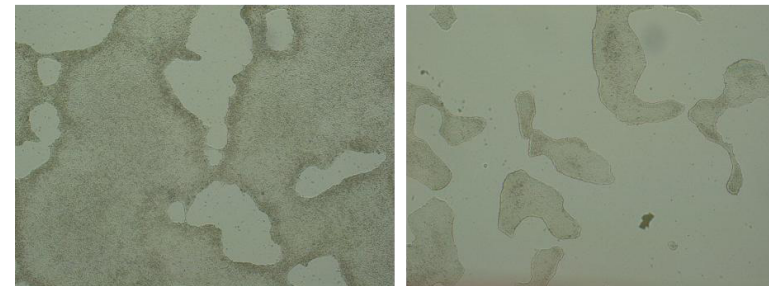
Dose 2

Dose 3

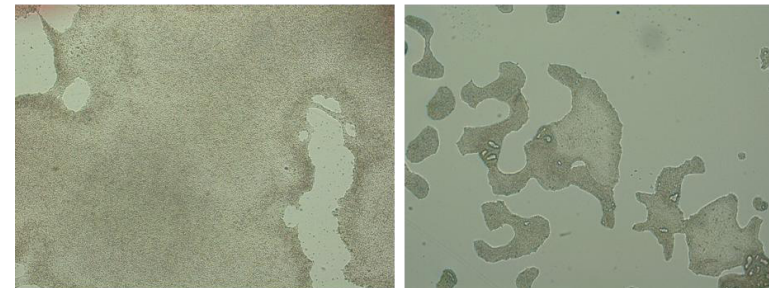
CAD21



CAD28



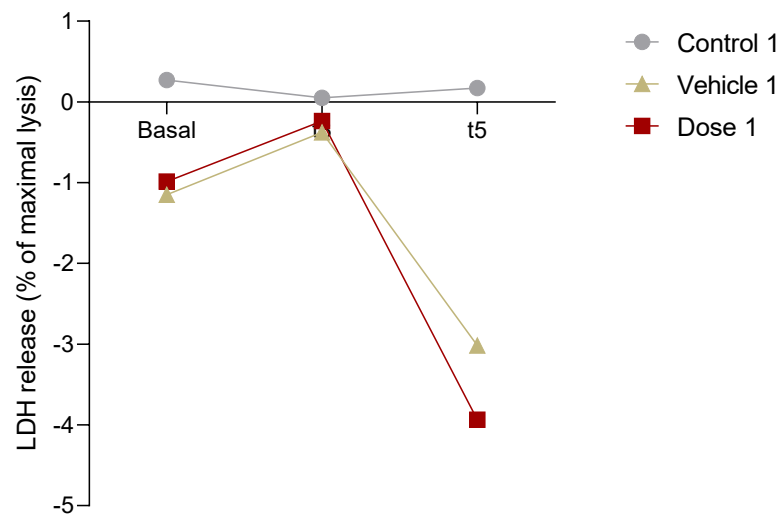
SCTi003A



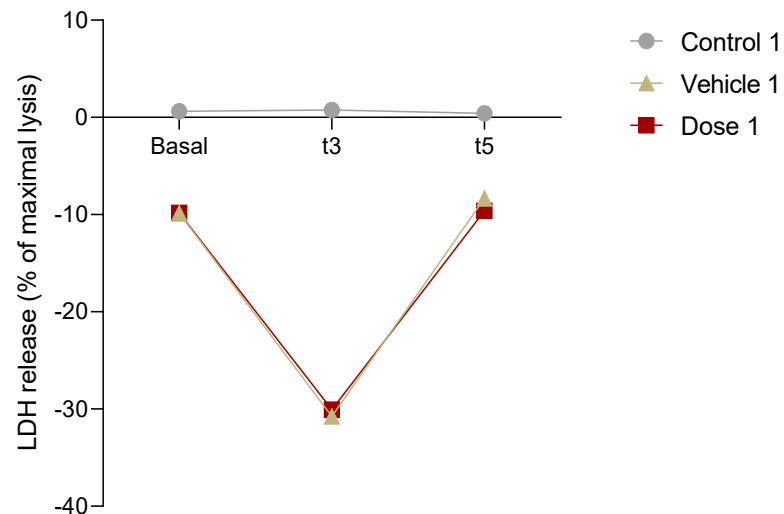
