



Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

TÍTULO DE LA TESIS

**Profundizando en el conocimiento de la enfermedad
de von Hippel-Lindau**

Tesis Doctoral presentada por

KARINA VILLAR GÓMEZ DE LAS HERAS

Director:

DR. JOSÉ MIGUEL GARCÍA SAGREDO

Alcalá de Henares, 2022

A Ana Coral

***A todos los afectados por la enfermedad de von Hippel-Lindau
y a sus familias***

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi Director de tesis, D. José Miguel García Sagredo, y a mi tutora, D.^a M^a Julia Buján Varela. Gracias infinitas por haberme dado la oportunidad de plasmar todo este trabajo en una tesis doctoral, por vuestros conocimientos, consejos, guía, y sobre todo por vuestra paciencia.

A mi hermana Ana Coral, mi motor principal y a quien dedico este trabajo.

A todos los pacientes VHL que habéis colaborado en los diferentes estudios que componen esta tesis. Sin vuestra ayuda, no habría sido posible.

A la Alianza VHL, y en especial a su presidente, Susi Martínez Gómez, por tu participación activa en todo lo que he necesitado.

A Luisa M^a Botella Cubells, investigadora y amiga, jefe de grupo de la U707 CIBERER del Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), porque me escuchaste e hiciste posible comenzar con los experimentos *in vitro* con propranolol. Por tu trabajo incansable, tesón y empeño en seguir adelante a pesar de todos los problemas de todo tipo a los que nos hemos enfrentado. Gracias también a Virginia Albiñana, investigadora compañera y colaboradora indispensable.

A Rosa M^a Jiménez Escribano, médico de mi hermana y amiga mía, jefe de Servicio de Oftalmología del Complejo Hospitalario Universitario de Toledo, por tu ayuda en todo, y especialmente porque quisiste realizar el ensayo clínico con propranolol, ayudándome con la idea original, puliéndola y enfrentándote a los muchos obstáculos que se nos presentaron. Gracias también a Beatriz González, amiga, oftalmóloga y compañera de ensayo clínico, por haber trabajado tan a conciencia en sacar adelante el ensayo.

A Daniel Aguirre Mollehuanca, neurocirujano con corazón, por lo bueno que eres y por creer en mí. Y a José María de Campos, por todo lo que hiciste por los pacientes y sus familias... vivirás siempre en nuestras mentes y en nuestros corazones.

A Oliver Juan Canales Sirgo, trabajador social de la Alianza VHL, por tu inestimable ayuda con las encuestas del estudio sociosanitario.

A mi familia, Carlos, Daniel y Adriana, por el tiempo que os robé y la paciencia que me habéis regalado...

A mis padres y a mis hermanas, Olga y Myriam.

A mis amigos, que me escucháis, animáis y apoyáis en las horas bajas... Cati, Mercedes, Carol, Azucena, Shere, Mamen, Emma, Geni, María. Y a los que me conocéis desde siempre y me habéis recordado quién era y quién soy, renovando la confianza en mí misma... Carlos Yuste, Germán, Diego...

Muchas gracias a todos, de corazón

Prólogo

Ana Coral

La motivación es el motor que nos hace persistir en nuestro objetivo, por más lejano o imposible que éste pudiera parecer.

Mi hermana Ana es mi interés y motivación en la investigación y avance del conocimiento de la enfermedad de von Hippel-Lindau.

Sin antecedentes personales ni familiares de interés, en 1994, con 19 años de edad, comenzó a decir que no veía bien, por lo que fue derivada a consulta de Oftalmología. El oftalmólogo comprobó que no necesitaba ningún tipo de graduación visual y fue dada de alta sin más.

En septiembre de 1995, ante su insistencia de que no veía bien, solicitamos una nueva cita en Oftalmología, a la que la acompañé. Llevaba un volante preferente de su médico de cabecera, y en primera instancia la oftalmóloga nos indicó que una graduación visual no era motivo de consulta preferente. Agradecí estar allí, y le pedí que le mirara el fondo de ojo, porque lo que refería era un escotoma en el campo visual del ojo izquierdo. Hizo pasar a mi hermana a una habitación anexa, y tras explorarla, cuando salió la expresión de su cara había cambiado por completo. Nos dijo que no estaba segura de lo que tenía mi hermana... quizás una toxoplasmosis, quizás un tumor, por lo que debía hacerle más pruebas. La oftalmóloga solicitó un TAC craneal, y la derivó a consulta específica de retina. Allí confirmaron que la lesión que presentaba era un hemangioblastoma en la papila del nervio óptico.

Todavía recuerdo el día que la acompañé a realizarse el TAC. El radiólogo me invitó a pasar a la sala donde él iba viendo los cortes que se le iban realizando. Llegado un momento, me dijo “¿lo has visto?”. Yo no sabía qué tenía que ver, pero enseguida me añadió “tiene otro tumor en el cerebelo”. Sentí que se me aflojaban las piernas. Me dijo que probablemente se trataba de una enfermedad de von Hippel-Lindau, de la que yo apenas recordaba haber estudiado casi nada, porque lo cierto es que en aquella época toda la información que se encontraba en los tratados de Medicina Interna se resumía en un pequeño párrafo de unas 10 líneas. Me dijo que tenía que reunirse con sus compañeros de Radiología y que me informaría en unos días.

Pocos meses después, en diciembre de 1995, el hemangioblastoma cerebeloso se hizo sintomático, y tuvo que ser intervenida por primera vez.

El diagnóstico genético vino poco después, en forma de *missense mutation*. Se realizó el estudio genético familiar, el cual incluyó a nuestros padres y hermanas para descartar un posible mosaicismo genético de alguno de los dos progenitores. Finalmente se determinó que se trataba de una mutación *de novo*.

Las neurocirugías comenzaron a sucederse una tras otra... 1995, 2001, 2006, 2009, 2013, 2016, 2018 y 2022. Ha sido intervenida de tumores múltiples tanto de cerebelo como de tronco cerebral, habiéndose extirpado varios hemangioblastomas en cada una de ellas. Las secuelas más graves que padece son en gran parte consecuencia de complicaciones en los postoperatorios: ataxia de la marcha, alteraciones de la sensibilidad en hemicuerpo derecho, alteraciones de motricidad fina en hemicuerpo izquierdo, pérdida completa de la audición del oído izquierdo y afectación de pares craneales bajos (parálisis de cuerdas vocales, con afonía permanente; disfagia, portadora de gastrostomía; insuficiencia respiratoria leve) como consecuencia de un sangrado masivo en los días posteriores a la neurocirugía del año 2009.

Aparte de la afectación del SNC, fue perdiendo la visión del ojo derecho debido al crecimiento del tumor y al consecuente desprendimiento de retina, ubicado en una localización imposible de tratar sin dañar el nervio óptico. Esto ocurrió a lo largo de 7 años, con amaurosis de ese ojo a los 28 años de edad.

En 2007, con 33 años, fue intervenida de un carcinoma renal de células claras del riñón izquierdo.

Debido a que tuvo sangrado en los postoperatorios de las cirugías de 2001, 2006 y 2009 - algo infrecuente en estas neurocirugías y en estos pacientes -, solicité en sucesivas ocasiones numerosos estudios de coagulación desde Atención Primaria, que eran repetidamente normales, salvo por un tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) ligerísimamente aumentado en alguna analítica. Pensando que aun así debía haber algo mal, solicité estudio por Hematología, donde finalmente fue diagnosticada de una enfermedad de von Willebrand leve. Probablemente, si no hubiera sufrido las intervenciones de neurocirugía, nunca habríamos tenido ocasión de ver cómo algo leve puede tener resultados tan graves, dependiendo de

las circunstancias. Esta mínima alteración y la propensión a sangrar hicieron que desde el último sangrado se le administre vasopresina o factor VIII como tratamiento profiláctico previo a las cirugías, con buenos resultados.

El desarrollo de la investigación de un tratamiento para la enfermedad lo motivó el intenso, inmenso sufrimiento que ha tenido no sólo ella, sino toda mi familia y yo misma con esta enfermedad. Ha sido para mí una obsesión a la que he dedicado gran parte de mi vida personal. Como resultado, fundé con otras familias la Alianza VHL, y desde allí comenzamos a difundir información sobre la enfermedad VHL a centros de salud, hospitales, médicos y enfermeros de toda España.

En 2013 empecé a explorar el reposicionamiento terapéutico con el fin de encontrar algo que hiciera posible ralentizar el crecimiento tumoral, y así di con el propranolol, con el que comenzamos a experimentar en el laboratorio y cuyos resultados forman parte de este trabajo de tesis doctoral.

Ana actualmente está estable, en tratamiento experimental desde el año 2013 con propranolol oral, 160 mg/día repartidos en tres tomas, en un uso fuera de indicación al amparo del *Real Decreto 1015/2009, de 19 de junio, por el que se regula la disponibilidad de medicamentos en situaciones especiales*.

Así, poco a poco, vamos ganado tiempo de vida, intentando frenar la enfermedad mientras se encuentra una cura definitiva, mientras desde la asociación seguimos promoviendo el interés por investigar esta enfermedad, que por sus implicaciones en la angiogénesis puede dar también la clave para frenar otros tumores.

Ana tiene en la actualidad 48 años.

Índice

Abreviaturas.....	21
Introducción a la enfermedad	25
REVISIÓN DE LOS CONOCIMIENTOS.....	27
Epidemiología y genética	27
<i>Mosaïcismo en VHL</i>	30
El gen VHL	31
Fisiopatología	32
<i>Anticipación génica</i>	35
Criterios diagnósticos y características clínicas de la enfermedad de von Hippel-Lindau.....	36
Manifestaciones en los diversos órganos	39
<i>Sistema nervioso central</i>	39
<i>Retina</i>	43
<i>Riñón</i>	44
<i>Páncreas</i>	46
<i>Glándula suprarrenal y tejido cromafín</i>	46
<i>Oído interno</i>	47
<i>Aparato genital</i>	49
<i>Localizaciones tumorales atípicas</i>	50
Clasificación de la enfermedad en subtipos	50
Pronóstico	51
Protocolo internacional de seguimiento.....	53
Consejo genético	55
Evolución natural de la enfermedad	56
Tratamientos farmacológicos.....	57
<i>Belzutifan</i>	57
<i>Betabloqueantes: propranolol e ICI 118551</i>	59
<i>Otros fármacos</i>	59
INVESTIGACIÓN.....	60
Modelos animales VHL	60
<i>Proyecto de obtención de un modelo de ratón para SNC</i>	61
Investigación en España	62
Medicamentos de terapia avanzada	64
<i>Hemangioblastomas de SNC: Edición génica para la creación de un modelo murino</i>	64

<i>Síndrome VHL (von Hippel-Lindau): La terapia génica como opción profiláctica frente al cáncer.</i>	65
Estructuración del trabajo de investigación: hipótesis y metodología	67
Hipótesis.....	69
Metodología.....	69
Estudio de los tumores neuroendocrinos pancreáticos	73
Introducción.....	75
Quistes pancreáticos simples.....	75
Cistoadenomas serosos.....	76
Tumores neuroendocrinos pancreáticos	76
Diagnóstico.....	78
Seguimiento	80
Tratamiento	81
Recomendaciones específicas para el seguimiento de los TNEP en VHL ¹²²	83
Justificación del estudio	86
Material y métodos	86
Resultados	86
Discusión.....	95
Estudio del efecto del propranolol en los hemangioblastomas VHL.....	99
Búsqueda de un fármaco de reposicionamiento	101
Fármacos antiangiogénicos	101
Talidomida	102
Inhibidores de la tirosin-quinasa	103
Propranolol	104
<i>Inicio de las investigaciones</i>	104
Estudios <i>in vitro</i> con propranolol	106
<i>Primeros experimentos</i>	106
<i>Nuevos experimentos y proyecto de ampliación de obtención de muestras</i>	109
Ensayo clínico con propranolol	112
Justificación y objetivos	114
Objetivo principal y finalidad del estudio.....	116
Criterios de exclusión.....	117
Descripción del tratamiento del ensayo.....	117
Parámetros de eficacia	118
Aspectos éticos.....	118
Desarrollo del estudio	119
Resultados.....	120

Conclusiones	125
Designación de propranolol como medicamento huérfano para la enfermedad de von Hippel-Lindau	125
Estudio de la situación sociosanitaria de los pacientes VHL en España.....	127
Introducción.....	129
Material y métodos	129
Resultados	129
Utilización de terapias complementarias	136
Incapacidad y discapacidad	137
Escuchando a los pacientes.....	139
Conclusiones.....	143
La dificultad de investigar en España con muestras humanas en fresco.....	145
A la búsqueda de tumores VHL	148
Desarrollo del procedimiento de obtención de muestras humanas para investigación <i>in vitro</i>	149
Colección de muestras.....	151
Situación de la donación de muestras en otros centros de toda España.....	152
Biobanco Vasco	154
Biobanco de Extremadura.....	154
Investigación futura.....	157
Conclusiones	161
Anexos.....	165
Anexo I - Obtención de cultivos celulares primarios y estudio de biomarcadores ..	167
Anexo II - Efecto terapéutico de propranolol en los hemangioblastomas de retina	181
Anexo III - Estudio de la situación sociosanitaria de los pacientes VHL en España	191
Anexo IV - Publicaciones en relación a los estudios.....	203
Bibliografía.....	209

Abreviaturas

AEMPS	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
ARN	Ácido ribonucleico
BVC	Biopsia de vellosidades coriales
CEI	Comité de Ética de la Investigación
CEIC	Comité de Ética de la Investigación Clínica
CIE	Clasificación Internacional de enfermedades
CMBD	Conjunto mínimo básico de datos
CNIO	Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas
CRCC	Carcinoma renal de células claras
CSIC	Centro Superior de Investigaciones Científicas
CSUR	Centros, Servicios y Unidades de Referencia
EC	Ensayo clínico
ELST	Tumor de saco endolinfático
EMA	Agencia Europea del Medicamento
ER	Enfermedades raras
FDA	Food and Drug Administration
FJD	Fundación Jiménez Díaz
HHT	Telangiectasia hemorrágica hereditaria
HIF	Factor inducible por hipoxia
ISCIII	Instituto de Salud Carlos III
MIBG	Metayodobencilguanidina
NIH	National Institutes of Health
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PET/TC	Tomografía por emisión de positrones
PNT	Procedimiento normalizado de trabajo
pVHL	Proteína VHL
RMN	Resonancia magnética nuclear
SIFCO	Sistema de Información del Fondo de Cohesión
SNC	Sistema nervioso central
TAC	Tomografía axial computarizada
TNEP	Tumor neuroendocrino pancreático
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
SESCAM	Servicio de Salud de Castilla-La Mancha
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
VHL	von Hippel-Lindau

Introducción a la enfermedad

REVISIÓN DE LOS CONOCIMIENTOS

La enfermedad de von Hippel-Lindau - también conocida internacionalmente como VHL o angiomatosis cerebelorretiniana familiar - es una de las más de 7.000 patologías raras descritas.



Dr. Eugen von Hippel

Recibe el nombre de dos médicos que describieron características diferentes de la misma.

El doctor Eugen von Hippel, oftalmólogo alemán, describió por primera vez los angiomas de retina en el año 1885 (identificados posteriormente como hemangioblastomas).

El doctor Arvid Lindau, patólogo sueco, describió los hemangioblastomas en el cerebelo y la médula espinal en 1926, y en estudios post-mortem de pacientes con hemangioblastomas cerebelosos encontró quistes en el páncreas, hígado y riñones, así como feocromocitomas, angiomas (hemangioblastomas) hepáticos, de retina y médula espinal¹. La descripción que realizó Lindau incluyó una recopilación de todos los casos que se habían publicado hasta el momento, incluidos los que había descrito von Hippel, añadiendo además la descripción de las alteraciones que observó en diversos órganos abdominales.¹



Dr. Arvid Lindau

Epidemiología y genética

La incidencia estimada de la enfermedad es de 1/36.000 nacimientos.² Tal como suele ocurrir con otras enfermedades raras, al estar infradiagnosticada probablemente la incidencia real es mayor.

Es una patología de origen genético, causada por una alteración en una de las dos copias del *gen oncosupresor VHL*. Este gen tiene como localización citogenética 3p25.3, esto es, en el brazo corto del **cromosoma 3, posición 25.3**.³

Los individuos que nacen con la mutación son heterocigotos para el gen VHL, portadores de un alelo normal, y uno inactivado, y el desarrollo de los quistes y tumores característicos está ligado a la inactivación somática o la pérdida del alelo

sano en algún momento de su vida.⁴ Por esta razón, mientras que la enfermedad VHL se manifiesta como una enfermedad autosómica dominante, a nivel molecular puede considerarse recesiva.^{5,6}

La mutación se transmite genéticamente siguiendo un patrón de **herencia autosómica dominante**. La penetrancia es casi completa (más del 90% de los portadores habrán desarrollado alguna manifestación a los 65 años de edad).^{2,7-9} Hasta la fecha, se han descrito alrededor de 1.500 mutaciones diferentes.^{10,11}

Figura 1. Localización del gen VHL.³

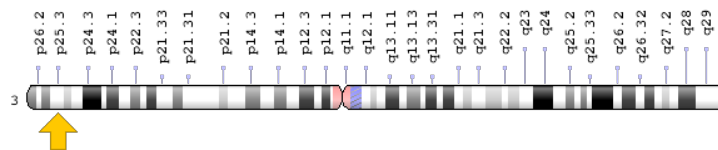
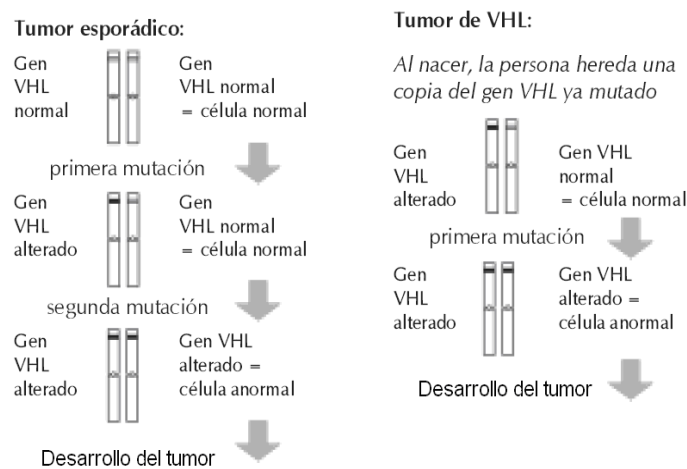


Figura 2. Pasos para el desarrollo de un tumor. Para que se origine un tumor, ambas copias del gen VHL deben haberse inactivado. De acuerdo con el modelo de los «dos eventos» de Alfred Knudson,¹² es necesaria una mutación somática añadida a la mutación germinal. Ilustración del Dr. S. Richard y del Grupo Francés de Estudio de VHL.