RESULTADOS WP1

LDH análisis

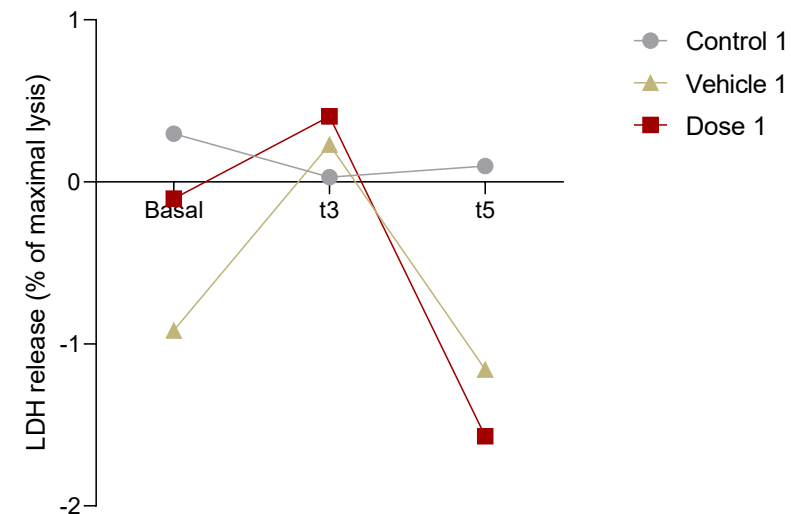
CAD21



CAD28

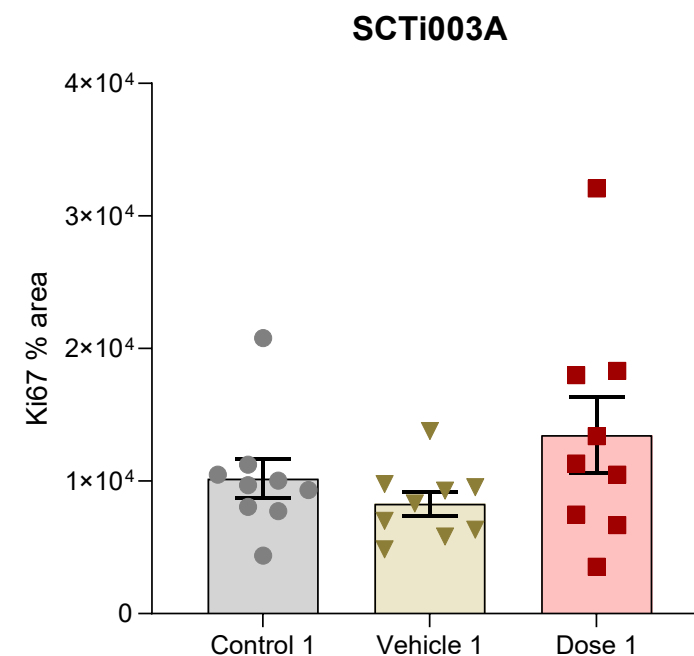
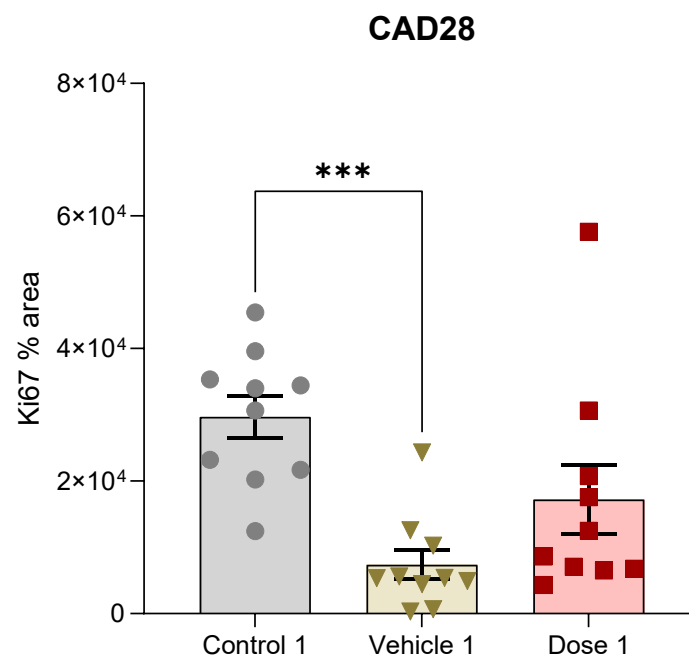
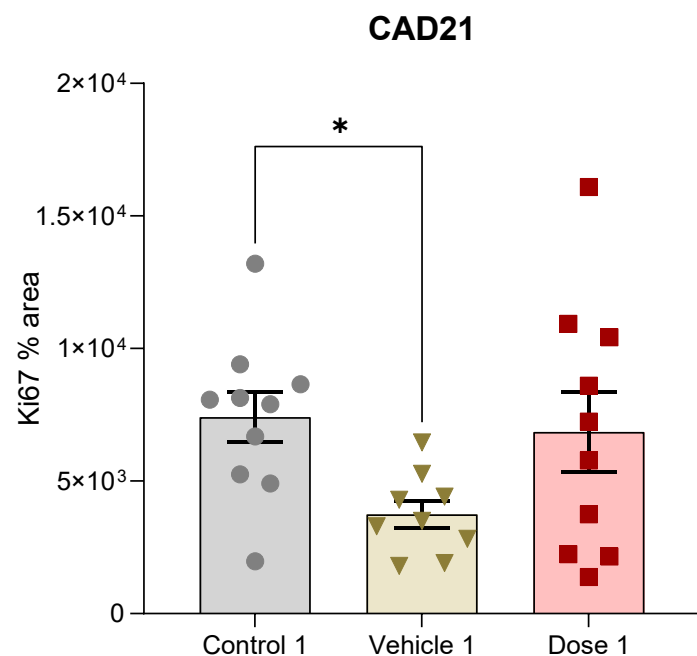


SCTi003A



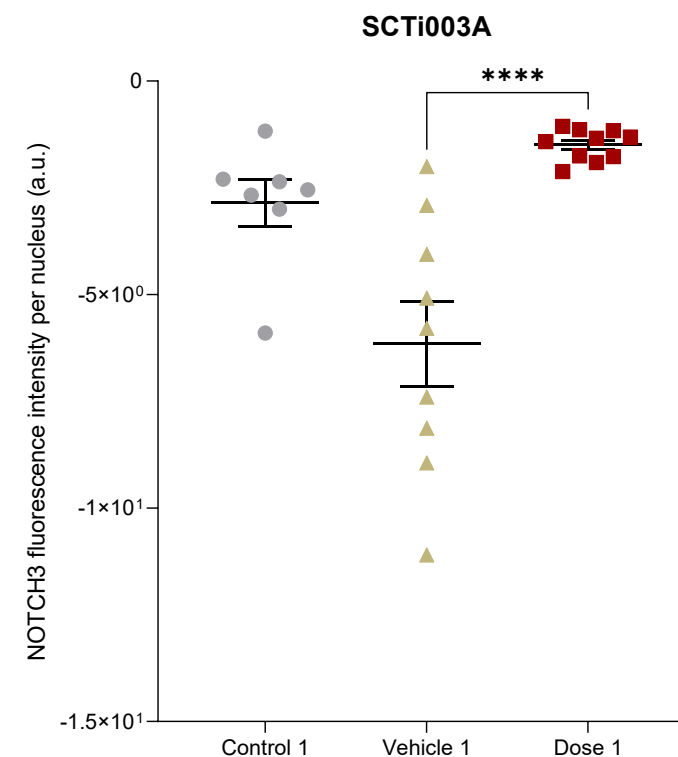
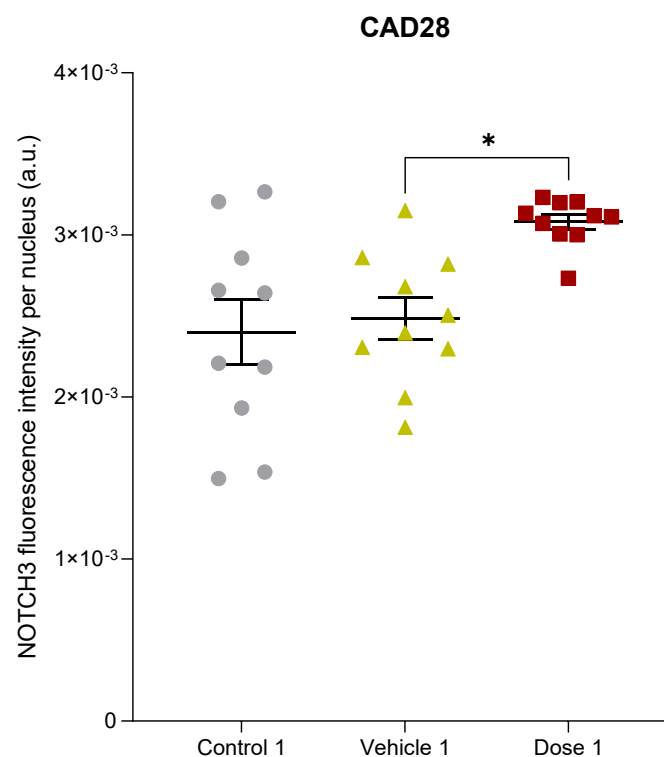
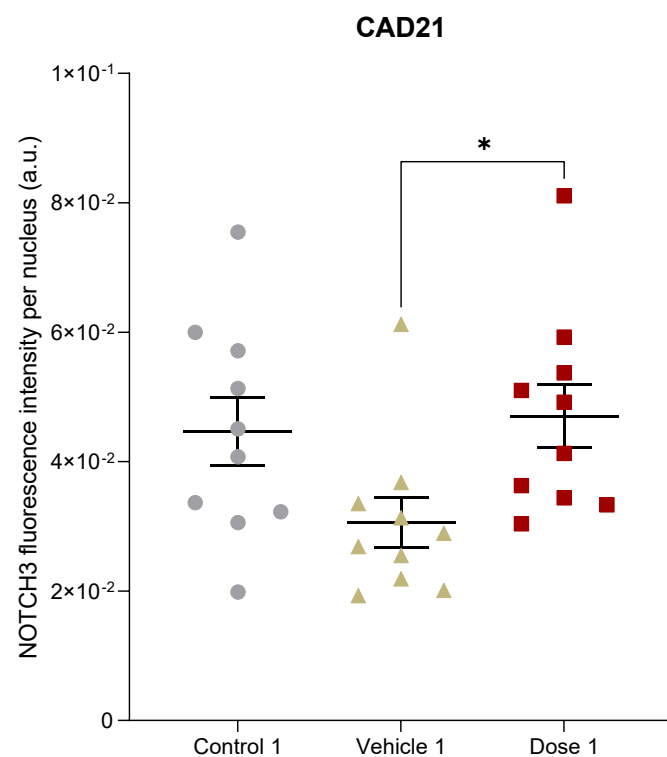
RESULTADOS WP1

Análisis Ki67 (Dosis 1 → 1 μ M)



RESULTADOS WP1

NOTCH3 análisis (Dosis 1)



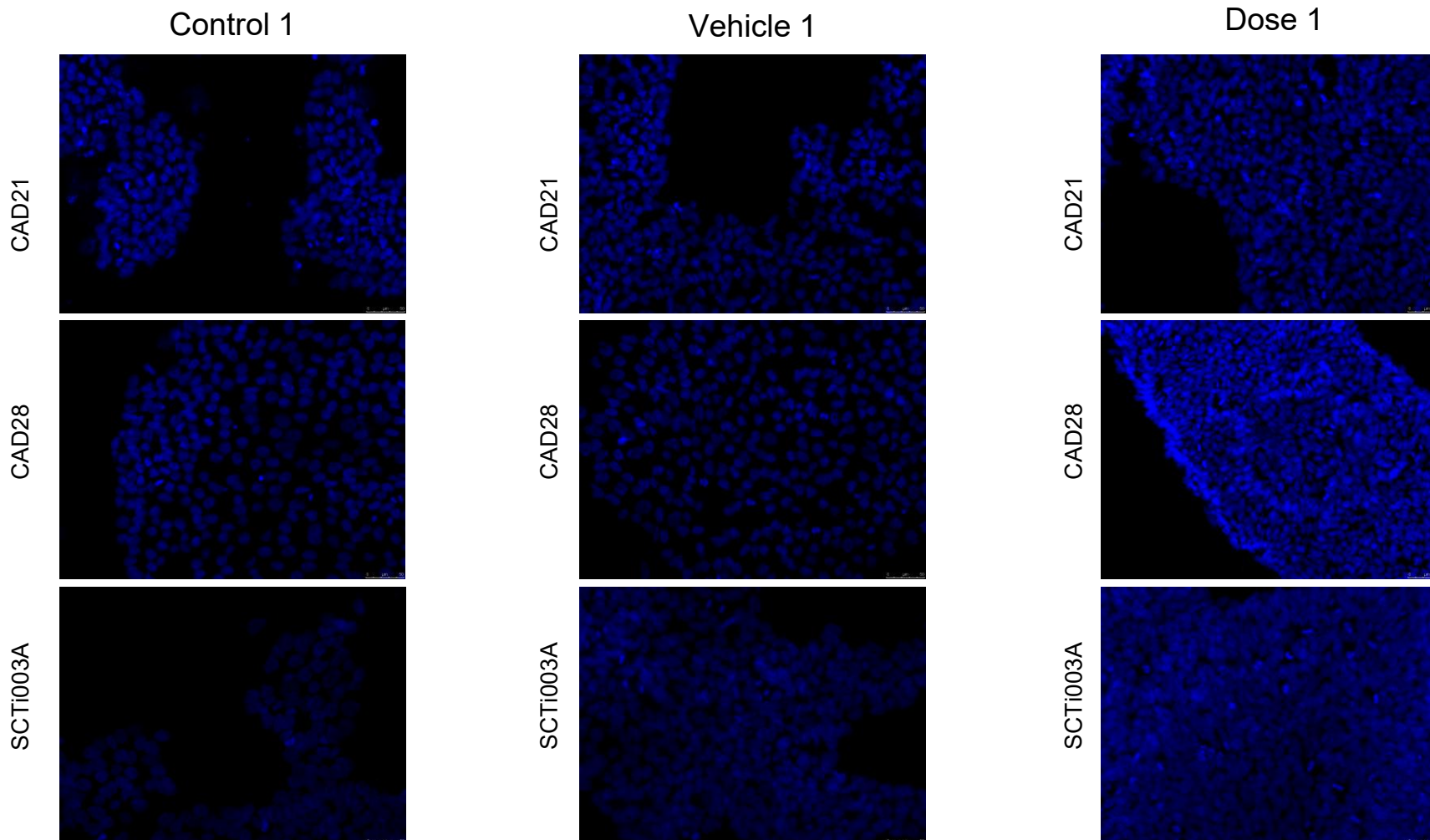
RESULTADOS WP1

Análisis autofagia (Dosis 1)