Dado que la persona con VHL tiene una copia alterada del gen en todas sus células, los tumores aparecen con mayor frecuencia, a edades más tempranas que en la población general y en diferentes órganos. En un individuo que no ha heredado el gen alterado, es necesario que ambas copias sufran algún daño que las inactive para que se inicie la formación de un tumor, lo cual requiere más tiempo.

Por esta razón, cuando estos tumores aparecen en la población general, habitualmente son tumores aislados y la edad media de aparición es también mayor. Como ejemplo, la edad media de aparición de un cáncer renal sintomático en

personas con VHL está en torno a los 44 años,^{10,13} mientras que en la población general es de 62 años. Cabe destacar que la inactivación de los dos alelos VHL debida a mutaciones somáticas se observa también en casos esporádicos de hemangioblastoma,¹⁴ carcinoma renal^{4,14} y tumores pancreáticos,¹⁵ lo que pone de manifiesto la implicación de la inactivación del gen VHL en la oncogénesis de estos tumores.

La enfermedad de von Hippel-Lindau está incluida en el grupo de enfermedades cancerosas familiares transmitidas genéticamente. Alrededor del 20% de los casos recién diagnosticados son portadores de una **mutación de novo**.⁸⁻¹⁰ Asimismo, se han descrito casos de **mosaicismo genético**,¹⁶⁻¹⁹ lo que significa que el portador presenta la mutación sólo en determinadas líneas celulares, por lo que puede transmitir la mutación a la descendencia, y la enfermedad en él puede ser silente o incluso manifestarse con toda su expresividad, dependiendo del grado de mosaicismo.¹⁰

Actualmente las mutaciones del gen VHL son identificables en cerca del 100% de los afectados, aunque existen algunas familias en las que aún no se ha conseguido identificar la mutación pese a manifestar el espectro clínico de la enfermedad.²⁰ Se ha encontrado una relación significativa entre ciertos tipos de mutaciones y la probabilidad de desarrollar feocromocitomas.

Se ha descrito que la delección del gen C3orf10/HSPC300 puede ser un factor de protección frente al cáncer renal y los hemangioblastomas de retina en pacientes con delección del gen VHL.^{21,22} La prevalencia de cáncer renal es menor en pacientes con delección completa del gen frente a aquellos con delección parcial.²³

En el caso de los afectados que han tenido manifestaciones clínicas de la enfermedad, debe solicitarse siempre estudio genético. Esto permitirá la identificación posterior en su familia de portadores, y su inclusión en un protocolo de seguimiento con el objetivo de diagnosticar precozmente los tumores y prevenir morbilidades tempranas y mortalidad evitable.⁹ Asimismo, servirá para descartar a aquellos familiares que no han heredado la mutación. Los portadores de la mutación del gen VHL y los familiares que todavía no tengan el resultado del estudio genético deben seguir incluidos en protocolo de seguimiento, independientemente de su edad, puesto que la primera manifestación de la enfermedad puede ocurrir en la vejez. En España, el diagnóstico genético de VHL está contemplado en la Cartera de Servicios del Sistema Nacional de Salud. Actualmente muchos centros hospitalarios públicos tienen la infraestructura necesaria para la realización del estudio. No hay que olvidar que mientras se encuentra una

terapia curativa y eficaz, son cruciales la detección e intervención temprana de los tumores.

En ocasiones una persona puede estar afectada tan levemente que la enfermedad parece haber saltado una generación. La enfermedad ha sido diagnosticada en personas de más de 80 años con motivo del diagnóstico de sus hijos o nietos.²⁰ Incluso cuando se tiene una sola manifestación de VHL y aun sin historia familiar de la enfermedad, debe tenerse presente el posible diagnóstico de VHL y llevarse a cabo una evaluación completa del resto de órganos que se pueden afectar, pues - como hemos comentado anteriormente - alrededor del 20% de los pacientes son casos *de novo*.¹⁰

El **código** de la enfermedad en la Clasificación Internacional de Enfermedades **CIE-9** es el 759.6, el cual comparte con otras dos enfermedades raras con las que no tiene nada que ver: Sturge-Weber y Peutz-Jeghers. En la **CIE-10** el código es Q85.8, también compartido con estas dos patologías, por lo que la identificación individualizada de los casos a partir de la base de datos del Conjunto Mínimo Básico de Datos (CMBD)²⁴ es complicada, aunque posible, a través del análisis de los cruces de diagnósticos, servicios de ingreso, procedimientos y diagnósticos de anatomía patológica.

Mosaicismo en VHL

Merece especial consideración el **mosaicismo**, consecuencia de una mutación somática ocurrida en una fase temprana del desarrollo embrionario que lleva a la coexistencia de dos poblaciones celulares en el mismo paciente.¹⁹ Dependiendo del grado de mosaicismo y de los tejidos afectados, los individuos tendrán más o menos manifestaciones de la enfermedad.

Aun con un resultado negativo en la búsqueda de mutaciones en los leucocitos de sangre periférica (*peripheral blood lymphocytes* - PBLs), el individuo puede presentar claras manifestaciones de la enfermedad, o ser completamente asintomático. Ante un caso sospechoso con resultado negativo, debe analizarse tejido adicional para diagnosticar un posible mosaicismo.¹⁷

Asimismo, un progenitor mosaico tiende a tener una forma menos severa de la enfermedad que su descendencia.¹⁷ Los diferentes grados de severidad pueden reflejar el hecho de que la mutación tuviera lugar en la embriogénesis temprana o tardía.

La prevalencia del mosaicismo en VHL no se ha estudiado en profundidad. El estudio más amplio en este sentido es del de Gambatti *et al.*,¹⁷ llevado a cabo en los NIH, y en el que se incluyeron individuos cuyos padres y hermanos no tenían historia familiar de la enfermedad. Se identificaron progenitores mosaico en 2 de los pacientes, que representaban el 4,8% del total de casos estudiados.

En pacientes con una aparente mutación *de novo* se recomienda la realización de un estudio clínico completo de ambos progenitores, así como un screening de mutaciones mediante técnicas que permitan la detección de bajos porcentajes de mosaicismo.²⁵

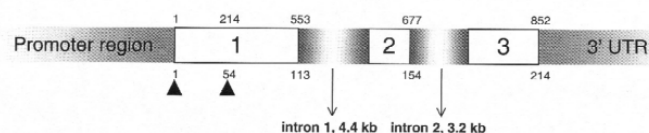
El gen VHL

Identificado en 1993 por Latif *et al.*,²⁶ se trata de un gen oncosupresor formado por 3 exones que abarcan aproximadamente 12,6 kb de ADN genómico.^{4,13} Contiene aproximadamente 14.500 pares de bases, y la longitud completa del ARN mensajero es de 4.700 pares de bases. El marco de lectura abierto es de 852 pb, y tiene dos codones de inicio intragénicos (Met1 y Met54).

La región codificante desde el primer codón de inicio (Met1, nucleótidos 214-216), está dividida en **tres exones** de 340, 123 y 179 pares de bases. El primer exón comprende los codones 1-113 (nucleótidos 1-340); el segundo, desde el codón 114 hasta el 154 (nucleótidos 341-463); y el tercero, desde el codón 155 hasta el 213 (nucleótidos 464-642).¹⁰

Este gen codifica para una proteína de 213 aminoácidos con un peso molecular de entre 28-30 kiloDaltons, llamada **pVHL30**. Se encuentra predominantemente en el citosol, y en menor medida, en el núcleo o en las membranas celulares.²⁷

Figura 3. Representación esquemática del gen VHL. Se muestran la *región promotora*, los tres exones y los 2 intrones, y la *región 3' no traducida*. Los números sobre los exones representan el número de nucleótidos. Los situados debajo se refieren al número de codones. Las dos flechas representan los dos codones de inicio (Met1 y Met54). *Adaptado de Hes.*²⁸



Un segundo producto del gen, **pVHL19**, con un peso molecular de 19 kilodaltons, se produce a partir de una iniciación de transducción alternativa iniciada en el segundo codón de inicio (Met54) dentro del marco de lectura abierto, y está formada por 160 aminoácidos. Se ha descartado que **pVHL19** sea un fragmento proteolítico de

pVHL30, o que aparezca como resultado de un splicing alternativo. Se distribuye equitativamente entre el núcleo y el citosol,²⁸ no encontrándose en asociación con las membranas celulares.²⁷

Figura 4. Secuencia de nucleótidos del gen VHL. Imagen tomada de *The UMD-VHL mutations database*.¹¹

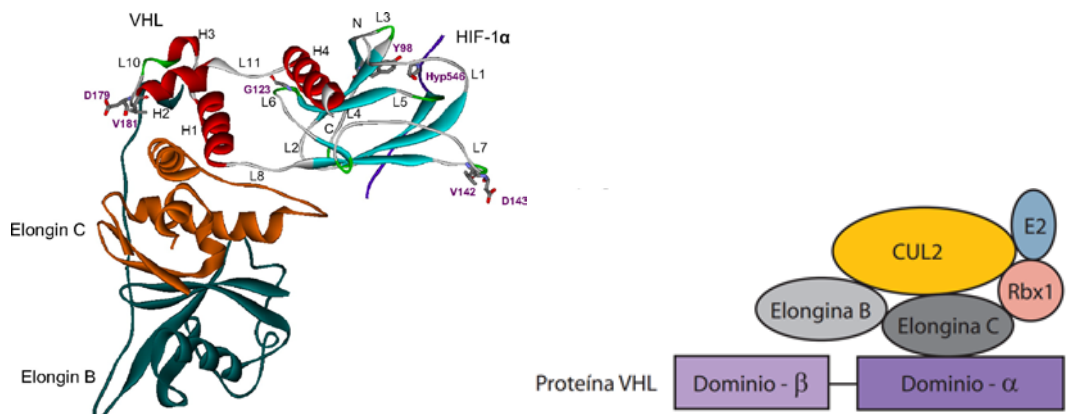
ATG	CCC	CGG	AGG	GCG	GAG	AAC	TGG	GAC	GAG	GCC	GAG	GTA	GGC	GCG	GAG	GAG	GCA	GGC	GTC	GAA	GAG	TAC	GGC	CCT	GAA	GAA	GAC	GGC	GGG	
Met	Pro	Arg	Arg	Ala	Glu	Asn	Trp	Asp	Glu	Ala	Glu	Val	Gly	Ala	Glu	Glu	Ala	Gly	Val	Glu	Glu	Tyr	Gly	Pro	Glu	Glu	Asp	Gly	Gly	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
Exon #1																														
GAG	GAG	TCG	GGC	GCC	GAG	GAG	TCC	GGC	CCG	GAA	GAG	TCC	GGC	CCG	GAG	GAA	CTG	GGC	GCC	GAG	GAG	GAG	ATG	GAG	GCC	GGG	CGG	CAG	CAG	
Glu	Glu	Ser	Gly	Ala	Glu	Glu	Ser	Gly	Pro	Glu	Glu	Ser	Gly	Pro	Glu	Glu	Leu	Gly	Ala	Glu	Glu	Glu	Met	Glu	Ala	Gly	Arg	Pro	Arg	
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	
Exon #1																														
CCC	GTG	CTG	GCG	TCG	GTG	AAC	TCG	GCG	GAG	CCC	TCC	CAG	GTC	ATC	TTC	TGC	AAT	GCG	AGT	CCG	GCG	GTC	GTG	CTG	CCC	GTA	TGG	CTC	AAC	
Pro	Val	Leu	Arg	Ser	Val	Asn	Ser	Arg	Glu	Pro	Ser	Gln	Val	Ile	Phe	Cys	Asn	Arg	Ser	Pro	Arg	Val	Val	Leu	Pro	Val	Trp	Leu	Asn	
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	
Exon #1																														
TTC	GAC	GGC	GAG	CCG	CAG	CCC	TAC	CCA	ACG	CTG	CCG	CCT	GGC	ACG	GGC	GCG	GCG	ATC	CAC	AGC	TAC	CGA	GGT	CAC	CTT	TGG	CTC	TTC	AGA	
Phe	Asp	Gly	Glu	Pro	Gln	Pro	Tyr	Pro	Thr	Leu	Pro	Pro	Gly	Thr	Gly	Arg	Arg	Ile	His	Ser	Tyr	Arg	Gly	His	Leu	Trp	Leu	Phe	Arg	
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	
Exon #2																														
GAT	GCA	GGG	ACA	CAC	GAT	GGG	CTT	CTG	GTT	AAC	CAA	ACT	GAA	TTA	TTT	GTG	CCA	TCT	CTC	AAT	GTT	GAC	GGA	CAG	CCT	ATT	TTT	GCC	AAT	
Asp	Ala	Gly	Thr	His	Asp	Gly	Leu	Leu	Val	Asn	Gln	Thr	Glu	Leu	Phe	Val	Pro	Ser	Leu	Asn	Val	Asp	Gly	Gln	Pro	Ile	Phe	Ala	Asn	
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	
Exon #2																														
ATC	ACA	CTG	CCA	GTG	TAT	ACT	CTG	AAA	GAG	CGA	TGC	CTC	CAG	GTT	GTG	CAG	AGC	CTA	GTG	AAG	CCT	GAG	AAT	TAC	AGG	AGA	CTG	GAC	ATC	
Ile	Thr	Leu	Pro	Val	Tyr	Thr	Leu	Lys	Glu	Arg	Cys	Leu	Gln	Val	Val	Arg	Ser	Leu	Val	Lys	Pro	Glu	Asn	Tyr	Arg	Arg	Leu	Asp	Ile	
151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	
Exon #3																														
GTC	AGG	TCG	CTC	TAC	GAA	GAT	CTG	GAA	GAC	CAC	CCA	AAT	GTG	CAG	AAA	GAC	CTG	GAG	CGG	CTG	ACA	CAG	GAG	GCG	ATT	GCA	CAT	CAA	CGG	
Val	Arg	Ser	Leu	Tyr	Glu	Asp	Leu	Glu	Asp	His	Pro	Asn	Val	Gln	Lys	Asp	Leu	Glu	Arg	Leu	Thr	Gln	Glu	Arg	Ile	Ala	His	Gln	Arg	
181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	
Exon #3																														
ATG	GGA	GAT																												
Met	Gly	Asp																												
211	212	213																												

Ambas isoformas son biológicamente activas,¹⁰ uniéndose a las proteínas elonginas, e inhibiendo la producción de proteínas inducibles por hipoxia (como el VEGF y el transportador de glucosa 1) cuando se introducen en células de carcinoma renal que carecen del alelo VHL normal. La reintroducción de pVHL30 o pVHL19 en estas células, suprime su capacidad para formar tumores en ratones nude.^{6,27}

Fisiopatología

El gen VHL desempeña un papel clave en la vía de señalización de la concentración de oxígeno celular, al codificar la proteína del mismo nombre, **pVHL**. Esta proteína formará un complejo multiproteico estable con otras proteínas (Elongina B, Elongina C, CUL2 y RBx1), llamado **VCB-Cul-2**, que actúa como ubiquitina ligasa (E3) uniéndose a otras proteínas celulares cuando ya no son necesarias, marcándolas mediante poliubiquitinación para su degradación en el proteosoma, e interrumpiendo así determinados procesos.⁴

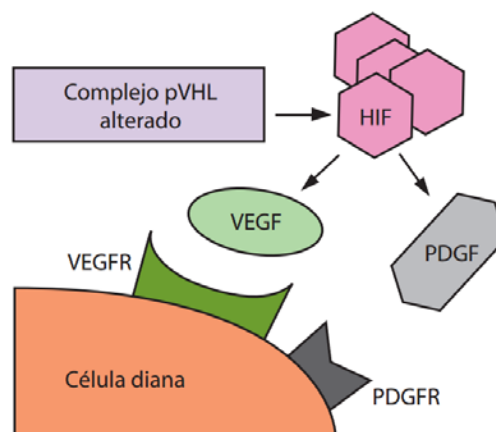
Figura 5. Estructura tridimensional²⁹ y representación esquemática del complejo VCB-CUL2.



Una de estas proteínas celulares es el **factor inducible por hipoxia (HIF)**, el cual está formado por dos subunidades llamadas α y β . Se trata de un factor de transcripción con un papel crítico en la capacidad de adaptación del organismo a los cambios en los niveles de oxígeno. HIF controla varios genes involucrados en la división celular, angiogénesis y producción de glóbulos rojos, esto último gracias a que es el principal regulador de la hormona eritropoyetina.

Por tanto, podemos afirmar que el complejo VCB-Cul-2 tiene la función de **sensor** directo del oxígeno molecular. Cuando los niveles de oxígeno en el entorno celular son adecuados – **normoxia** – el complejo VCB-CUL2 marca a HIF para su degradación en el proteosoma, e impide así que se acumule en las células.

Figura 6. Representación esquemática de la activación de factores implicados en la angiogénesis a través de HIF. Elaboración propia.



Cuando descienden los niveles de oxígeno y la célula entra en hipoxia, este complejo no funciona adecuadamente, queda anulada la capacidad de pVHL de reconocer a HIF- α , por lo que sus niveles se incrementan dramáticamente y se acumulan en el

citoplasma,³⁰ para finalmente translocarse al núcleo, dentro del cual ejerce su acción como factor de transcripción.¹⁰ Esto ocasiona la sobreproducción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), entre otros.