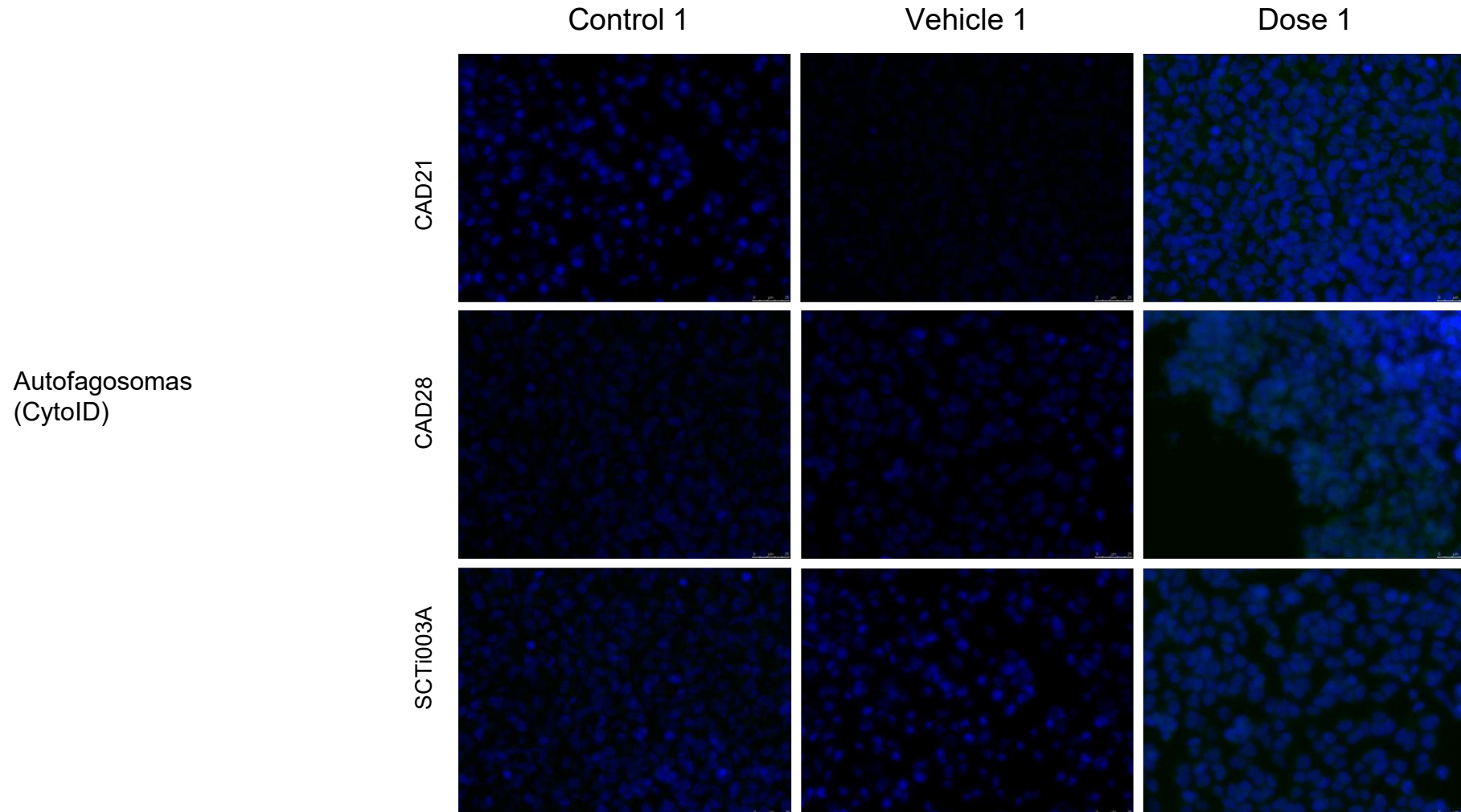
Noelia Otero
Grupo TREAT-IDIS

LC3
(Autofagia fase
temprana/intermedia)