Estas proteínas envían señales a la célula diana para estimular su crecimiento y reproducción, que son recibidas por los correspondientes receptores (como el VEGFR y el PDGFR).³¹ En concreto, el factor de crecimiento endotelial vascular juega un papel esencial en la angiogénesis, y su expresión es inducida cuando la célula está sometida a hipoxia, favoreciéndose la expresión y la actividad transcripcional de HIF-1.³⁰

La expresión de genes diana de HIF y pVHL ha sido ampliamente estudiada a lo largo de los últimos años, habiéndose comprobado que están sobreexpresados en ausencia de pVHL (o presencia de HIF) promueven la respuesta adaptativa a la hipoxia, y se clasifican en genes de transporte de oxígeno (ej. EPO), promotores de angiogénesis (VEGF) y genes del metabolismo energético anaeróbico.¹⁰

En el caso de la **enfermedad VHL**, a nivel celular la inactivación de los dos alelos del gen VHL es el factor desencadenante del desarrollo tumoral, pues la pVHL será *defectuosa estructuralmente o se producirá en cantidad inferior a lo normal*. La disfunción de la proteína VHL – y con ello, del complejo VCB-Cul-2 - ocasiona acumulación y activación de HIF, demostrable en los estadios más tempranos de la tumorigénesis, seguido de expresión de VEGF, eritropoyetina, óxido nítrico sintetasa y transportador de glucosa tipo 1.³²

En los *hemangioblastomas*, la inactivación bialélica VHL en las células estromales pobremente diferenciadas ocasiona la estabilización de HIF, sobreproducción de VEGF y factor B de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF B), que estimularán a las células endoteliales vasculares y los pericitos, respectivamente. En el caso del *carcinoma renal*, la inactivación bialélica en las células epiteliales de los túbulos renales igualmente estabiliza HIF, dando lugar a la formación de los quistes renales precursores del carcinoma renal.^{4,31} La inactivación bialélica VHL también está presente en la inmensa mayoría de los casos esporádicos de carcinoma renal de células claras,³³ que es el cáncer renal más frecuente en humanos.

La pVHL desempeña también otras funciones no relacionadas con la hipoxia. Hay un grupo de genes regulados por pVHL de forma independiente a los niveles de oxígeno y de su interacción con HIF. Así, se ha descrito su implicación en la estabilidad de microtúbulos y su orientación, la formación de cilios, regulación del envejecimiento, la

regulación del colágeno IV y el ensamblaje de la matriz de *fibronectina extracelular* normal¹⁰, redícula intrincada que llena los espacios intercelulares proporcionando soporte estructural a los tejidos.

Cabe destacar los trabajos de Kaelin sobre la implicación del gen VHL en la vía de señalización celular para el oxígeno.⁶ Los tumores relacionados con la inactivación VHL son de forma característica altamente vascularizados, y producen péptidos angiogénicos en exceso (como VEGF). También puede producir un exceso de eritropoyetina, ocasionando secundariamente policitemia. Dado que tanto VEGF como eritropoyetina están inducidos habitualmente por hipoxia, esto le llevó a formular la hipótesis de que la proteína VHL estaba implicada en la adaptación celular a los cambios de oxígeno.

Mención aparte merece la policitemia de Chuvash, condición extremadamente rara sin relación con la enfermedad VHL clásica, debida a mutaciones puntuales del gen VHL. Se observa policitemia, pero no tumores, y recibe su nombre de la región rusa donde se identificó por primera vez.³⁴

HIF-1 y cáncer

HIF-1 está sobreexpresado en los cánceres humanos comunes, y su implicación en la progresión tumoral también ha sido ampliamente estudiada.³⁰ El incremento en la expresión de VEGF es esencial para el establecimiento de la angiogénesis en la mayoría de los tumores sólidos. Las mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumores que incrementan la expresión de VEGF, lo hacen a través de la inducción de HIF-1.³⁰

Anticipación génica

Recientemente se han publicado varios estudios que corroboran la existencia de anticipación génica en VHL;^{35,36} este hecho también ha sido confirmado desde la asociación española de afectados, a partir de sus registros internos.²⁰

Se ha estudiado la relación entre la longitud de los telómeros y la edad de las primeras manifestaciones de la enfermedad. Wang *et al* observaron una correlación positiva, y por tanto un mayor riesgo de desarrollar determinados tumores a edades tempranas (hemangioblastomas del SNC, cáncer renal y quistes y/o tumores neuroendocrinos pancreáticos), independientemente del tipo de mutación, sexo e historia familiar.³⁷ La hipótesis de estos investigadores es que los telómeros acortados propiciarían una inestabilidad genómica que podría contribuir a la mutación del alelo normal.

Criterios diagnósticos y características clínicas de la enfermedad de von Hippel-Lindau

Clínicamente se manifiesta por la aparición de múltiples tumores en diferentes órganos a lo largo de toda la vida del individuo.^{38,39} La edad de las primeras manifestaciones de la enfermedad es muy variable, pudiendo darse entre la primera infancia y la vejez, con una media de 25 años.³⁸ No distingue raza ni sexo.

Los hemangioblastomas de retina y del sistema nervioso central (SNC) son los primeros en hacerse sintomáticos, seguidos del carcinoma renal de células claras. Otros tumores típicos son el tumor de saco endolinfático, feocromocitoma y paraganglioma, cistoadenoma pancreático, tumor neuroendocrino pancreático y cistoadenoma de ligamento ancho y del epidídimo.^{2,8,9,38,40,41} Los tumores de la enfermedad VHL son característicamente multicéntricos, y bilaterales en el caso de los órganos pares.

Los **criterios diagnósticos clínicos** fueron definidos por los médicos Melmon y Rosen en 1964,⁴² y se han venido utilizando para el diagnóstico de forma exclusiva hasta 1993, año en que se identificó el gen VHL.²⁶ Desde entonces hasta ahora se ha perfeccionado y extendido el uso del **diagnóstico genético**, convirtiéndose en fundamental para el diagnóstico de pacientes que no cumplen de manera estricta los criterios de Melmon y Rosen. También es esencial en el despistaje de portadores en familiares asintomáticos. Actualmente los criterios diagnósticos de la enfermedad VHL son los siguientes:

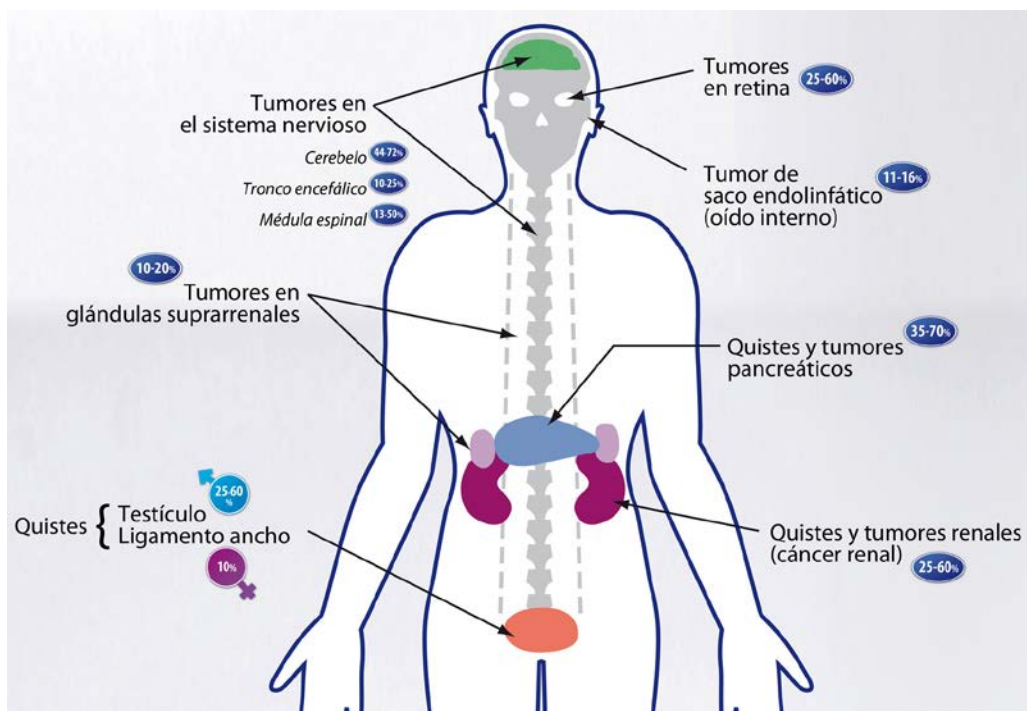
- a) Con historia familiar de hemangioblastomas en el Sistema Nervioso Central o retina: un hemangioblastoma u otra manifestación característica.
- b) Sin historia familiar:
 - al menos dos hemangioblastomas en SNC o retina, o
 - un hemangioblastoma y otra lesión característica
- c) Diagnóstico genético molecular positivo.

Aunque la mayoría de los tumores que se presentan son raros (a excepción del cáncer renal), desde el punto de vista histológico no difieren de los que aparecen en la población general. Sin embargo, en los portadores de la mutación los tumores aparecen a edades mucho más tempranas y con algunas características diferenciales con respecto a los que se presentan en la población general.

La enfermedad tiene una *expresividad variable*, con una gran variabilidad fenotípica incluso dentro de la misma familia, e incluso en gemelos idénticos,⁴³⁻⁴⁵ lo que pone de manifiesto la influencia de otros factores en la aparición de las manifestaciones, como serían los genes modificadores y/o factores medioambientales.^{5,46}

La severidad de las diferentes manifestaciones también es muy variable en cada afectado, de forma que en la misma familia se pueden encontrar portadores sin apenas manifestaciones, y otros muy afectados. No debuta de la misma manera ni siquiera en miembros de la misma familia.

Figura 7. Principales lesiones y su frecuencia.³⁸ Imagen de Carlos E. Casal Novo.



No hay una **correlación genotipo-fenotipo** exacta, aunque sí se han realizado aproximaciones. Algunas mutaciones dentro del mismo codón pueden producir fenotipos diferentes, por lo que se cree que hay otros factores determinantes, como el tipo de aminoácido sustituido, genes modificadores o factores medioambientales.¹⁰ Se cree que las diferentes alteraciones del gen VHL – ya sea por *mutaciones* o por *hipermetilación* - originan diferentes alteraciones cualitativas y cuantitativas de la proteína VHL, ocasionando así también distintas manifestaciones.^{4,10}

Los crecimientos tumorales ocurren de forma cíclica, con fases de crecimiento y de quiescencia, y en aquellos pacientes con muchos tumores se pueden observar crecimientos y fases quiescentes de forma simultánea – incluso en tumores

coexistentes del mismo tipo -, lo que sugiere también en este contexto la influencia de otros factores, como podrían ser factores de origen hormonal.¹⁰

La edad de comienzo de las manifestaciones de la enfermedad es muy variable, sin que se haya encontrado relación con el tipo de mutación germinal.⁵ Los datos que aparecen en la *tabla 1* incluyen edad de diagnóstico sintomático (basados en las primeras publicaciones realizadas entre 1976 y 2004, e incluyendo datos de la VHL Family Alliance) y edad de diagnóstico presintomático (realizado durante las revisiones programadas del protocolo de seguimiento). Existen tablas elaboradas por otros autores en fechas posteriores, con datos muy similares a los recogidos en esta.⁴⁷

Tabla 1. Edad de las primeras manifestaciones. El 20% son feocromocitomas extraadrenales, también llamados paragangliomas. Hb. = hemangioblastoma(s).

Lesión (quiste/tumor)	Edad al diagnóstico (años)	Rango de edad (años)	Frecuencia en pacientes (%)
SNC			
Hb. de retina / SNC	0-68	12-25	25-60
Tumor de saco endolinfático	1-50	24-35	10-25
Hb. cerebelo	9-78	18-25	44-72
Hb. tronco encefálico	7-36	24-35	10-25
Hb. médula espinal	10-66	24-35	13-50
Visceral			
Cáncer renal o quistes	16-67	25-50	25-60
Feocromocitomas*	4-58	12-25	10-20
Tumor o quiste pancreático	5-70	24-35	35-70
Cistoadenoma del epidídimo	17-43	14-40	25-60% de varones
Cistoadenoma del lig. ancho	16-64	16-46	≈10% de mujeres

Aunque es una enfermedad hereditaria, los problemas de salud que puede ocasionar son tan variados que pueden no ser identificados en un primer momento como manifestaciones de la misma enfermedad, produciéndose retrasos diagnósticos de años, con consecuencias dramáticas para los pacientes.⁴⁰ Esto ocurre muy frecuentemente con casos *de novo*, pero también en familias con varias generaciones de afectados,²⁰ lo que viene a subrayar la importancia de la elaboración del árbol genealógico familiar y la realización de un cuidadoso despistaje de todos los posibles portadores.

Manifestaciones en los diversos órganos

Los tumores que se presentan en esta enfermedad son tanto benignos y malignos, y aparecen de forma asíncrona, sin seguir un patrón fijo de presentación.

Hasta la fecha, el único tratamiento efectivo para los tumores que van apareciendo son las cirugías de repetición, las cuales acaban ocasionando secuelas importantes con el paso del tiempo, debido principalmente a un efecto sumatorio. Por ello, aun con un adecuado seguimiento y programación de las intervenciones, es frecuente que estos pacientes presenten múltiples discapacidades e invalideces a edades tempranas de la vida.

No todos los tumores requieren cirugía inmediata cuando se detectan. El objetivo del clínico debe ser detectar los tumores precozmente, con el fin de realizar un estrecho seguimiento y poder así determinar el momento óptimo de la intervención. Esto permite asimismo programar las intervenciones y minimizar los riesgos de las cirugías.

Las opciones de tratamiento sólo pueden determinarse mediante una cuidadosa valoración de la situación global e individualizada del paciente: sus síntomas, los resultados de las pruebas médicas (analíticas y/o radiológicas), y el estado de salud general. Las siguientes recomendaciones únicamente tratan de ser pautas generales de tratamiento.

Sistema nervioso central

Los **hemangioblastomas** son los tumores más frecuentes en los portadores de la mutación, y aparecen en *encéfalo*, médula espinal y retina. Son tumores altamente vascularizados y bien circunscritos.⁴⁸ Representan el 1-2% de las neoplasias intracraneales esporádicas, mientras que se observan en el 80% de los pacientes VHL, manifestándose por igual en hombres y mujeres.³² Se ha estimado que el 20%-25% de hemangioblastomas se asocian a VHL.⁴⁸

Los hemangioblastomas del **sistema nervioso central** no se distribuyen uniformemente, pero aparecen preferentemente en localizaciones concretas, como son la médula espinal dorsal, la región del obex del tronco cerebral, el cerebelo y la retina.³⁸ Pueden desarrollarse como nódulos sólidos, o más frecuentemente asociando un quiste peritumoral.⁴⁹ La localización de estos tumores es típicamente infratentorial¹³ aunque también pueden aparecer supratentorialmente^{38,49-52} ubicados en zonas de difícil acceso para el neurocirujano. Cabe destacar la localización en el tallo hipofisario, que plantean diagnóstico diferencial con craneofaringioma, adenoma hipofisario, tumor

ectópico de células germinales, meningioma y malformación arteriovenosa, y de los que se han descritos muy pocos casos.⁵³

Las localizaciones más frecuentes de los hemangioblastomas son el cerebelo y la médula espinal, seguidas del tronco cerebral.³⁸ Además es característico que el paciente desarrolle tumores simultáneos en diferentes localizaciones del SNC, y en distintas fases de crecimiento.

Anatomopatológicamente los hemangioblastomas son lesiones benignas, altamente vascularizadas y bien definidas, que no invaden el tejido circundante,⁵⁴ pero durante su desarrollo acabarán causando síntomas por compresión del tejido nervioso vecino. Los síntomas dependerán de la localización, tamaño del tumor y presencia de edema o quiste asociado. Desde el punto de vista histológico, las lesiones de la retina y del sistema nervioso central son idénticas, por lo que reciben el nombre común de hemangioblastomas.⁶

Las lesiones sintomáticas crecen más rápidamente que las asintomáticas. En el caso de los tumores quísticos, el quiste suele crecer mucho más rápidamente que el nódulo sólido, siendo habitualmente el causante de los síntomas y de la necesidad de cirugía. El sangrado espontáneo de los hemangioblastomas es raro, aunque puede ocurrir, en ocasiones con graves consecuencias.⁵⁵⁻⁵⁷

Mediante un adecuado seguimiento los tumores pueden ser detectados precozmente y seguidos mediante pruebas de imagen realizadas con contraste intravenoso, con el fin de determinar el momento óptimo de la intervención. Se recomienda la resonancia magnética nuclear frente al TAC por dos razones principales: la visualización de la fosa posterior es mejor con RMN, y para minimizar el riesgo de segundas mutaciones que pudiera ocasionar la radiación que conlleva el TAC.

La histología de los hemangioblastomas del SNC varía notablemente dependiendo del tamaño del tumor.³² Pueden ser nódulos sólidos o llevar un componente quístico asociado. Están formados por cuatro tipos de células:^{4,58} células endoteliales; pericitos; células estromales o multivacuoladas rellenas de lípidos integrado en capilares, que pueden desempeñar un papel neoplásico liberando factores angiogénicos como VEGF; y mastocitos. Las células vasculares no parecen tener naturaleza neoplásica.¹⁰

Los hemangioblastomas son tumores raros - tanto si aparecen en pacientes con VHL como en la población general -, y muy pocos cirujanos tienen experiencia con ellos. A

esto hay que añadir el hecho de que el paciente VHL va a tener que pasar por el quirófano de neurocirugía muchas veces en su vida, con una frecuencia individual variable; algunos de estos pacientes pasan por el quirófano cada 2-3 años, desde la segunda o tercera década de la vida.

En la mayoría de los casos el tratamiento de elección de los hemangioblastomas es la cirugía convencional, realizada por neurocirujanos con experiencia en la intervención de estos tumores, que realicen resecciones completas y tengan baja tasa de complicaciones o secuelas. La cirugía tiene un efecto lesional aditivo, y siempre existe posibilidad de complicaciones postquirúrgicas. En zonas profundas las posibilidades de una cirugía son menores, pues no cabe la posibilidad de ir recortando tejido nervioso de forma indiscriminada para llegar al tumor.

Como normal general, suele desaconsejarse la cirugía en tumores *asintomáticos*. Esta decisión también depende de la localización del tumor, pues en determinadas localizaciones – como bulbo raquídeo - es preferible operar antes de que comiencen los síntomas, a partir de un tamaño de 1 cm de diámetro del nódulo sólido. Una vez se hacen sintomáticos, se aconseja su *resección* quirúrgica lo antes posible, independientemente de su localización. El abordaje terapéutico de cualquier hemangioblastoma debería ser valorado con un neurocirujano experto en la enfermedad y con experiencia contrastada en ella.

Hay que tener siempre en cuenta que aunque son tumores histológicamente benignos, la aparición secuencial de tumores y las subsiguientes cirugías, irán originando secuelas neurológicas, en ocasiones irreversibles, desde edades tempranas.

Radiocirugía estereotáctica

La localización del tumor en una zona crítica puede hacer que la resección completa del tumor sea de muy alto riesgo o incluso impracticable, especialmente en pacientes con múltiples tumores. En estos casos, la radiocirugía estereotáctica puede ser una opción a considerar.^{38,48,59}

Funciona mejor con tumores pequeños y sólidos;⁴⁹ sin embargo, estas características coinciden con las de los tumores que más probablemente podrían no haber crecido en un corto-medio plazo. En tumores mayores de 3 cm la respuesta del tumor a la radiocirugía es pobre.⁶⁰ La experiencia publicada en pacientes VHL es con tumores pequeños y asintomáticos, cuya progresión posterior es similar a la de la historia natural de la enfermedad.⁶¹

No es un tratamiento apropiado para aquellos pacientes sintomáticos o con tumores quísticos,^{48,60} pues el crecimiento del quiste no se verá afectado por el tratamiento. Tampoco es una opción terapéutica – al menos de momento - para los hemangioblastomas medulares. Su utilización no previene la aparición de posteriores hemangioblastomas, y conlleva algunos inconvenientes a tener en cuenta:

No se puede hacer estudio anatomopatológico del tumor, por lo que no hay posibilidad de realizar diagnóstico diferencial con posibles metástasis. Los estudios publicados sobre series de pacientes VHL tratados con radiocirugía tienen el sesgo de que no se puede confirmar la histología tumoral.

Al ser radioterapia, cabe la posibilidad de inducción de segundos tumores y progresión tumoral, y ocasionar edema y radionecrosis. No resuelve los tumores quísticos ni previene la aparición de quiste en los nódulos.⁶²

Requiere seguimiento estrecho, lo que supone costes adicionales al tratamiento en sí.

Además puede ser difícil distinguir los efectos relacionados con la radiación de la recurrencia tumoral.⁶³ Como resumen, podemos decir que la radiocirugía no debe considerarse en primera línea de tratamiento como alternativa a la cirugía,⁵⁹ sino que es una *alternativa con indicaciones restringidas*, en tumores pequeños o medianos, múltiples o recidivantes, en localizaciones de difícil acceso, en pacientes de alto riesgo para neurocirugía convencional.⁴⁸

Figura 8. Las dos primeras imágenes corresponden a dos pacientes mujeres de unos 40 años de edad, con varias neurocirugías previas que han ido dibujando una imagen cicatricial característica. El paciente de la derecha es un varón de 20 años, tras su primera neurocirugía.



El número de cirugías previas y el número de tumores no parecen estar asociados con el desarrollo de nuevos tumores. Sin embargo las edades más jóvenes sí se asocian a una tasa más elevada de nuevos desarrollos tumorales.⁴⁸

Las **metástasis** que se presentan en el SNC tienen origen principalmente en el carcinoma renal, aunque también pueden producirlas los feocromocitomas y paragangliomas malignos, y los tumores neuroendocrinos pancreáticos.³²

Como resumen de este apartado de tratamientos quirúrgicos, quiero recordar las palabras del Dr. José María de Campos, experto neurocirujano que creó la primera unidad española de atención integral a los pacientes VHL en la Fundación Jiménez Díaz (Madrid), y que tenía un profundo conocimiento de esta enfermedad:

“No se deben tratar todos los tumores que “se ven” por el mero hecho de verlos. Solo tratar los tumores sintomáticos o que crecen hasta tamaños relevantes...y extirpar en esa ocasión los vecinos. Cuando operes, piensa que probablemente alguien deberá operarle en el futuro más veces... piensa en todos los tejidos, incluso en la piel. Ten en cuenta el “efecto tóxico” de tratamientos múltiples y sucesivos, tanto con Cirugía como con Radiocirugía, frente a los efectos de la enfermedad”.

Retina

Los **hemangioblastomas de retina**⁶⁴ son una de las manifestaciones más frecuentes y precoces de la enfermedad. Pueden aparecer a cualquier edad, por lo que es fundamental realizar el *seguimiento* a todos los portadores desde el primer año de vida. Habitualmente son tumores de crecimiento muy lento a lo largo de los años.

Pueden tener localización periférica o central, y ser únicos o múltiples. Hay pacientes que presentan nuevos tumores cada año, y otros han tenido un único tumor a lo largo de un seguimiento clínico de más de 20 años; también hay pacientes en los que el crecimiento tumoral es muy rápido, y otros permanecen quiescentes durante años.²⁰

Figura 9. Paciente mujer, 50 años, con hemangioblastoma yuxtapapilar en retina izquierda. A la izquierda se representa la retinografía y a la derecha, la angiofluoresceingrafía.



Los situados en el nervio óptico o yuxtapapilares son muy difíciles de tratar con éxito por el elevado riesgo de yatrogenia. En su evolución van produciendo pérdida de

visión debido al edema perilesional, exudados, tracción de la retina y finalmente el desprendimiento de la misma.

Con el paso del tiempo, tras la pérdida de visión acaba produciéndose *ptisis bulbi*. En algunos casos se le propone al paciente la realización de evisceración y colocación de prótesis ocular, bien como tratamiento definitivo para el glaucoma consecuencia de la evolución natural de la enfermedad ocular, bien por motivos estéticos.

Dentro de la población VHL es relativamente frecuente la amaurosis uni o bilateral debido al desarrollo de tumores múltiples, que en muchos casos podría haberse prevenido o retrasado con un control adecuado y un tratamiento precoz.

Figura 10. Paciente mujer de 34 años, con hemangioblastoma único, en la papila del nervio óptico del ojo izquierdo. El tumor fue creciendo a lo largo de más de 8 años tras los primeros síntomas, y acabó produciendo tracción de la retina, desprendimiento, glaucoma, catarata secundaria y amaurosis.



En cuanto al tratamiento,⁶⁵ en los tumores periféricos se utiliza fotocoagulación con *láser* en las lesiones pequeñas y *crioterapia* en las más grandes. Si el hemangioblastoma es yuxtapapilar, en la mayoría de los casos únicamente se realiza seguimiento debido al riesgo de pérdida visual que implica el tratamiento. También se utilizan bevacizumab y ranibizumab intravítreo, fuera de las indicaciones establecidas en su ficha técnica,⁶⁶ con resultados dispares.⁶⁷ Como se verá más adelante, recientemente se ha propuesto el uso de propranolol vía oral para frenar el crecimiento y la nueva aparición de estos tumores.

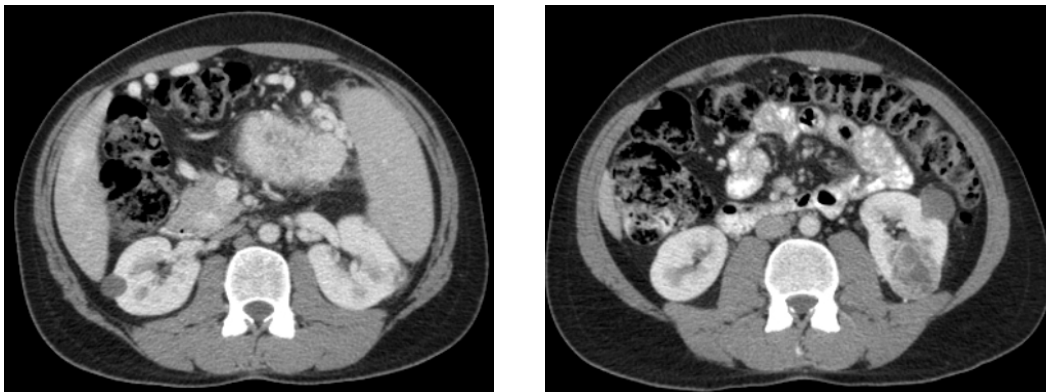
Riñón

Pueden presentarse quistes y tumores. Los quistes son habitualmente múltiples, y tienen aspecto radiológico de quistes simples, pero son lesiones preneoplásicas⁴ que deben ser vigiladas cuidadosamente, pues en su seno acaba desarrollándose el tumor renal, característicamente carcinoma renal de células claras.⁴⁰ Recientemente se ha diagnosticado un tumor renal papilar en una paciente VHL de 46 años que ha sido intervenida en varias ocasiones de carcinomas renales bilaterales de células claras.²⁰

Hasta la fecha de elaboración de este trabajo, no existen publicaciones en las que se describa este tipo de tumor renal asociado a la enfermedad VHL.

En los pacientes en protocolo de seguimiento, los tumores renales se suelen diagnosticar en fases tempranas. El tumor suele estar mejor definido, sin invadir tejidos circundantes durante más tiempo, y metastatizan más tardíamente que el carcinoma renal de células claras que aparece en la población general. Todo esto posibilita mejores opciones de tratamiento, logrando mantener la función renal normal durante mucho tiempo (en muchos casos durante toda la vida).

Figura 11. Tumores renales bilaterales en paciente de 28 años. En la imagen de la izquierda se aprecia tumor renal cortical en el riñón derecho, y en la imagen de la derecha se ven dos tumores en el riñón izquierdo, uno cortical y otro que invade ampliamente el parénquima renal.



Los tumores renales pueden ser detectados mediante las pruebas de imagen cuando son aún muy pequeños. Dado que hay una alta probabilidad de que el paciente desarrolle tumores múltiples en ambos riñones a lo largo de varias décadas, el objetivo del tratamiento debe ser mantener la función renal el mayor tiempo posible, minimizar el número de cirugías y extirpar los tumores antes de que *metastaticen*. Para ello es aconsejable controlar muy de cerca el crecimiento de estos tumores y operar sólo cuando el tamaño del tumor o su rápido crecimiento sugieren potencial metastásico. Así, el consenso internacional aconseja la intervención quirúrgica sólo cuando el tumor de mayor tamaño supere los 3 centímetros.³⁹ Llegado este momento, el cirujano aprovecha para extirpar no sólo el tumor que ha ocasionado la indicación de cirugía, sino que también extirpará en la medida de lo posible otros tumores renales coexistentes.

La tumorectomía y *nefrectomía parcial* es ampliamente utilizada. La *ablación por radiofrecuencia* y la *crioterapia* constituyen buenas alternativas en tumores pequeños.⁴⁹

Los pacientes a los que se les ha realizado nefrectomía total bilateral, son buenos candidatos para trasplante renal.⁶⁸ El tratamiento inmunosupresor utilizado en los pacientes trasplantados no parece influir en el crecimiento de otros tumores VHL, y el pronóstico no difiere del de otros pacientes trasplantados.⁴¹

Páncreas

Las lesiones pancreáticas pueden ser la única manifestación de la enfermedad.⁶⁹ La mayoría de ellas son asintomáticas, diagnosticadas durante el screening sistemático de los portadores de la mutación.⁷⁰ De todas ellas hablaremos más extensamente en el apartado correspondiente al estudio de los tumores neuroendocrinos pancreáticos.

Son un hallazgo frecuente los **quistes pancreáticos simples**, similares a los que se encuentran en la población general.

Son característicos de la enfermedad VHL los **cistoadenomas serosos**. Se trata de tumores benignos que, si bien no requieren cirugía, cuando invaden todo el tejido glandular, acaban produciendo insuficiencia pancreática y diabetes mellitus.

También pueden aparecer **tumores neuroendocrinos pancreáticos (TNEP)**, que aunque no suelen ser funcionantes, requieren un cuidadoso y estrecho seguimiento. En los últimos años se ha establecido un protocolo consensuado a nivel internacional para determinar el riesgo potencial de malignización y por tanto, orientar sobre el momento óptimo de intervención.^{71,72}

Es necesario realizar el diagnóstico diferencial entre quistes, cistoadenomas serosos y tumores neuroendocrinos pancreáticos. Los quistes y cistoadenomas generalmente no precisan tratamiento, mientras que en el caso de los tumores neuroendocrinos se valorará el riesgo según una serie de criterios establecidos a nivel internacional.⁷¹

Glándula suprarrenal y tejido cromafín

En las glándulas suprarrenales pueden aparecer feocromocitomas, tumores también de origen neuroendocrino derivados del tejido cromafín, que producen una o varias catecolaminas: epinefrina, norepinefrina y dopamina. Histológicamente son una expansión de células cromafines derivadas de las células de la cresta neural.¹⁰

El paraganglioma es el tumor derivado de las células cromafines extraadrenales de la cadena ganglionar simpática paravertebral, que surge en cualquier punto desde la

base del cráneo hasta la pelvis.⁷³ Estas localizaciones suponen en muchos casos un auténtico desafío diagnóstico.

En VHL estos tumores suelen ser hipofuncionantes, diagnosticándose en muchos casos en el contexto de la enfermedad VHL de forma casual. En ocasiones se hacen funcionantes, produciendo la sintomatología característica. En un pequeño porcentaje de pacientes pueden acabar malignizándose y originar metástasis a distancia, por lo que una vez diagnosticado un feocromocitoma/paraganglioma, requiere seguimiento estrecho y cirugía programada.

Se recomienda descartar la presencia de feocromocitomas antes de cualquier cirugía, así como antes del embarazo y el parto, pues en estos casos la presencia de un feocromocitoma supone un riesgo añadido.

Los **feocromocitomas y paragangliomas** se malignizan en aproximadamente un 3% de los casos, pudiendo originar metástasis a distancia.

El tratamiento es quirúrgico, prefiriéndose la *adrenalectomía parcial por vía laparoscópica*. Actualmente existe bastante controversia sobre si deben intervenirse o no los feocromocitomas aparentemente inactivos.

Oído interno

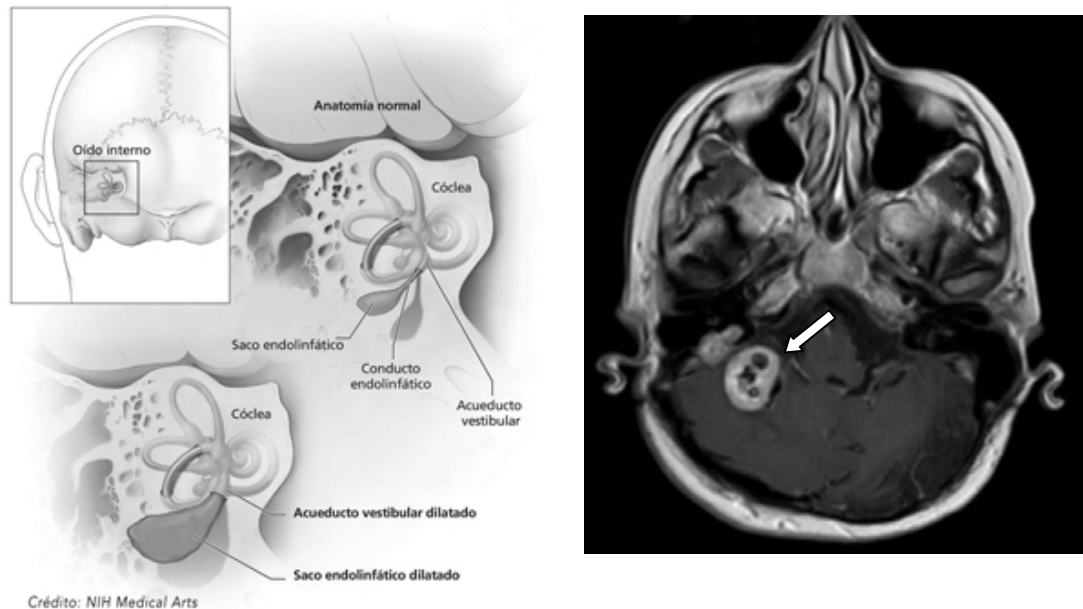
En el oído interno puede aparecer el tumor de saco endolinfático, también conocido como ELST (*endolymphatic sac tumour*). Es un tumor extremadamente raro en la población general, que afecta a alrededor del 16% de la población VHL,⁷⁴ con una media de edad al diagnóstico de 22 años.³⁸

Surge de la proliferación del epitelio del saco endolinfático en la pared posterior del hueso petroso, en la región del acueducto vestibular. Su aparición no se ha visto asociada a un tipo específico de mutación.⁷⁴

Puede ser la primera manifestación de la enfermedad,⁷⁵ lo que, unido a la rareza de su aparición en la población general, hace recomendable descartar la enfermedad VHL en todo paciente con un ELST aparentemente esporádico.⁷⁶ Cuando es bilateral, se considera un signo patognomónico de VHL.^{13,38} En un trabajo de Poulsen *et al* llevado a cabo con la población danesa VHL, se estimó que la prevalencia de tumores bilaterales llegaba al 11%.⁷⁴

Las manifestaciones clínicas iniciales consisten en tinnitus, pérdida auditiva, vértigo y parálisis facial.^{32,38,75} Muchos pacientes debutan con pérdida auditiva, sin evidencia radiológica de tumor.⁷⁵ Puede simular una enfermedad de Meniere.⁷⁷

Figura 12. Oído interno y localización del saco endolinfático, a la izquierda. Imagen de los NIH.⁷⁸ En la imagen de la derecha, se observa un tumor de saco endolinfático de gran tamaño, que ya ha invadido fosa posterior.



Crédito: NIH Medical Arts

Son tumores altamente vascularizados y localmente agresivos,^{38,77} con capacidad de producir pérdida severa e irreversible de la audición, así como otros síntomas audiovestibulares.