RESULTADOS WP1

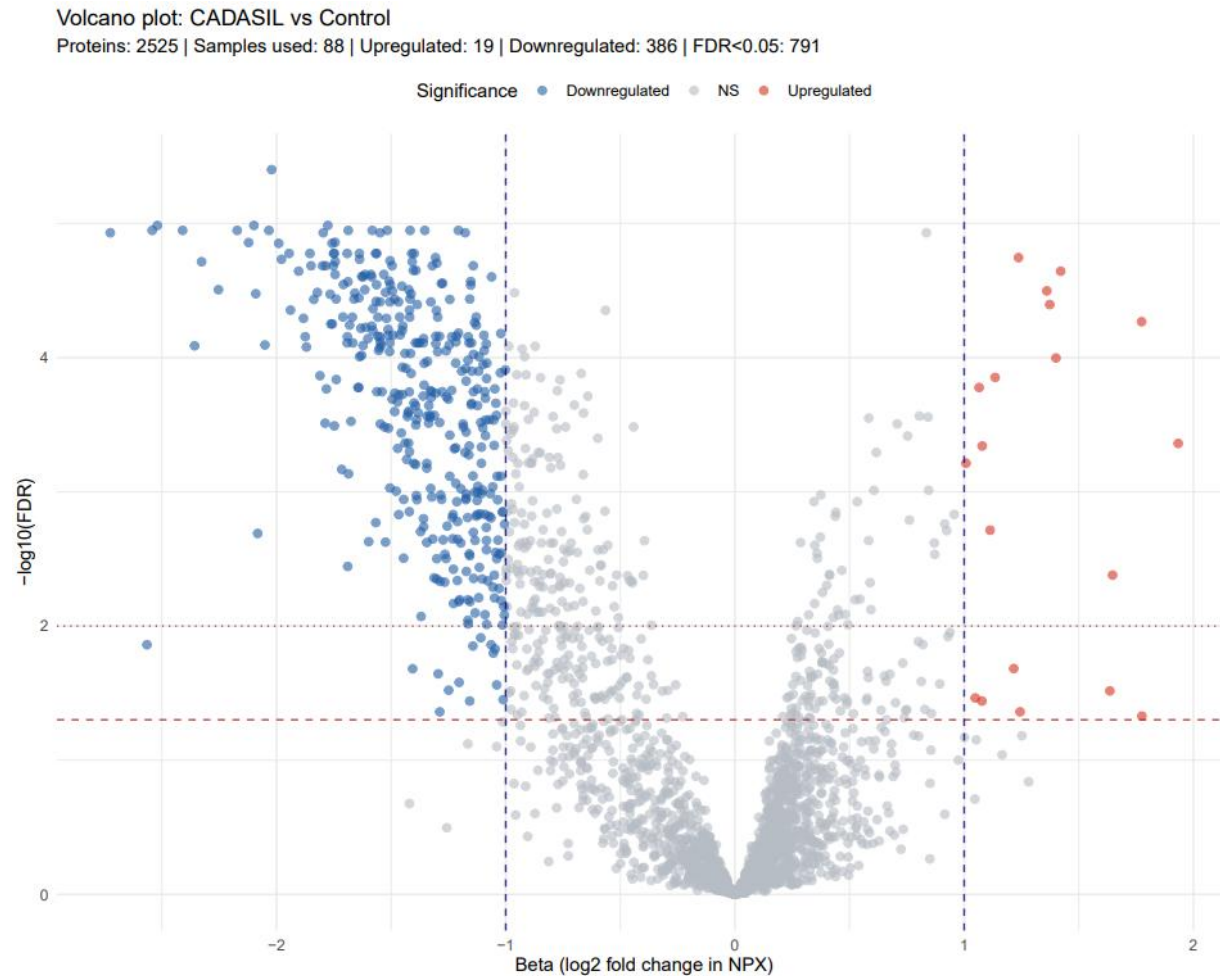
Análisis autofagia (Dosis 1)



RESULTADOS WP2



Franco Appiani
IR Sant Pau



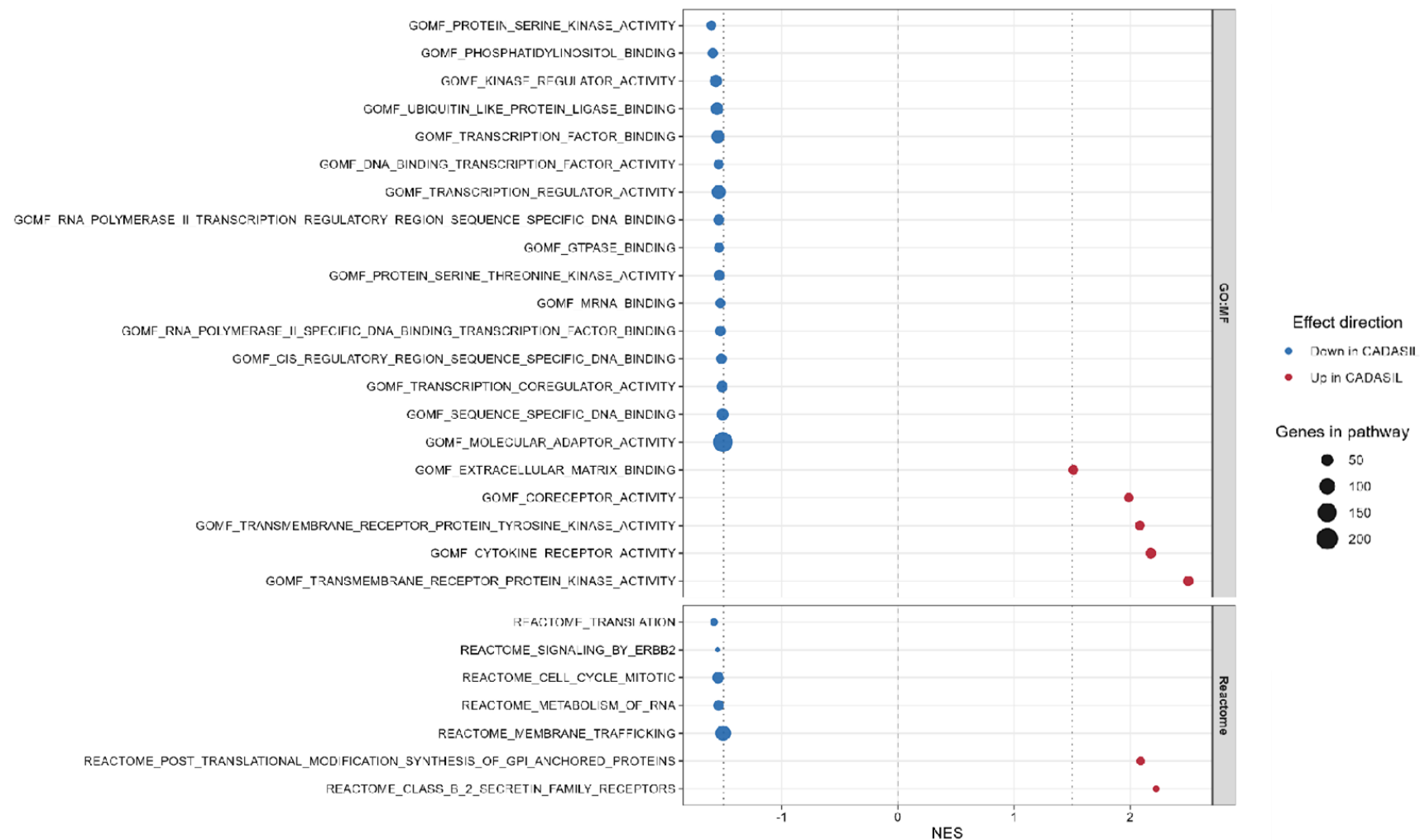
Differential abundance analysis

- 791 proteins (31.3%) con abundancia significativamente diferente en CADASIL (FDR < 0.05).
- Tendencia general de proteínas con menores niveles en CADASIL (median $\beta = -0.99$).