Aunque es de crecimiento lento, es localmente destructivo, puede acabar erosionando el hueso petroso⁷⁹ e invadir fosa posterior, ocasionando importante clínica neurológica,⁷⁴ por lo que las cirugías deben ser realizadas de forma precoz. En su avance, afectará a las estructuras nerviosas adyacentes, ocasionando paresia facial, hipoestesia y síndrome del foramen yugular, con afectación de los pares IX, X y XI,^{32,75} y pudiendo llegar a producir la muerte del paciente.⁷⁷

El diagnóstico y tratamiento precoces son muy importantes para evitar la progresión,⁷⁴ por lo que en todo paciente VHL debe realizarse un adecuado seguimiento con el fin de detectar cualquier pérdida auditiva y descartar un ELST subyacente. Se recomienda audiometría anual, y en aquellos casos en que hay algún síntoma, la realización de resonancia magnética nuclear de alta resolución, específica para oído interno.⁷⁴

Aun con síntomas, las pruebas de imagen específicas pueden no visibilizarlo debido a su tamaño microscópico en fases incipientes,^{38,74} y en algunos casos se ha evidenciado un desfase de hasta 15 años entre la aparición de los primeros síntomas y el diagnóstico radiológico.^{15,75}

La cirugía es curativa en aquellos casos en que se extirpa completamente el tumor.³⁸ Sin tratamiento, el crecimiento tumoral acabará produciendo una pérdida irreversible de audición.⁷⁵ En aquellos pacientes que han perdido la audición, cabe la posibilidad de colocar un implante coclear o una prótesis osteointegrada.

De la bibliografía consultada, cabe destacar el trabajo realizado por Poulsen en 2011, enmarcado en un estudio nacional prospectivo que incluyó al 90% de todos los portadores de mutaciones de VHL conocidos en Dinamarca. Fue la primera evaluación sistemática de vigilancia de ELST realizada en la mayor muestra de paciente con VHL y ELST publicada hasta la fecha. Además el estudio incluyó un metaanálisis de todos los informes pacientes con VHL y ELST en la literatura desde 1993.

Aparato genital

En el **epidídimo** pueden aparecer **cistoadenomas**, principalmente en pacientes adultos jóvenes. Son tumores quísticos benignos de origen mesonéfrico, uni o bilaterales, que crecen a partir de una variedad de *tumorlets* epiteliales microscópicos ubicados en los conductos eferentes de la cabeza del epidídimo,^{40,80} aunque se han descrito raros casos de malignización a cistoadenocarcinoma.⁸¹ Habitualmente son asintomáticos y suelen ser un hallazgo casual,^{13,82} aunque en su evolución pueden ocasionar hematuria o molestias cuando son numerosos, llegando en algún caso a originar problemas de fertilidad.^{40,41}

El diagnóstico se realiza por palpación y se confirma mediante ecografía.⁸² En pacientes que se realizan autoexamen, pueden ser difíciles de palpar por su pequeño tamaño. Debido a su carácter generalmente benigno, está indicado únicamente seguimiento, interviniendo sólo en caso de que el crecimiento excesivo produzca síntomas compresivos.⁸²

Histológicamente el epitelio tiene características de células claras similares a otras lesiones que aparecen en la enfermedad,³⁸ como el tumor de saco endolinfático⁷⁹ y el carcinoma renal,⁸⁰ aunque diferenciable mediante marcadores inmunohistoquímicos.⁸¹

Más de un tercio de los cistoadenomas epididimarios recogidos en la literatura han aparecido en pacientes VHL.⁸¹ Por esta razón se debe descartar la enfermedad VHL cuando se diagnostica este tumor, más aún si el paciente presenta tumores bilaterales.

En mujeres portadoras de la mutación se han detectado (en muchas ocasiones como hallazgo casual) **cistoadenomas del ligamento ancho**. Son tumores histológicamente similares a los cistoadenomas de epidídimo,⁴⁰ que han llegado a confundirse con tumores malignos y han sido tratado como tales.

Localizaciones tumorales atípicas

Varios autores han recogido en sus tratados sobre la enfermedad tablas con los tumores en localizaciones atípicas, e incluso tumores atípicos en el contexto de la enfermedad VHL. En este sentido cabe mencionar los trabajos de Neumann (Alemania, 1998)^{41,69} y Hes (Países Bajos, 2000).²⁸

Se han descrito tumores y/o localizaciones tumorales atípicas, como cistoadenoma papilar pulmonar,⁸³ hemangioblastoma pulmonar,⁸⁴ hemangioblastoma hepático,^{85,86} adenoma hipofisario, angioma esplénico, pulmonar y hepático, astrocitoma, neuroblastoma, tumor de células germinales en testículo, carcinoma medular de tiroides, entre otros.^{28,41,87}

En el caso de los cistoadenomas pulmonares, se plantea el diagnóstico diferencial con metástasis de cáncer renal de células claras. Morfológicamente, los cistoadenomas pulmonares se parecen mucho a otras neoplasias de células claras ricamente vascularizadas que aparecen en la enfermedad.⁸³ Su incidencia en estos pacientes es desconocida.

Clasificación de la enfermedad en subtipos

Según las diferentes manifestaciones clínicas, la enfermedad de von Hippel-Lindau se ha clasificado en subtipos cuyas características se reflejan en la tabla 2.³⁹ Esta clasificación es una aproximación, dado que actualmente no se puede descartar de forma absoluta la futura aparición de una determinada manifestación. Por ello se ha establecido “alto riesgo” y “bajo riesgo” de padecer una u otra manifestación.

Para una familia concreta, la clasificación basada únicamente en la clínica puede no ser acertada, especialmente si no hay muchos individuos afectados, son jóvenes y no ha transcurrido tiempo suficiente para que presenten algunas manifestaciones de la enfermedad. Así, algunos autores han descrito hemangioblastomas en familias con un

subtipo aparentemente 2C.¹⁴ Actualmente se propone clasificar en un subtipo u otro teniendo en cuenta tanto el fenotipo como la mutación presente en la familia.²²

La mutación con cambio de sentido (*missense mutation*) predomina en el caso de VHL con feocromocitoma, mientras que la delección o la mutación sin sentido (*nonsense mutation*) es de bajo riesgo para feocromocitoma.^{14,22} El carcinoma renal de células claras es más frecuente en pacientes con mutaciones que originan proteína VHL truncada que en aquellas de cambio de sentido.¹⁴ Los tumores de saco endolinfático (ELST) y los cistoadenomas del epidídimo y ligamento ancho parecen estar asociados a un subtipo específico.

Tabla 2. Clasificación genotipo-fenotipo en familias con la enfermedad de von Hippel-Lindau. Adaptada de Nielsen.⁴⁷

Subtipos VHL			
	Tipo de mutación	Alto riesgo	Bajo riesgo
1	Delección, inserción, proteína truncada, cambio de sentido	HB retina/SNC, CRCC	PHEO
1B	Delección de genes contiguos que incluyen al gen VHL	HB retina/SNC	PHEO , CRCC
2A	Cambio de sentido	HB retina/SNC, PHEO	CRCC
2B		HB retina/SNC, CRCC , PHEO	
2C		PHEO	HB retina/SNC, CRCC <i>ausente</i>

HB, hemangioblastoma; PHEO, feocromocitoma; CRCC, carcinoma renal de células claras

Pronóstico

La enfermedad VHL dejada a su libre evolución es causa frecuente de discapacidades y mortalidad prematuras, por lo que el pronóstico depende en gran medida de la realización de un correcto seguimiento de todo paciente portador de la mutación del gen VHL. El seguimiento y tratamiento de estos pacientes debe realizarse en centros especializados en la enfermedad, con facultativos con un amplio conocimiento de esta patología,⁹ y mediante un enfoque multidisciplinar coordinado entre las diferentes especialidades implicadas.^{9,13,41}

Como es de imaginar, la **esperanza de vida** de los pacientes VHL es inferior a la de la población general, habiéndose situado hasta hace poco tiempo en torno a los 50

años,^{2,88} debido principalmente a las complicaciones de los tumores del SNC y al cáncer renal.^{2,8} Gracias a los avances de las técnicas quirúrgicas y a los protocolos de seguimiento, en un estudio reciente realizado en población danesa se ha observado un incremento importante de la esperanza de vida, y se ha estimado que los pacientes diagnosticados en los últimos años tienen un incremento medio de supervivencia de unos 16 años con respecto a los diagnosticados antes de 1990, situándose actualmente en 67 años para los varones y 60 para las mujeres.⁸⁹

Existe un protocolo de seguimiento consensuado a nivel internacional, que se va actualizando periódicamente gracias a la aportación de los clínicos implicados en el manejo de grandes series de pacientes.³⁹ La inclusión de los portadores en un programa de seguimiento de la enfermedad permite detectar precozmente los tumores – en fases incipientes y asintomáticas - y establecer el momento idóneo de las intervenciones,^{41,90} con una consecuente reducción de la morbimortalidad.

Aun cuando los resultados de las pruebas sean negativos, debido a la elevada penetrancia de la enfermedad los portadores de la mutación deben continuar dentro del protocolo a lo largo de toda su vida. Desafortunadamente siguen dándose casos en España de pacientes a los que únicamente se les hacen las revisiones periódicas de un órgano afectado, olvidando el resto de los órganos que pueden llegar a afectarse.²⁰

Si una persona portadora de la mutación llega a la edad de 60 años sin haber tenido síntomas de VHL ni tiene hijos con la enfermedad, las revisiones pueden espaciarse, aunque nunca deben abandonarse.

A continuación se reproduce el protocolo de seguimiento consensuado por los expertos de la enfermedad a nivel internacional,⁸² y que se utiliza como guía clínica que cada médico finalmente adecuará a su paciente concreto. Las sucesivas actualizaciones de este protocolo están siendo difundidas por las asociaciones de pacientes VHL, entre sus afectados y médicos, desde hace más de 20 años.

Protocolo internacional de seguimiento

A cualquier edad

Realización de estudio genético a todos los posibles portadores de la mutación en un laboratorio especializado en el diagnóstico de la enfermedad VHL.

En el embarazo

Los médicos que atienden a la embarazada deben estar informados de la historia familiar de VHL. Si la gestante pertenece a una familia con VHL y no se ha realizado estudio, debería realizarse estudio genético cuanto antes para descartar la enfermedad.

Desde el nacimiento

El pediatra debe estar informado de la historia familiar VHL. Debe prestar atención a posibles síntomas neurológicos, como nistagmo, estrabismo, leucocoria u otras manifestaciones que requieran ser valoradas por un oftalmólogo. Debería realizarse estudio audiológico del recién nacido (*en España se realiza por protocolo el estudio de potenciales evocados en recién nacidos*).

1 a 4 años de edad

Anualmente:

- Se deben buscar posibles alteraciones neurológicas, nistagmo, estrabismo, leucocoria y alteraciones de la tensión arterial, visión o audición.
- Examen de retina mediante oftalmoscopio indirecto.

5 a 15 años

Anualmente:

- Valoración física y neurológica completa, medición de tensión arterial en decúbito y en bipedestación, problemas auditivos, posibles alteraciones neurológicas, nistagmo, estrabismo, leucocoria, y otros signos.
- Examen de retina mediante oftalmoscopio indirecto y con dilatación pupilar.
- Estudio de metanefrinas fraccionadas en plasma, especialmente normetanefrina en test de metanefrinas libres en plasma. En su defecto, *catecolaminas y metanefrinas* en orina de 24 horas.
- Ecografía abdominal anual a partir de los 8 años, o antes si fuera preciso.
- Resonancia magnética o gammagrafía con MIBG sólo si hay alteraciones bioquímicas.

- Desde los 8-10 años debería considerarse la realización de estudios con RMN de encéfalo y médula espinal con contraste (gadolinio), - que pueden requerir sedación – y están particularmente indicados si hay mínima sospecha de síntomas neurológicos. Repetir anualmente si se observan tumores en el primer estudio. *Esta recomendación fue realizada por el Dr. José María de Campos, neurocirujano español experto en la enfermedad, aunque no fue incluida en el protocolo internacional.*

Cada 2 - 3 años:

- Valoración audiológica completa (anualmente si hay pérdida auditiva, tinnitus o vértigo).
- Si hay alteraciones, o si hay infecciones auditivas de repetición, RMN con contraste del conducto auditivo interno para descartar ELST.

A partir de los 16 años

Anualmente:

- Examen físico y valoración neurológica. Examen escrotal en varones.
- Examen de retina con oftalmoscopio indirecto y dilatación pupilar.
- Ecografía abdominal (riñones, páncreas y glándulas suprarrenales), alternando cada 2 años con RMN con y sin contraste (no durante el embarazo).
- Estudio de metanefrinas fraccionadas, especialmente normetanefrina en test de metanefrinas libres en plasma. En su defecto, catecolaminas y *metanefrinas* en orina de 24 horas.
- Si hay alteraciones bioquímicas, RMN abdominal o gammagrafía con MIBG.

Cada 2-3 años:

- RMN con contraste, de *encéfalo* y médula espinal con cortes finos de fosa posterior, prestando especial atención al oído interno y hueso temporal para descartar ELST.
- Valoración audiológica.

Durante el embarazo

- Evaluación periódica de las retinas para anticipar una potencial progresión rápida de las lesiones.
- Test de feocromocitoma al principio, mitad y final del embarazo, para descartar feocromocitoma activo, especialmente peligroso durante el trabajo de parto y nacimiento.

- Durante el 4^o mes de embarazo, RMN sin contraste para evaluar las lesiones preexistentes del encéfalo y médula. Si hay lesiones de retina, encefálicas o medulares conocidas, considerar la realización de cesárea.

Una vez que una persona desarrolla alguna manifestación de VHL, el protocolo de seguimiento debe ser revisado con los especialistas que le traten, pues puede ser necesaria una mayor frecuencia de las pruebas para vigilar el desarrollo y crecimiento de lesiones conocidas. La situación ideal sería que tanto el médico de familia como el pediatra y los diferentes especialistas que van a tratar a estos pacientes tuvieran un conocimiento profundo de la enfermedad.

Consejo genético ^{20,39}

Como en todas las enfermedades hereditarias, en esta enfermedad debe realizarse consejo genético. Se indagará sobre los antecedentes familiares para la elaboración del árbol genético familiar, con el fin de identificar posibles portadores de la mutación y establecer la estrategia de estudio del paciente y su familia. En aquellos pacientes que deseen tener descendencia, igualmente se informará del riesgo de transmisión de la enfermedad a la descendencia, que en el caso de VHL es del 50% en cada embarazo. Es importante aclararle al paciente que la posibilidad del 50% de transmisión existe en cada embarazo de forma independiente, pues lo que tienden a entender nuestros pacientes es que hasta el 50% de sus hijos heredará la enfermedad, pero que el otro 50% quedará libre de ella.

En nuestro país existe desde algunos años el diagnóstico genético preimplantacional, que supone la utilización de la estimulación ovárica, fecundación *in vitro* y selección embrionaria para la implantación de embriones que no sean portadores de la mutación del gen VHL. La aprobación de la **Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida** vino a dar marco jurídico en España para la aplicación de las técnicas de reproducción humana asistida en la prevención y tratamiento de enfermedades de origen genético, autorizando el diagnóstico genético preimplantacional para la detección de enfermedades hereditarias graves e incurables, de aparición precoz.

Actualmente es objeto de estudio desde la asociación española de pacientes Alianza VHL la posible influencia del tratamiento de estimulación ovárica en la evolución de la enfermedad, pues por notificaciones de pacientes concretas se teme que las hormonas puedan tener un efecto gatillo en el crecimiento de determinados tumores, como los hemangioblastomas. Esto está siendo actualmente analizado en el

laboratorio del Centro de Investigaciones Biológicas CIB 109 del CSIC, Madrid, en un proyecto financiado por la Alianza VHL.

Es conveniente que la paciente portadora que haya decidido quedarse embarazada, tanto si ha optado por la fecundación natural como por la fecundación *in vitro*, se someta a una valoración clínica completa, con el fin de diagnosticar y establecer las características de tumores preexistentes, y tratarlos si es preciso. Obviamente esto no es necesario si el portador de la mutación es el futuro padre.

En cuanto al **diagnóstico prenatal** en aquellos casos en que la fecundación haya tenido lugar de forma natural, éste se realiza mediante la biopsia de vellosidades coriales (BVC) en el primer trimestre del embarazo, o por amniocentesis en el segundo trimestre del embarazo, con el fin de obtener una muestra de ADN fetal para comprobar si el feto es portador de la mutación. Si el resultado es positivo, se ofrece a la gestante la posibilidad de aborto terapéutico. En caso de que los futuros padres hubieran manifestado su intención de no abortar independientemente del resultado de las pruebas, no está indicada la realización de ninguno de los dos estudios anteriores, sino que se recomendaría la realización del estudio genético del bebé tras el nacimiento.³⁹

Desde su implantación en España, mediante el diagnóstico preimplantacional han nacido ya más de 10 niños de padres con VHL, libres de la enfermedad.²⁰

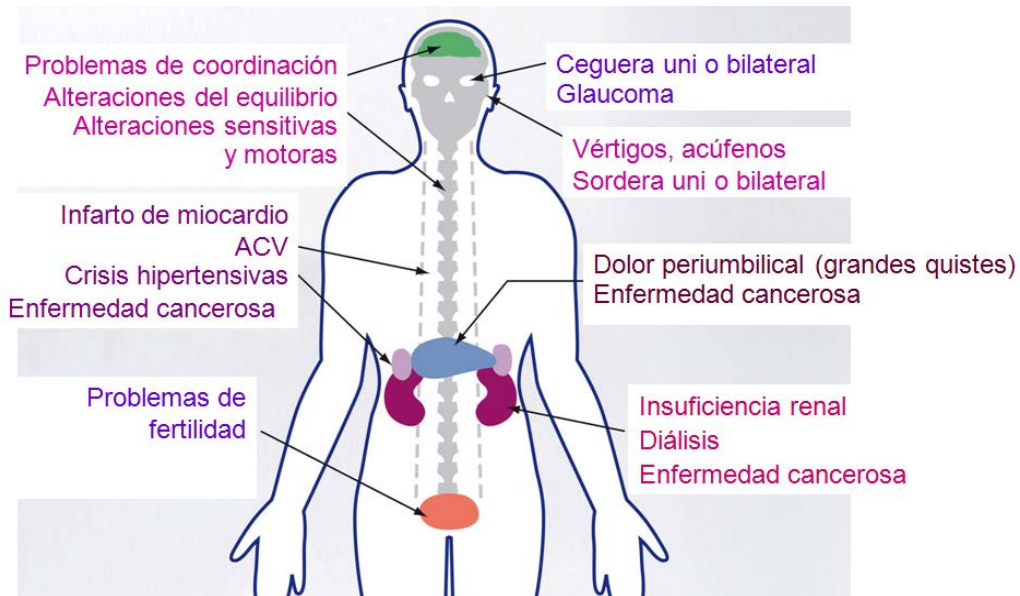
Evolución natural de la enfermedad

Como se ha comentado anteriormente, dejada a su libre evolución la enfermedad VHL es causa frecuente de discapacidades y mortalidad prematuras. Las siguientes manifestaciones y discapacidades han sido recogidas por la Alianza VHL en su registro de pacientes españoles:²⁰

- Amaurosis unilateral y bilateral, debido a los hemangioblastomas de retina.
- Muerte súbita ocasionada por el efecto compresivo de hemangioblastomas de tronco cerebral.
- Carcinomas renales detectados tardíamente para cirugía conservadora, con casos documentados de nefrectomía radical bilateral en la tercera década de la vida, y en tratamiento de diálisis.
- Metástasis de carcinoma renal, tumor neuroendocrino pancreático o feocromocitoma/paraganglioma, en la cuarta década de la vida.

- Sordera uni/bilateral en la segunda década de la vida.

Figura 13. Manifestaciones y discapacidades asociadas a la enfermedad de von Hippel-Lindau³⁹.



En algunos casos, los tumores encefálicos y medulares múltiples han ocasionado debilidad y pérdida de fuerza en miembros, que se han confundido con astenia y/o depresión, lo que ha demorado el tratamiento quirúrgico, con consecuencias fatales.

En el registro de pacientes de la Alianza VHL hay constancia de un paciente VHL con siringomielia secundaria a múltiples tumores medulares, para el que se realizó derivación ventrículo-peritoneal como tratamiento paliativo. El paciente acabó falleciendo como consecuencia del fracaso del SNC.

Tratamientos farmacológicos

Belzutifan⁹¹

En agosto de 2021 la agencia responsable de la regulación de medicamentos en los Estados Unidos, FDA (Food and Drug Administration) aprobó belzutifan (*Welireg*®), para el tratamiento de pacientes adultos VHL con carcinoma renal de células claras, hemangioblastomas del sistema nervioso central o tumores neuroendocrinos pancreáticos que no requieren cirugía inmediata.

Belzutifan es un inhibidor del factor 2 alfa inducible por hipoxia (HIF-2 α). Como hemos visto anteriormente, HIF-2 α es un factor de transcripción que juega un papel fundamental en la adaptación celular a la hipoxia. Bajo niveles normales de oxígeno,

HIF-2 α es degradado en el proteosoma. Cuando falta la proteína VHL funcional, se produce estabilización y acumulación de HIF-2 α , el cual se traslada al núcleo e interactúa con el factor 1 beta inducible por hipoxia (HIF-1 β) para formar un complejo transcripcional que induce la expresión de genes aguas abajo, incluidos genes relacionados con la proliferación celular, la angiogénesis y el crecimiento tumoral. Belzutifan se une a HIF-2 α y, en condiciones de hipoxia o deterioro de la función de la proteína VHL, bloquea la interacción HIF-2 α -HIF-1 β , lo que reduce la transcripción y expresión de los genes diana de HIF-2 α .

Los datos de eficacia y seguridad de belzutifan en VHL proceden de un ensayo clínico fase 2 (NCT03401788), de un solo brazo de tratamiento, abierto, que incluyó a 61 pacientes que tenían al menos un tumor sólido medible localizado en el riñón. Los pacientes fueron seguidos durante una media de 21,8 meses y los primeros resultados del ensayo se publicaron en noviembre de 2021.⁹²

En relación a la **seguridad**, los efectos adversos más frecuentes fueron la anemia (90% de los pacientes) y la fatiga (66%), recogidos en la ficha técnica de Welireg⁹¹ que belzutifan puede causar anemia grave que puede requerir transfusiones sanguíneas, por lo que el hematocrito debe ser controlado de forma rutinaria. Asimismo, explica que puede causar hipoxia grave, siendo necesaria en algunos casos la oxigenoterapia e incluso la hospitalización, por lo que también deben ser controlados los niveles de oxígeno durante el tiempo que se mantenga el tratamiento.

En los ensayos clínicos se observó que la reducción en los niveles plasmáticos de eritropoyetina (EPO) es dosis dependiente, con dosis de hasta 120 mg una vez al día. La supresión máxima de EPO se produjo después de 2 semanas de dosificación consecutiva de Welireg® (disminución porcentual media desde el inicio de aproximadamente el 60%). Los niveles medios de EPO volvieron gradualmente a los valores iniciales después de 12 semanas de tratamiento.

El principal **criterio de valoración de la eficacia** fue la tasa de respuesta global medida por evaluación radiológica, de acuerdo a los criterios de valoración de respuesta en tumores sólidos RECIST v1.1. En el caso de los tumores renales, se produjo una respuesta parcial en el 49% de los pacientes, y tan solo en el 56% la duración de la respuesta fue superior a 12 meses. En los hemangioblastomas del SNC hubo respuesta completa en el 4% de los pacientes y respuesta parcial en el 58% de los pacientes, observándose una reducción en el tamaño de los quistes peritumorales asociados a los hemangioblastomas. La respuesta se mantuvo durante más de 12 meses en el 73% de los pacientes. Los TNEP respondieron de forma parcial en el

17%, y de forma completa en el 67%. Estas respuestas se mantuvieron más de 12 meses en el 50% de los pacientes.

La eficacia y seguridad no ha sido establecida en pacientes pediátricos, ni en pacientes mayores de 65 años.

Todos estos datos lo posicionan como un tratamiento farmacológico de uso excepcional en VHL, más dirigido al tratamiento de tumores inoperables debido a su localización o para aquellos pacientes que han sufrido múltiples cirugías y en los que una cirugía más puede condicionar una pérdida importante de su calidad de vida, pero en ningún caso como medicamento de uso habitual para cualquier paciente VHL. En Europa todavía no ha recibido la autorización de comercialización.

Actualmente hay varios estudios clínicos con belzutifan como monoterapia o terapia combinada en otras indicaciones.⁹³

Betabloqueantes: propranolol e ICI 118551

Estos dos antagonistas betaadrenérgicos son medicamentos prometedores en el tratamiento global de la enfermedad. Como veremos más adelante, en 2013 se comenzó a ensayar propranolol *in vitro* como posible tratamiento de los hemangioblastomas, y más recientemente se empezó también a ensayar ICI 118551. En el caso de ICI, hay datos *in vitro* que demuestran una reducción del estrés oxidativo, la estabilización de la respuesta inflamatoria y la disminución de la vía glucolítica en las células de carcinoma renal de pacientes VHL.⁹⁴

Otros fármacos

Hasta la fecha se han ensayado otros fármacos,⁶⁷ entre ellos, los inhibidores de la tirosin-quinasa sunitinib y pazopanib, con resultados dispares. Hay seis fármacos en el mercado aprobados para el cáncer renal avanzado, gracias en gran parte a la investigación realizada en el gen VHL: bevacizumab (*Avastín®*), sunitinib (*Sutent®*), sorafenib (*Nexavar®*), everolimus (*Afinitor®*), temsirolimus (*Torisel®*) y pazopanib (*Voltrient®*). Se han realizado algunos ensayos clínicos de estos fármacos en pacientes VHL. Hasta ahora, los tumores renales y pancreáticos muestran respuesta limitada, y los tumores del SNC todavía no han mostrado respuesta.

INVESTIGACIÓN

Modelos animales VHL

Diferentes grupos de investigadores han desarrollado modelos animales de la enfermedad VHL, los cuales son fundamentales para estudiar la pVHL *in vivo*, y necesarios para probar fármacos. Así, se han desarrollado modelos de mosca *Drosophila*,⁹⁵ pez cebra,^{96,97} *C.elegans*, y diferentes modelos de ratón. Aunque los modelos murinos han sido muy útiles para comprender la función de la proteína VHL en los procesos fisiológicos, la enfermedad se ha conseguido reproducir sólo de forma limitada, especialmente en lo que respecta a hemangioblastomas y CRCC,⁹⁶ lo que supone un desafío abierto, teniendo en cuenta la prevalencia de estas afectaciones en la enfermedad y su gravedad, que condicionan en gran medida la esperanza de vida de los pacientes.

Tabla 3. Modelos animales disponibles para la enfermedad VHL. Adaptada de Park.⁹⁸

Animal	Órgano	Fenotipo	Referencia	
Ratón	Ojo	Neovascularización y hemangioblastoma capilar	Wang ⁹⁹	2018
Pez cebra	Ojo	Neovascularización, no hemangioblastoma	van Rooijen ⁹⁶	2010
Ratón	Páncreas	Quistes, microcistoadenomas	Shen	2009
Ratón	Tracto genitourinario	Quistes	Frew	2008
Ratón	Riñón	Quistes, no CRCC	Rankin	2006
Ratón	Hígado	Hemangioblastomas cavernosos	Ma	2003
			Haase	2001

Los ratones *knockout* con mutación bialélica, homocigotos, (VHL $-/-$) mueren intraútero durante la embriogénesis, debido a una vasculogénesis placentaria insuficiente que provoca lesiones hemorrágicas en los embriones.¹⁰⁰ Esto parece indicar que la expresión VHL es crítica para el desarrollo vascular extraembrionario normal.

Gnarra *et al*, observaron en 1997 que los ratones heterocigotos (VHL $+/-$) podían vivir más de 15 meses sin evidencia significativa de enfermedad, lo que significaría que la haploinsuficiencia no es crítica para la función VHL normal.¹⁰⁰ Estos ratones tienen una esperanza de vida normal, pero desarrollan múltiples tumores vasculares hepáticos que se asemejan mucho a los hemangioblastomas y sobreexpresan genes de HIF.¹⁰ Estos podrían utilizarse como modelos animales para probar el efecto de fármacos.

Tang *et al*¹⁰¹ observaron que los ratones con delección del gen en las células endoteliales, morían debido a lesiones hemorrágicas y anomalías vasculares placentarias, de forma similar y en la misma etapa de desarrollo que los *knockouts* homocigotos (VHL-/-). Los defectos en la vascularización embrionaria se correlacionaban con alteraciones de la *fibronectina vascular*, afectando a la estructura de la matriz extracelular. Parece por tanto que la regulación del depósito de fibronectina por pVHL juega un papel esencial en el desarrollo del endotelio embrionario, completamente independiente de la función de regulación de HIF-1.

*En base a estos estudios, habría que investigar si en el caso de los humanos, los posibles abortos espontáneos de parejas portadoras de la mutación, podrían deberse a esta doble mutación. Hasta la fecha, sólo se conoce una persona viva portadora de la doble mutación VHL.*²⁰

El modelo de ratón VHL ha servido para determinar el papel crítico de pVHL en el desarrollo de los tumores renales VHL, de forma que la restitución de la función VHL suprime la tumorigénesis en ratones nude.¹⁰² Sin embargo, pese a los esfuerzos realizados hasta el momento aún no se ha conseguido un modelo adecuado para estudiar los hemangioblastomas del SNC.⁹⁸ Una posibilidad sería la delección selectiva de genes una vez que el ratón alcanza la madurez, como demostraron Sauer y Henderson mediante el uso de la proteína Cre aislada de bacteriófagos.¹⁰³ Tampoco se han conseguido reproducir otras manifestaciones de la enfermedad, como el tumor de saco endolinfático y el feocromocitoma.⁹⁸

Proyecto de obtención de un modelo de ratón para SNC

En **2013** la Alianza VHL financió un trabajo de investigación que tenía como objetivo la creación de un modelo de ratón con afectación del sistema nervioso central, desarrollado por los Dres. Vortmeyer (Universidad de Yale, Estados Unidos) y Kalamarides (INSERM, Francia).

En una primera aproximación se inyectó un adenovirus portador de la recombinasa Cre en el líquido cefalorraquídeo de ratones Vhl^{flox/flox} recién nacidos, para inactivar Vhl en la superficie de todo el sistema nervioso central. El informe de los investigadores¹⁰⁴ recogía que aunque el examen histológico del cerebro y de la médula espinal revelaron resultados prometedores, éstos no fueron definitivos. Los hallazgos incluyeron hiper celularidad intrarradicular, neoplasia leptomeníngea, hematopoyesis extramedular e inmadurez cortical cerebelosa y fueron consistentes con la inactivación

VHL, pero no específicos. No se pudieron realizar estudios inmunohistoquímicos y moleculares adicionales debido al diminuto tamaño de las lesiones.

Por ello, iniciaron una segunda fase, en la cual los experimentos se repitieron con dos modificaciones: por un lado, se optimizó la extracción histológica para permitir la máxima visualización y calidad de preservación de las estructuras de tejido de interés. Por otro lado, los ratones se sacrificaron muy tarde (al menos 9 meses después del nacimiento), para permitir que el desarrollo potencial del tumor evolucionara a niveles que pudieran reconocerse histológicamente. Se realizaron numerosas secciones de tejido para maximizar la eficiencia del muestreo y minimizar la posibilidad de perder patología relevante. El análisis histológico confirmó todos los hallazgos clave encontrados en la primera aproximación. Además, el último conjunto de muestras obtenido, reveló evidencia definitiva de patología neoplásica, que los investigadores dijeron que sólo puede explicarse por la deficiencia de VHL inducida experimentalmente. Los autores concluyeron su informe explicando que el principal obstáculo que impidió la implementación práctica del modelo fue la escasez de lesiones patológicas, aunque plantearon un desarrollo futuro de nuevas aproximaciones para mejorar los resultados obtenidos.

También intentaron generar tumores del sistema nervioso en un ratón Mx1-Cre;VHL_{flox/flox}. Para ello, los ratones homocigotos Mx1-Cre fueron cruzados con ratones Vhl_{flox/flox}. Los Mx1-Cre^{+/-};Vhl_{flox/+} resultantes fueron cruzados con Vhl_{flox/flox} por el grupo de Kalamarides para generar el 25% de Mx1-Cre;Vhl_{flox/flox}. El objetivo principal de este proyecto era inducir actividad proliferativa en células hemangioblásticas para inducir tumores hemangioblásticos deficientes en VHL en la médula espinal y el cerebelo, para un análisis posterior de los mecanismos moleculares y la susceptibilidad a los medicamentos. Sin embargo, los ratones Mx1-Cre;Vhl_{flox/flox} desarrollaron enfermedad temprana y muerte. Los tejidos de autopsia revelaron abundantes hemorragias en el SNC, sin que se llegara a identificar el origen de las hemorragias. Los resultados de estos experimentos no llegaron a publicarse, siendo estos datos procedentes del informe final de la investigación desarrollada.

Investigación en España

Hace algunos años comencé a buscar en la bibliografía un medicamento que pudiera servir como tratamiento farmacológico de la enfermedad. Dado que los tumores tienen un importante componente vascular, centré la búsqueda en un medicamento con efecto antiangiogénico ya comercializado, dado que el reposicionamiento terapéutico

ahorra años de desarrollo y mucho dinero. Así, en **2013** la Alianza VHL financió un proyecto de *investigación preclínica* en la Unidad CIBER 707 (U707) del Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), Madrid, bajo la dirección de la Dra. Luisa M^a Botella Cubells, consistente en tratar con propranolol varios cultivos celulares de hemangioblastomas obtenidos a partir de excedentes de cirugías. Participaron investigadores básicos y clínicos. Los resultados fueron un éxito,¹⁰⁵ por lo que se decidió avanzar hacia la experimentación clínica.

En base a estas primeras investigaciones, en **2014** la Alianza VHL promovió la realización del ensayo clínico nº de EudraCT: 2014-003671-30 en el Servicio de Oftalmología del Hospital Virgen de la Salud (Servicio de Salud de Castilla-La Mancha), en colaboración con la U707 de CIBERER. Se incluyeron 7 pacientes procedentes de diferentes regiones de España, afectados de hemangioblastomas (yuxtapapilares, o periféricos para los que el paciente rechazaba el tratamiento estándar), a los que se les administró propranolol a dosis de 120 mg/día. Durante la evaluación trimestral, además de la valoración oftalmológica se realizaron extracciones de sangre a todos los pacientes, para la monitorización de dos posibles biomarcadores: el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y miRNA 210 (micro RNA). El EC finalizó en **2016**, con los siguientes resultados:¹⁰⁶ todos los tumores permanecieron estables y no aparecieron tumores nuevos. Hubo reabsorción significativa de exudado en los dos pacientes que tenían exudación. No hubo efectos adversos importantes al tratamiento salvo hipotensión leve en uno de los pacientes, y los niveles de VEGF y miRNA 210 descendieron en todos los casos desde el primer mes de tratamiento, lo que los posiciona para su consideración como posibles biomarcadores de actividad de la enfermedad.

En enero de **2017** la Agencia Europea del Medicamento (EMA) otorgó la designación de medicamento huérfano a *propranolol*, como *primer medicamento huérfano a nivel internacional para la enfermedad de von Hippel-Lindau*¹⁰⁷ en base a estas investigaciones, de las cuales la asociación española de pacientes (Alianza VHL, www.alianzavhl.org) es promotor y cotitular de la explotación de los resultados de la investigación desarrollada en el CSIC.