RESULTADOS WP2



RESULTADOS WP2

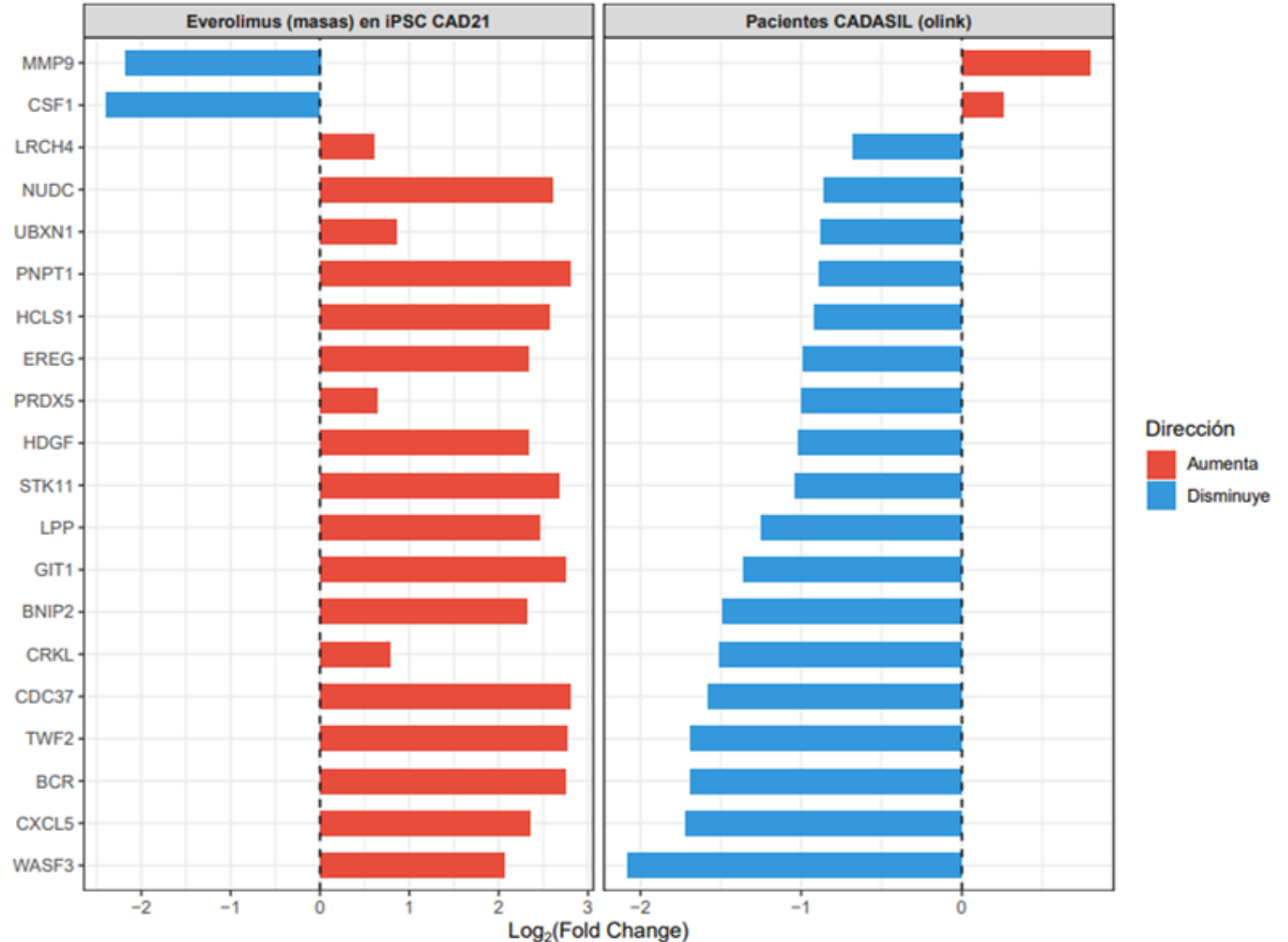


RESULTADOS WP3: Dianas indirectas candidatas de everolimus en CADASIL

Top 20 proteínas compartidas: everolimus en CADASIL21 y proteoma pacientes
Direcciones opuestas sugieren potencial target relevante

Proteínas candidatas:

Compartidas con dirección contraria entre el efecto de everolimus en hiPSCs – CADASIL21 y la dirección de su asociación a CADASIL

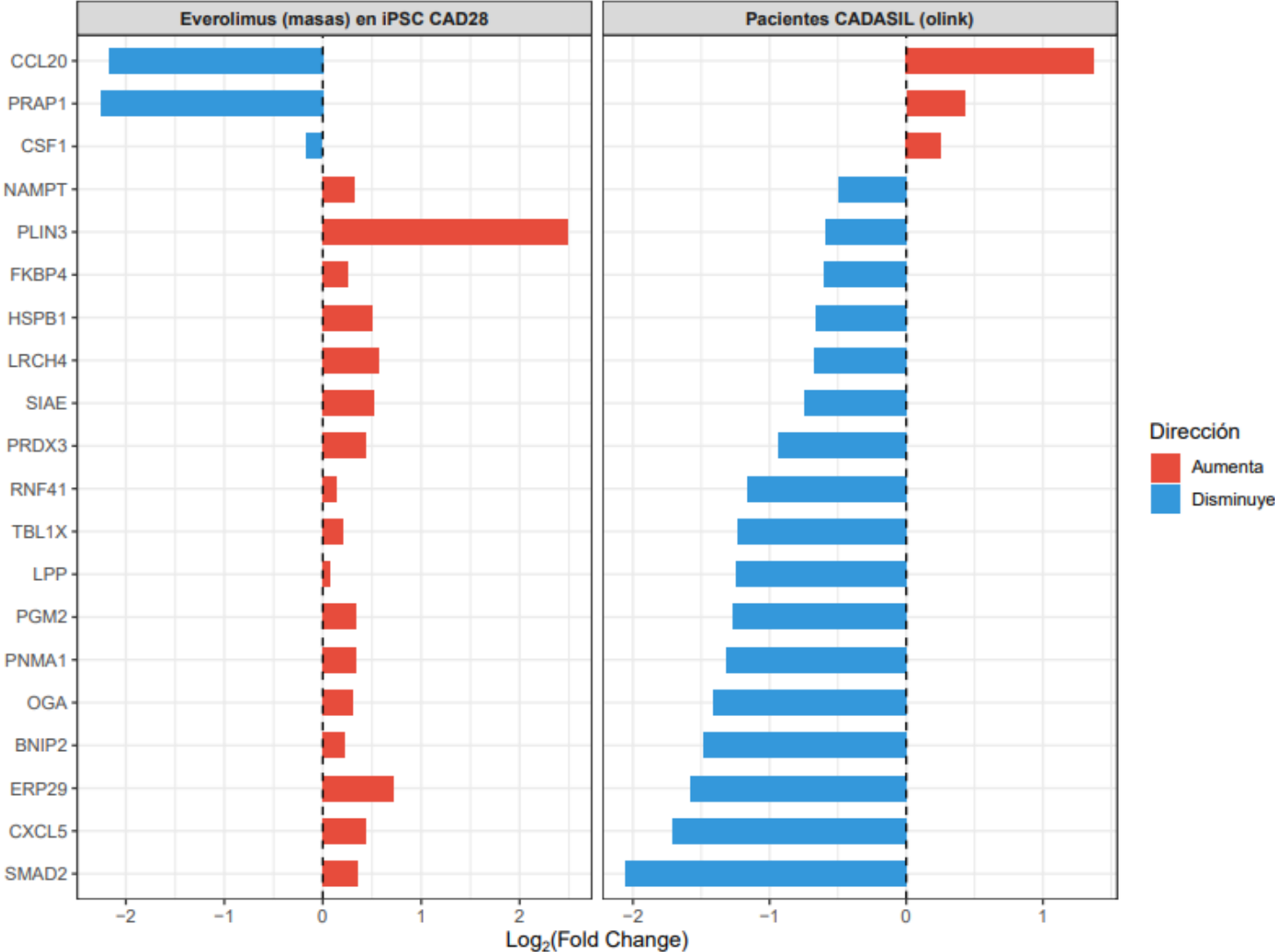


RESULTADOS WP3: Dianas candidatas de everolimus en CADASIL

Proteínas candidatas:

Compartidas con dirección contraria entre el efecto de everolimus en hiPSCs – CADASIL28 y la dirección de su asociación a CADASIL

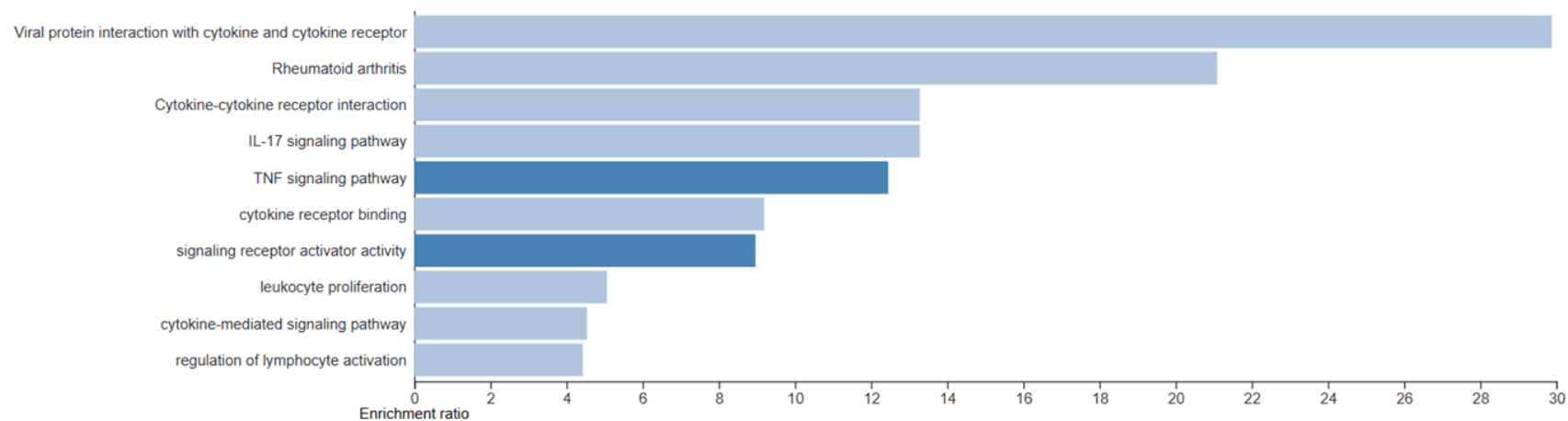
Top 20 proteínas compartidas: everolimus en CADASIL28 y proteoma pacientes
Direcciones opuestas sugieren potencial target relevante