Posteriormente se iniciaron experimentos con otro betabloqueante que se utilizó como comparador en ensayos clínicos en los años 90. Se trata del compuesto ICI 118551, que se abandonó en aquella época por no tener efecto sobre la tensión arterial ni la frecuencia cardiaca, lo que le descartaba como candidato para su desarrollo y posterior comercialización. Los resultados han propiciado la patente **PCT/EP2018/071220, Compounds for treating von Hippel-Lindau disease.**¹⁰⁸

A raíz de estas investigaciones, otro laboratorio del Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC) probó el ICI 118551 en sus experimentos en relación al glioblastoma multiforme, obteniendo buenos resultados y presentándose posteriormente la solicitud de patente **PCT/EP2019/084822, *Treatment and prevention of glioblastoma.***¹⁰⁹

Medicamentos de terapia avanzada

Se considera «medicamento de terapia avanzada» cualquiera de los siguientes medicamentos para uso humano:¹¹⁰

- Un medicamento de terapia génica, tal como se define en el anexo I, parte IV, de la Directiva 2001/83/CE
- Un medicamento de terapia celular somática, tal como se define en el anexo I, parte IV, de la Directiva 2001/83/CE
- Un producto de ingeniería tisular, tal como se define en la letra b)

La esperanza de los pacientes es que algún día sea posible reemplazar la proteína VHL disfuncional. Algunos métodos experimentales en el ámbito de la terapia génica y células madre pueden permitir la sustitución o corrección de la información genética, pero estas tecnologías todavía han de perfeccionarse. El éxito en el uso de estas tecnologías para cualquier enfermedad puede proporcionar una alternativa interesante también para VHL, pero la dificultad que entraña en este caso concreto es que la mutación a corregir se encuentra en todas las células del individuo, y hasta el momento las terapias que se han conseguido desarrollar con éxito son para aquellas patologías que afectan a un solo sistema u órgano.

Actualmente hay en España dos proyectos en marcha financiados por la Alianza VHL e iniciados en 2021, dirigidos a intentar corregir la mutación:

- ***Hemangioblastomas de SNC: Edición génica para la creación de un modelo murino.***

Investigadores principales: Dres. Luisa M^a Botella (Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigaciones Biológicas CSIC, Madrid) y Ángel Cuesta (Departamento de Bioquímica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid).

- ***Síndrome VHL (von Hippel-Lindau): La terapia génica como opción profiláctica frente al cáncer.***

Equipo integrado por investigadoras de 4 grupos de investigación: Terapia génica de enfermedades hepáticas, Fisiopatología de la hipoxia, Enfermedades Hepáticas y Lípidos e Hígado - Dras. Gloria González-Asequinolaza, Edurne Berra, M^a Jesús Perugorria y Patricia Aspichueta, que pertenecen a cuatro instituciones, CIMA, CIC bioGUNE, IIS Biodonostia y UPV/EHU, respectivamente.

Estructuración del trabajo de investigación: hipótesis y metodología

Hipótesis

Este trabajo de tesis doctoral está formado por tres estudios centrados en diferentes aspectos de la enfermedad VHL: los **tumores neuroendocrinos pancreáticos**, los **hemangioblastomas** y los **aspectos sociosanitarios** de la enfermedad, cada uno con su propia hipótesis de trabajo:

- Los **tumores neuroendocrinos pancreáticos** constituyen una de las entidades más desconocidas y de las que existe menos experiencia en la enfermedad VHL, debido en parte a la baja frecuencia con la que se presentan (entre el 8 y el 17% de los portadores de la mutación). La hipótesis que planteo es que existe un paralelismo entre las características de esta afectación en nuestra población de afectados y las publicadas a nivel internacional.
- Los **hemangioblastomas del sistema nervioso central y de la retina** tienen en su estructura un componente vascular importante. La hipótesis planteada es que propranolol, un betabloqueante que se ha mostrado altamente eficaz en el tratamiento del hemangioma infantil no sólo para controlar su crecimiento sino para producir su involución, podría, de forma similar, ser útil para frenar el crecimiento de estos tumores.
- La **atención sociosanitaria** a las enfermedades raras en nuestro país sigue sufriendo grandes deficiencias, y la enfermedad VHL no es una excepción. Nuestra hipótesis de trabajo es que existe un retraso diagnóstico importante tanto del caso índice como del resto de la familia, y el seguimiento clínico no se realiza de forma reglada.

Metodología

Estudio de los tumores neuroendocrinos pancreáticos

Se trata de un estudio observacional, descriptivo y transversal de una serie de **14 pacientes VHL** diagnosticados de tumores neuroendocrinos pancreáticos.

Se llevó a cabo mediante la revisión de los informes clínicos facilitados por los pacientes que accedieron a participar, desde el momento del diagnóstico de un tumor neuroendocrino pancreático hasta el último informe emitido a fecha del mes de junio de 2018. En aquellos casos en los que se necesitó ampliar información, se realizó entrevista telefónica.

Consta de los siguientes apartados:

- Introducción
- Justificación y objetivos
- Material y métodos
- Resultados
- Discusión

Los datos obtenidos se aportaron al European-American-Asian-VHL-PanNET-Registry, registro internacional de tumores neuroendocrinos pancreáticos promovido por la Universidad de Freiburg (Alemania) y liderado por el Dr. Hartmut Neumann. Dicho registro ha servido para revisar las recomendaciones de la actitud terapéutica a seguir en pacientes VHL con este tipo de tumores. El trabajo final fue publicado bajo el título *Preventive medicine of von Hippel-Lindau disease-associated pancreatic neuroendocrine tumors*.⁷²

Estudio del efecto del propranolol en los hemangioblastomas VHL

La investigación desarrollada en relación al posible uso de propranolol como tratamiento farmacológico para los hemangioblastomas, se inició en el año 2013 con los experimentos *in vitro*, culminando en el **ensayo clínico abierto, de un solo brazo de tratamiento**, para hemangioblastomas yuxtapapilares de retina (nº de EudraCT: 2014-003671-30). Consta por tanto de dos partes, preclínica y clínica:

- **Estudio *in vitro*** en cultivos de **hemangioblastomas del sistema nervioso central** de pacientes VHL. Se trata de un trabajo experimental, para probar propranolol en los cultivos obtenidos a partir de excedentes de cirugía (hemangioblastomas del SNC).
- **Ensayo clínico fase 3, abierto y con un solo brazo de tratamiento**, sobre el **efecto terapéutico de propranolol en una serie de pacientes con enfermedad de von Hippel-Lindau y hemangioblastomas de retina a corto, medio y largo plazo**. Participaron **7 pacientes VHL** con hemangioblastomas de retina.

Dada la rareza de la enfermedad, y dentro de ésta, la de los hemangioblastomas yuxtapapilares, las autoridades sanitarias y los comités de ética de la investigación admiten otros diseños distintos al clásico ensayo clínico en el que se compara un tratamiento frente a placebo (que sería la única opción disponible en los casos en

que no hay tratamiento alternativo), especialmente cuando el objeto de la investigación es una enfermedad grave.

Como explico más adelante, mi contribución ha consistido en plantear la idea original, proponer los respectivos estudios a los grupos de investigación así como a la Alianza VHL para conseguir la financiación de la asociación, preparar y realizar los trámites administrativos encaminados a la aprobación de los Comités de Ética (**Anexos I y II**), poner en marcha el ensayo clínico con pacientes y participar en la elaboración de las publicaciones científicas.

Aunque la idea inicial era realizar el estudio con los hemangioblastomas del SNC, éticamente no se sostenía tratar un hemangioblastoma con propranolol cuando era claramente necesaria una intervención quirúrgica, por lo que tuve que replantear el estudio para buscar una situación en la que estuviera justificada la no intervención quirúrgica aun en presencia de crecimiento tumoral, y esa situación tan particular nos la ofrecía el hemangioblastoma yuxtapapilar, cuyo tratamiento no está indicado por el riesgo de producir una pérdida irreversible de visión. Este fue un giro inesperado pero necesario para poder seguir adelante con la investigación en pacientes, por lo que la valoración de los hemangioblastomas del SNC pasó a ser un objetivo secundario de dicho ensayo clínico.

Estudio de la situación sociosanitaria de los pacientes VHL en España es un estudio observacional, descriptivo, transversal, realizado mediante una amplia encuesta de 49 preguntas (**Anexo III**), que se podía cumplimentar online o mediante entrevista telefónica (según la preferencia del paciente), y que trataba de explorar tanto aspectos relacionados de forma directa con la atención sanitaria que recibían los pacientes, como el grado de incapacidad laboral y la discapacidad reconocida. Participaron **126 pacientes**. La encuesta se llevó a cabo en el primer semestre de 2018.

En el **Anexo IV** se recogen las publicaciones derivadas de los dos primeros estudios. Los datos del estudio de la situación sociosanitaria serán revisados y actualizados para una próxima publicación.

Estudio de los tumores neuroendocrinos pancreáticos

Introducción

La afectación pancreática en la enfermedad de von Hippel-Lindau es considerada una de las afectaciones menos sintomáticas. Se produce con una frecuencia de hasta en dos tercios de los pacientes, y las lesiones pueden ser de tres tipos:¹¹¹

- Quistes
- Adenomas serosos microquísticos o cistoadenomas serosos
- Tumores de células de los islotes pancreáticos o tumores neuroendocrinos pancreáticos (TNEP)

En el diagnóstico inicial, hasta en un 12% de los pacientes son la única manifestación abdominal de la enfermedad,^{111,112} precediendo en años a otras manifestaciones y facilitando el diagnóstico temprano de la enfermedad en aquellos casos en que hay historia familiar.¹¹³

La mayoría de las lesiones son quistes o cistoadenomas serosos, únicos o múltiples, que se observan en alrededor de un 50% de los portadores de la mutación.^{38,111} No tienen potencial maligno y rara vez requieren intervención. Aunque es excepcional, tanto los quistes como los cistoadenomas múltiples pueden causar deficiencia exocrina o endocrina por reemplazo del parénquima pancreático.^{8,14,113-115} Dependiendo de su tamaño y localización también pueden producir obstrucción de la salida de las secreciones pancreáticas o hepáticas. Si obstruyen el conducto biliar, puede aparecer ictericia, dolor, inflamación o infección. El dolor puede ser un signo de pancreatitis.

Los quistes múltiples coalescentes puede confundirse con cistoadenomas, aunque esto no modifica la estrategia de tratamiento.¹¹¹ Se ha descrito una asociación entre el grupo sanguíneo 0 y las manifestaciones pancreáticas en VHL, especialmente en el caso de los tumores neuroendocrinos.¹¹⁶ En algunos casos, la distensión, el dolor abdominal y el malestar han sido las únicas manifestaciones de una enfermedad de von Hippel-Lindau aún no diagnosticada,¹¹² por lo que ante una sintomatología similar, con imágenes radiológicas sugestivas de quistes pancreáticos múltiples, debe descartarse la enfermedad VHL.

Quistes pancreáticos simples

Aparecen en alrededor del 75% de los pacientes, con amplias variaciones en número y tamaño.^{8,40} Dada la rareza de los quistes pancreáticos en la población general, su presencia puede contribuir a sospechar el estado de portador de la mutación VHL.²

La edad media de presentación de los quistes es de 37 años.^{38,72} Habitualmente son múltiples (84%) y asintomáticos (94%),⁸ y no precisan tratamiento. En algunos casos, los quistes de gran tamaño pueden causar compresión gástrica y malestar.

Como se ha comentado anteriormente, pueden aparecer tantos quistes que se acabe afectando la funcionalidad del órgano, ocasionando esteatorrea y diarrea y precisándose tratamiento enzimático sustitutivo. También pueden condicionar la aparición de diabetes, para cuyo control puede ser necesario el uso de insulina.

Cistoadenomas serosos

Son tumores benignos que, al igual que los quistes simples, no suelen tener implicaciones clínicas salvo cuando son grandes, que pueden producir dolor abdominal e ictericia colestásica.⁴⁰ En ocasiones es difícil distinguir un cistoadenoma multiquístico benigno de un tumor neuroendocrino pancreático.³⁸

El manejo de los cistoadenomas depende de la edad del paciente, las comorbilidades, el tamaño, la localización y la presencia de síntomas.¹¹⁷ El drenaje percutáneo o la implantación endoscópica de un stent biliar pueden estar indicados en estos casos, pero siempre teniendo en cuenta que estas lesiones no requieren resección quirúrgica.⁷⁰

Tumores neuroendocrinos pancreáticos

Los tumores neuroendocrinos pancreáticos, también conocidos por el acrónimo TNEP, son un grupo heterogéneo de tumores raros que pueden presentarse de forma esporádica o en el contexto de una enfermedad genética, como la neoplasia endocrina múltiple tipo 1, la enfermedad de von Hippel-Lindau o la neurofibromatosis tipo I.^{118,119} Tanto en VHL como en neurofibromatosis se pueden presentar en la edad infantil, por lo que la presencia de este tumor en la infancia debe hacer sospechar una predisposición genética que hay que descartar.¹²⁰ Pueden ser funcionantes, con exceso de producción hormonal y por tanto sintomáticos,¹²¹ o no funcionantes. En conjunto manifiestan toda una variedad de características histológicas.

Los tumores neuroendocrinos pancreáticos que aparecen en VHL son las lesiones pancreáticas sólidas características de esta enfermedad. Son clínicamente distintos de los que aparecen de forma esporádica en la población general, pues estos pacientes son más jóvenes, los tumores son más frecuentemente multifocales, se diagnostican en fases más incipientes y tienen una supervivencia mayor que los que aparecen en la población general, siendo con mucha menor frecuencia de alto grado de malignidad o

metastásicos.^{122,123} Todas estas diferencias condicionarán también el diferente enfoque terapéutico.

Se presentan en alrededor de un 8-17% de los pacientes VHL,^{38,40} a una edad media de unos 35-38 años,^{40,71,72,111,124} y con preferencia por el sexo femenino.¹²² Son múltiples hasta en el 53% de los casos y con localización preferente en la cabeza del páncreas.^{71,111,125} Morfológicamente se caracterizan por tener una estructura sólida, trabecular y/o glandular, y prominentes bandas de colágeno estromal. Inmunohistoquímicamente son positivos para cromogranina y/o sinaptofisina.¹²⁴

Histológicamente se originan a partir de las células de los islotes pancreáticos, habitualmente están bien circunscritos y encapsulados,⁸² y no suelen comprimir el conducto pancreático a no ser que su tamaño supere los 3 cm.¹¹⁷ Tienen un patrón de crecimiento no lineal, el cual incluye periodos de quiescencia y otros en los que aparentemente decrecen;^{111,118} estos patrones de crecimiento son variables y no parecen estar asociados con el grado tumoral o la malignidad.¹¹⁸

Clínicamente, los TNEP se consideran funcionantes si hay síntomas de hipersecreción hormonal, y no funcionantes en caso contrario. En la enfermedad VHL los TNEP son casi exclusivamente no funcionantes,¹²² con niveles normales de insulina, glucagón, polipéptido pancreático y péptido intestinal vasoactivo,³² por lo que no suelen aparecer síntomas relacionados con hipersecreción hormonal.^{111,126} Al ser asintomáticos, lo habitual es que sean un hallazgo casual en las pruebas radiológicas de seguimiento de la enfermedad. Los casos sintomáticos debutan con síntomas inespecíficos, como dolor abdominal, náuseas, diarrea.¹²⁴ El dolor puede deberse a invasión tumoral local, obstrucción intestinal o isquemia mesentérica.¹²⁷

El diagnóstico diferencial se realiza con el adenoma microquístico del páncreas y la metástasis de carcinoma renal. Las áreas sólidas del adenoma microquístico pueden ser difíciles de diferenciar de un TNEP de células claras.¹²⁴

Como se ha comentado anteriormente, los TNEP asociados a VHL son menos agresivos que los esporádicos,¹¹¹ suelen estar bien circunscritos y sin invasión de tejidos adyacentes,¹²⁴ el pronóstico a largo plazo es mejor,¹²⁸ se presentan a edades más tempranas (56 años es la media en el caso de los esporádicos), con mayor frecuencia son múltiples, las tasas de malignización son menores (26% frente al 74% de los esporádicos)¹¹¹ y metastatizan menos.¹²² También se ha descrito una mayor supervivencia libre de progresión tras la resección tumoral en el caso de los TNEP en VHL frente a los esporádicos.^{123,128}

La edad más temprana a la que se han descrito en VHL ha sido los 10 años de edad, y el paciente más joven con TNEP metastásico tenía 11 años.¹²²

Aunque suponen una causa infrecuente de muerte, la capacidad metastásica⁸ se ha estimado en alrededor de un 8% en largas series de pacientes.³² En estos casos, el tumor primario medía alrededor de 5 cm,¹²⁴ siendo el hígado y los ganglios linfáticos las localizaciones preferentes de las metástasis.^{32,117}

Los dos principales trabajos publicados hasta la fecha con grandes series de pacientes fueron realizados por Blansfield *et al* (2007)⁷¹ y Krauss *et al* (2018).⁷² El primero recogió datos de 108 pacientes, con una media de edad de 38 años. Gracias a este trabajo se establecieron los primeros criterios a seguir para clasificar los TNEP según su riesgo potencial de malignización. La serie de Krauss incluyó 273 pacientes, y encontró una media de edad al diagnóstico de TNEP de 37,5 años.

Diagnóstico

En el caso de los TNEP que aparecen en la población general, el diagnóstico se basa en **la clínica, pruebas radiológicas convencionales, análisis de marcadores bioquímicos y tisulares, examen histológico, endoscopia e imágenes funcionales que incluyen PET/TAC con 68Gallium-DOTATATE y PET/TAC con 18F-FDG.**^{129,130} Contrastando con esto, el diagnóstico inicial de los TNEP asociados a la enfermedad VHL suele realizarse de forma accidental, durante de las pruebas de seguimiento de la enfermedad. Hay que tener en cuenta que en la población general se buscan los tumores cuando aparecen síntomas y no antes, mientras que en VHL se buscan por protocolo de seguimiento, de forma periódica. Por ello, es más probable detectar tumores asintomáticos en VHL que en la población general, así como detectarlos cuando son de pequeño tamaño. Recomendaciones recientes establecen la conveniencia de realizar screening de estos tumores en VHL a partir de los 12 años de edad.¹¹¹

• Diagnóstico por imagen

Para decidir el abordaje terapéutico, es necesario determinar la localización y extensión del tumor. Las pruebas utilizadas habitualmente son:¹²⁹

- Resonancia magnética
- Tomografía computarizada (TAC)
- Ecografía abdominal
- Angiografía selectiva

- Medicina nuclear
- Ecografía endoscópica
- Métodos intraoperatorios

El TAC y la resonancia magnética nuclear, realizadas ambas con contraste, son las pruebas de elección para el diagnóstico por imagen.⁴⁰ El TAC con contraste intravenoso es en muchos centros el estudio radiológico inicial para el diagnóstico de los TNEP. Una secuencia completa consiste en imágenes en multifase, con imágenes precontraste, y fases arterial/pancreática/venosa tras la administración de contraste.¹³¹ La sensibilidad de la prueba dependerá en gran medida del tamaño de la masa tumoral.