Análisis de vías sobre-representadas (ORA) de proteínas diana candidatas

FDR $\leq$ 0.05

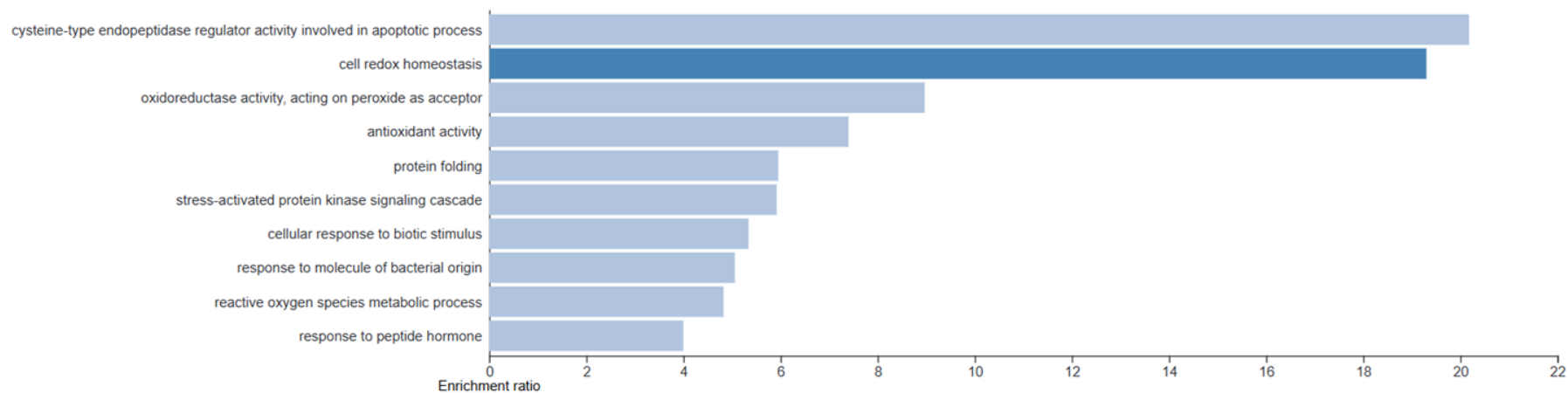
FDR > 0.05



Vías enriquecidas en diana candidatas que son up-reguladas por everolimus

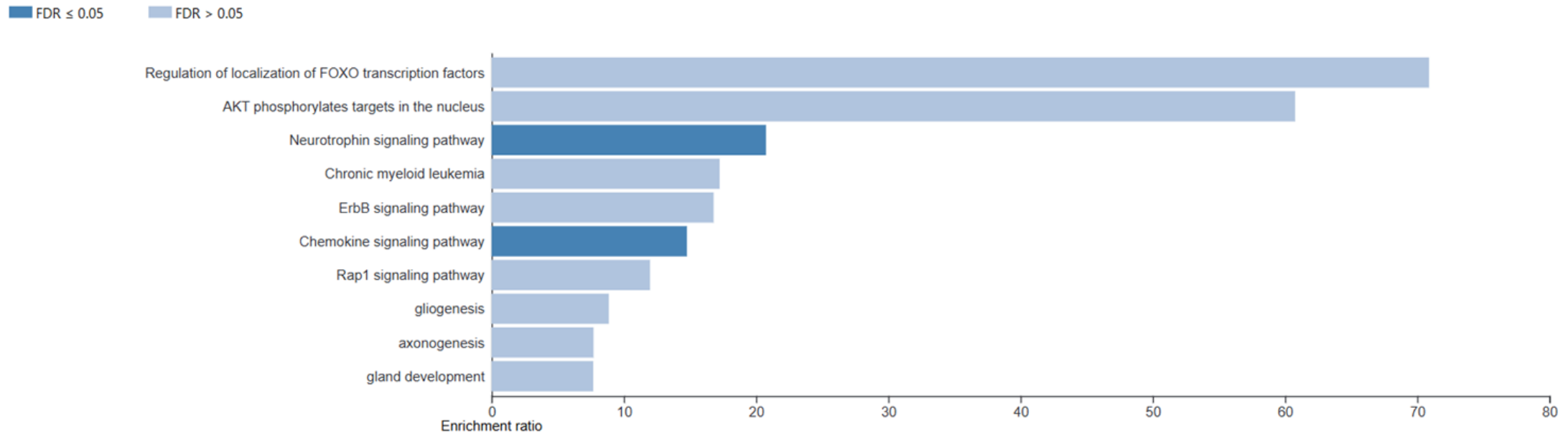
FDR $\leq$ 0.05

FDR > 0.05



Vías enriquecidas en diana candidatas que son down-reguladas por everolimus

Análisis de vías sobre-representadas (ORA) de proteínas diana candidatas



Vías enriquecidas en diana candidatas que son up-reguladas por everolimus

Conclusiones

- 1 No se encontró evidencia que el **everolimus** disminuya significativamente los agregados de **NOTCH3**.
- 2 Se observó una **elevada variabilidad** en los patrones de marcaje de NOTCH3 entre distintos lotes de anticuerpo.
- 3 El estudio piloto de proteómica demuestra que los pacientes con **CADASIL** presentan un **perfil proteómico plasmático diferencial** respecto a los controles.
- 4 El perfil de CADASIL se caracteriza principalmente por la **disminución de proteínas del citoesqueleto y rutas de autofagia**, junto con un incremento en vías de señalización inmune e inflamatoria.
- 5 Hemos identificado proteínas candidatas como **dianas de everolimus** en CADASIL, relacionadas a vías inflamatorias, señalización de citoquinas y respuesta al **estrés oxidativo**.

Reuniones realizadas:

Historial de Reuniones		
Listado cronológico de las sesiones realizadas este ciclo.		
FECHA	ESTADO	ACCIÓN
11 de Noviembre	● Finalizada	Ver Acta
25 de Noviembre	● Finalizada	Ver Acta
13 de Enero	● Finalizada	Ver Acta
05 de Marzo	● Finalizada	Ver Acta
23 de Abril	● Finalizada	Ver Acta
07 de Mayo	● Finalizada	Ver Acta
03 de Junio	● Finalizada	Ver Acta

REUNIÓN 11.11.25
Asistentes: Ana Bugallo, Ana Domínguez, Patricia de la Riva, Paula Villatoro, Elena Muiño

Próximas reuniones: martes 25 de noviembre a las 10h (clínicos)

REUNIÓN 25.11.25
Asistentes: Ana Domínguez, Patricia de la Riva, Elena Muiño
Próximas reuniones: martes 13 de enero a las 10h (todos)

REUNIÓN 13.01.26
Asistentes: Ana Domínguez, Paula Villatoro, Carmen Domínguez, Marina Ruiz, Elena Muiño, Ana Bugallo
Próximas reuniones: jueves 5 de marzo a las 10

REUNIÓN 05.03.26
Asistentes: Ana Domínguez, Marina Ruiz, Elena Muiño, Ana Bugallo, Patricia de la Riva
Próximas reuniones: neuropsicólogos (gestión por Marina).

REUNIÓN 07.05.26
Asistentes: Patricia de la Riva, Marina Ruiz, Ana Bugallo, Paula Villatoro, Elena Muiño
Próximas reuniones: miércoles 3 de junio a las 11 (Patricia verá si podrá)

REUNIÓN 03.06.26
Asistentes: Nerea García, Marina Ruiz, Ana Bugallo, Paula Villatoro, Elena Muiño
Próximas reuniones: a comentar por mail

Next steps

WP1:

- Evaluación de NOTCH3 y marcadores autofágicos mediante WB.
- Valorar emplear el mismo *batch* de anticuerpo en todos los análisis para asegurar la reproducibilidad y consistencia de los resultados.
- Replicarlo en VSMCs

WP3:

Realizar una comparación de los resultados con una cohorte de 200 pacientes y 100 controles (**cohorte de replicación**) procedente de un estudio paralelo a CADASIMUS, con el fin de completar este análisis y consolidar los resultados de cara a su publicación.

Publicación

Redacción y publicación de un artículo original.

AGRADECIMIENTOS



RICORS-ICTUS



**GRACIAS POR
VUESTRA ATENCIÓN**