La ecoendoscopia es probablemente el método más sensible para detectar pequeñas lesiones pancreáticas sólidas,^{111,131} identificando lesiones de 0,5 cm de diámetro. Se utiliza en una fase posterior - junto con la gammagrafía de receptores de somatostatina - para el diagnóstico específico.⁴⁰

El PET-TAC utilizando trazadores como la ¹⁸F-FDG (fluorodeoxiglucosa), ¹⁸F-DOTA o ⁶⁸Ga-DOTATATE puede ser de ayuda al diagnóstico. Es especialmente útil en fases avanzadas del tumor, cuando se ha producido una diseminación a distancia que puede haber pasado desapercibida en el TAC o RMN. También es útil para diferenciar los adenomas serosos microquísticos sólidos de los TNEPs.¹¹¹

Dado que ninguna de las pruebas de imagen tiene una sensibilidad del 100%, se suelen utilizar varias de forma combinada, especialmente para localizar tumores pequeños.

En el estudio realizado por Weisbrod *et al*, se constató que el volumen tumoral estimado en las pruebas radiológicas según el diámetro mayor, tenía una buena correlación con la medida del tumor tras la resección quirúrgica. Asimismo, la alta densidad tumoral se correlacionaba con malignidad.¹¹⁸

• Estudio de marcadores bioquímicos

Con inmunohistoquímica los TNEP se tiñen positivamente para hormonas pancreáticas y gastrointestinales (polipéptido pancreático y somatostatina).^{38,40}

La cromogranina A es una glicoproteína soluble que se encuentra en las vesículas de las células neuroendocrinas, y está aumentada en el 60-80% de los casos de tumores gastroenteropancreáticos, por lo que se utiliza como marcador tumoral para el diagnóstico bioquímico y para el seguimiento de estos tumores en la población general.^{118,121,122} La expresión de cromogranina A no se asocia con el sexo, edad,

estado funcional o grado o tipo de tumor, y tampoco se ha encontrado asociación con el pronóstico,¹²¹ aunque sí se ha observado una correlación entre sus niveles, el volumen tumoral y la respuesta al tratamiento.^{121,129} Contrastando con esto, se ha encontrado que no es útil para evaluar los TNEP relacionados con VHL debido a que, como hemos visto anteriormente, habitualmente son no funcionantes.¹²² Cuando algún paciente VHL presente síntomas que sugieran un TNEP funcionante, deben seguirse las pautas establecidas para éstos.¹²² Además la cromogranina A puede ser secretada por otras neoplasias relacionadas con VHL, como es el caso del feocromocitoma, y los niveles elevados pueden deberse también a una función renal disminuida, como ocurre comúnmente en pacientes con CRCC múltiples.¹²²

Varios estudios han demostrado que la elevación de cromogranina A ocurre tanto en tumores funcionantes como no funcionantes,¹²¹ lo cual es especialmente útil en el diagnóstico de estos últimos. Asimismo, los pacientes con metástasis hepáticas tienen unos niveles medios de cromogranina A significativamente superiores a los de aquellos pacientes sin metástasis hepáticas.¹²¹

Weisbrod *et al* siguieron un total de 163 tumores en una cohorte de 87 pacientes VHL con lesiones pancreáticas sólidas durante 4 años, con el fin de determinar la historia natural de estos tumores.¹¹⁸ A medida que crecía el tumor, una parte creciente del volumen tumoral parecía no producir cromogranina, y plantearon la posibilidad de algún cambio que frenaba la secreción; quizás que según crece el tumor, haya un porcentaje creciente de tejido metabólicamente inactivo. Los más avanzados suelen presentarse con un efecto de masa del tumor primario o metástasis (normalmente en el hígado).¹²⁷

Otro marcador de proliferación tumoral útil para la determinación del grado tumoral y el pronóstico es el *índice proliferativo Ki67*, clasificándose estos tumores como G1 (Ki67 < 3%), G2 (Ki67 3-20%) y G3 (Ki67 > 20%).¹³⁰

Seguimiento

En el año 2007 un grupo de investigadores de los NIH (Estados Unidos) identificó tres variables importantes para decidir el momento de la cirugía:⁷¹

- 1. Mutación en el exón 3.** En los pacientes portadores de la mutación en el exón 3 del gen VHL, el TNEP puede comportarse como maligno y metastatizar incluso antes de alcanzar los 3 cm de diámetro máximo, por lo que la caracterización genética del paciente puede utilizarse como criterio de riesgo en relación con estos tumores.

2. Tiempo de duplicación tumoral (tiempo que tarda el tumor en duplicar su tamaño). Si éste es <500 días, se considera de alto riesgo.

3. Tamaño \geq 3 cm.

Como factores pronósticos se utilizan el tiempo de duplicación tumoral y la localización de la mutación.⁷¹ Los pacientes con tumores metastásicos es más probable que tengan mutaciones en el exón 3 comparados con aquellos que no tienen metástasis (80% frente al 46%),⁸ y los codones más afectados suelen ser 161-163. Asimismo, los de tamaño entre 2,8 y 3 cm tienen un mayor riesgo de metástasis.

Dado que en VHL estos tumores son no funcionantes, la decisión de resección quirúrgica debe tomarse basada en el riesgo de metástasis y de su posible impacto en la supervivencia del paciente. Si el paciente no tiene ninguno de estos factores, la probabilidad metastásica es baja y únicamente se recomienda realizar seguimiento. Para aquellos pacientes con lesiones primarias pequeñas (<3 cm), sin mutación en el exón 3 y con un tiempo de duplicación >500 días, se recomienda una actitud expectante con el fin de preservar en lo posible la función del órgano y reducir las cirugías. El algoritmo de decisión que establecieron estos investigadores para su manejo, se recoge en la siguiente tabla:

Tabla 1. Recomendaciones de tratamiento para TNEP asociados a VHL.³⁹

Criterios: tamaño >3 cm / mutación exón 3 / tiempo de duplicación tumoral <500 días			
Nº de criterios	0	1	2 ó 3
Potencial metastásico	Bajo	Moderado	Alto
Recomendación	Seguimiento clínico TAC/RMN cada 2-3 años	Seguimiento clínico TAC/RMN cada 6-12 meses	Valorar cirugía

En el año 2018 un nuevo estudio realizado por el consorcio internacional del European-American-Asian-VHL-PanNET-Registry encontró tumores metastásicos a partir de 2,8 cm,⁷² determinando de este modo un nuevo límite de tamaño tumoral para establecer el momento de la cirugía.

Tratamiento

La cirugía con linfadenectomía regional mediante técnica mínimamente invasiva representa el *gold standard* del tratamiento para tumores localizados.¹³⁰

Las opciones quirúrgicas incluyen **enucleación y resección**, bien con **abordaje laparoscópico o abierto**, dependiendo de las características del tumor. Los

resultados a largo plazo de la **enucleación** son similares a los de la resección, por lo que siempre debe intentarse la enucleación cuando no esté comprometido el conducto pancreático principal y el riesgo de enfermedad metastásica sea bajo.¹²²

La **resección** será preferible ante la presencia de determinados criterios: diámetro > 3 cm, tiempo de duplicación del diámetro del tumor (500 días), mutación en el exón 3. En estos casos se utiliza la pancreatoduodenectomía con preservación pilórica (procedimiento de Whipple), o pancreatectomía parcial o total, con terapia sustitutiva. Para evitar la invasión locorregional y la diseminación metastásica, se ha venido aconsejando realizarla cuando el tumor es mayor de 3 cm de diámetro en cuerpo o cola pancreáticos, o mayor de 2 cm en la cabeza del páncreas,⁴⁰ aunque según hemos visto, cabe reconsiderar el tamaño límite para programar la cirugía cuando el tumor alcanza 2,8 cm en vez de 3 cm.⁷² En cuanto al abordaje, los tumores de cuerpo y cola pueden ser extirpados mediante laparoscopia.

Con el fin de conservar el parénquima, algunos autores han recomendado que en el momento de la resección de las lesiones de alto riesgo no se toquen otras lesiones coexistentes menores de 1,5 cm de tamaño. Esta actitud no ha conllevado cambios significativos en la supervivencia de los pacientes.¹²² Así, los tumores pequeños, no funcionantes descubiertos de forma casual y sin características de agresividad, únicamente se vigilarán periódicamente para ver evolución.¹³⁰

La localización más frecuente de las metástasis es el hígado, y se ha conseguido control a largo plazo mediante la combinación de cirugía ablativa y perfusión de quimioterapia.⁷² Los pacientes que no cumplen criterios de resección, deben seguir controles con intervalos de al menos cada 12 meses.

En pacientes con tumores no resecables, el control de la progresión tumoral es necesario para mejorar los síntomas y reducir la masa tumoral. El **tratamiento farmacológico** incluye quimioterapia, análogos de la somatostatina, quimioembolización hepática o termoablación, terapias dirigidas - como la terapia radionuclídica de receptores peptídicos,¹³² y recientemente, belzutifan.

En agosto de 2021 la FDA autorizó el uso de belzutifan, un inhibidor del factor inducible por hipoxia (HIF), para la enfermedad VHL, y una de las indicaciones son los tumores neuroendocrinos pancreáticos. Para conceder esta autorización, los datos de eficacia del ensayo pivotal proceden de 12 pacientes con TNEP tratados con este medicamento, de los cuales 2 presentaron respuesta completa y 8 respuesta parcial. De estos 10 pacientes, sólo 5 mantuvieron respuesta tras un año de tratamiento.⁹¹

Sunitinib (inhibidor de tirosín-quinasa) y everolimus (inhibidor de mTOR) han demostrado su eficacia aumentando la supervivencia libre de progresión, aunque siempre se ha de tener en cuenta la potencial toxicidad y el deterioro de la calidad de vida cuando los pacientes han de recibir estos tratamientos durante largos periodos de tiempo.

Recomendaciones específicas para el seguimiento de los TNEP en VHL¹²²

Existen guías integrales para diagnóstico, seguimiento y tratamiento de pacientes con tumores neuroendocrinos pancreáticos. Sin embargo, debido a las características particulares de los TNEP en VHL, y teniendo en cuenta que se pueden desarrollar paralelamente tumores múltiples en otros órganos, entre 2018 y 2020 la VHL Family Alliance reunió a varios comités de expertos a nivel internacional para revisar la literatura, recopilar experiencias y establecer una serie de recomendaciones específicas, que se detallan a continuación:

- Siempre que sea posible, los pacientes VHL deben ser seguidos en un centro con reconocida experiencia en la enfermedad. En aquellos casos en los que esto no sea posible, el paciente debe ser derivado si el tumor es > 15 mm de diámetro, si hay crecimiento tumoral o si se sospecha metástasis de TNEP.
- El inicio del screening de TNEP no debe ser posterior a los 15 años de edad.
- El screening de las manifestaciones pancreáticas debe realizarse a intervalos de 2 años, aun en ausencia de lesiones.
- Si a los 65 años de edad no se han detectado lesiones, no es necesario continuar realizando screening de manifestaciones pancreáticas.
- En relación a los **marcadores bioquímicos**, no son útiles para el screening de los TNEP relacionados con VHL.
- Las **pruebas de imagen** de elección son las mismas que se utilizan en el caso de TNEP esporádicos, siendo la primera opción la resonancia magnética con gadolinio. También pueden utilizarse las resonancias realizadas para seguimiento de otros órganos abdominales.
- En pacientes con contraindicaciones para la RMN, se debe utilizar la tomografía computarizada. Tanto en la RMN como en el TAC los TNEP se presentan como lesiones hipervasculares.

- Cabe destacar que la ecografía pancreática tiene una sensibilidad muy baja y no es útil para la detección o seguimiento de estos tumores en VHL.
- La ecoendoscopia se recomienda únicamente cuando exista contraindicación de las otras dos pruebas, o en el caso de ser necesaria biopsia de una lesión pancreática, o si existen dudas sobre las lesiones observadas en RMN/TAC.
- El PET/TC con ⁶⁸Ga-DOTATATE es una prueba con alta sensibilidad, pero debe reservarse para la estadificación de TNEP antes de una intervención planificada o para la caracterización de una masa pancreática con características radiológicas atípicas para TNEP. El PET/TAC con ¹⁸F- FDG no es útil para la caracterización de TNEP asociados a VHL o para la estratificación del riesgo.
- Hasta el momento no se ha definido la prueba de imagen funcional óptima para los pacientes con TNEP en VHL.
- Un TNEP con diámetro mayor < 1,5 cm es de bajo riesgo metastásico y progresión tumoral, y si es estable en 2 exploraciones consecutivas, se puede controlar cada 2 años. Aquellos ≥ 3 cm de diámetro, deben resecarse. Los TNEP de 2 a 3 cm de diámetro y ubicados en la cabeza del páncreas, deben igualmente ser considerados para resección quirúrgica.
- Las lesiones pancreáticas sólidas con apariencia radiológica típica de tumores neuroendocrinos no deben ser biopsiadas. Sólo se debería considerar la biopsia (y siempre y cuando el resultado pueda cambiar las decisiones sobre el manejo del tumor) en los casos siguientes: 1) masa pancreática que progresa rápidamente, 2) masa pancreática con características radiológicas que sugieren tumor exocrino (baja vascularización y sin captación en imágenes basadas en el receptor de somatostatina), y 3) sospecha de metástasis de un tumor diferente, como el carcinoma renal. En caso de que fuera necesario, se realizará biopsia aspiración con aguja fina guiada por ecoendoscopia.
- Como se ha mencionado anteriormente, y con el fin de intentar preservar el parénquima, siempre que sea posible debe preferirse la enucleación a la resección. La pancreatectomía total debe reservarse únicamente para cuando se hayan considerado todas las demás opciones, y solo después de que se haya descartado la presencia de metástasis a distancia. En el momento de la resección de una lesión de alto riesgo no se deben reseccionar lesiones adicionales coexistentes menores de 1,5 cm de diámetro.
- En aquellos pacientes con lesiones de alto riesgo que no pueden o no desean someterse a un tratamiento quirúrgico, puede utilizarse la ablación por

radiofrecuencia o inyección de etanol. Faltan datos sobre resultados en pacientes VHL, por lo que preferiblemente se utilizarán en el contexto de un ensayo clínico.¹²²

- El tratamiento sistémico para pacientes con TNEP avanzados relacionados con VHL debe seguir las pautas utilizadas para los TNEP esporádicos. En aquellos pacientes con TNEP avanzados bien diferenciados puede considerarse el tratamiento con pazopanib.
- En cuanto a los quistes:
 - Debe considerarse la cirugía en pacientes con quistes pancreáticos dolorosos o que producen obstrucción entérica/biliar.
 - También debe considerarse la cirugía en caso de quistes pancreáticos en los que no se pueda descartar lesión maligna o premaligna.
 - Cuando la indicación de intervención viene dada por obstrucción biliar/entérica y con el fin de preservar el parénquima pancreático, se preferirá bypass frente a la resección.
 - En el caso de quistes pancreáticos de malignidad incierta, cabe plantear la resección con preservación del parénquima, con linfadenectomía regional. En pacientes con quistes sintomáticos, se puede considerar el drenaje del quiste o la marsupialización.
- Dada la diferente evolución de los TNEP que aparecen en la enfermedad en comparación con los esporádicos, se requieren más datos sobre la eficacia de las diversas intervenciones en pacientes con TNEP avanzados relacionados con VHL, incluidos los inhibidores de la tirosin-quinasa, los inhibidores de mTOR y los inhibidores de HIF2, para poder evaluar su valor real en el manejo de estos tumores.
- En mujeres que planean quedarse embarazadas, se debe realizar una resonancia magnética previa al embarazo. En una mujer embarazada con TNEPs no conocidos, no se requiere la realización de imágenes de seguimiento durante la gestación.

Justificación del estudio

Los tumores neuroendocrinos pancreáticos forman parte de las manifestaciones menos conocidas y estudiadas de la enfermedad, al presentarse en menos del 20% de los pacientes VHL y ser también tumores raros en la población general. Hasta la fecha no se ha publicado ningún estudio sobre tumores neuroendocrinos pancreáticos en pacientes VHL españoles, por lo que nuestro objetivo se centra en realizar una aproximación a la realidad de este aspecto de la enfermedad en nuestro país.

Material y métodos

Para llevar a cabo este estudio, a través de la Alianza VHL se solicitó la colaboración de los afectados que hubieran sido diagnosticados de tumores neuroendocrinos pancreáticos en algún momento de su vida. A las personas que respondieron se les solicitaron los informes médicos de su historia clínica relacionados con TNEP, y el informe del estudio genético. En algunos casos fue necesario completar la información solicitando más informes, y/o mediante determinadas preguntas dirigidas.

En cuanto a los casos *de novo*, se han considerado como tales aquellos en los que se realizó estudio genético a familiares directos (padres y hermanos) con resultado negativo, así como aquellos en cuyas familias no había ningún antecedente que hiciera sospechar la enfermedad, aun cuando no hubiera sido posible realizar estudio familiar completo por fallecimiento de alguno de los progenitores.

Resultados

Aceptaron la invitación a participar 14 afectados, miembros de 12 familias españolas, lo que representa el 8% de los afectados con los que la asociación mantiene contacto. La edad media era de 45 años (rango: 18-69 años). La edad media de diagnóstico del TNEP fue de 35 años (rango: 13-56 años). En nuestra muestra había 12 mujeres y 2 varones, uno de ellos ya fallecido. En el caso de este paciente, toda la información se obtuvo de los informes médicos que él me había remitido en vida como médico asesor de la enfermedad.

En cuanto a las características genéticas, 9 pacientes presentaban mutación en el exón 3, y de ellos, 8 en el codón 161 (3) o 167 (5). Estos han sido identificados en la bibliografía como puntos calientes (*hotspot*).⁷²

Dos de los pacientes presentaban una delección completa del gen, otro dos tenían una mutación en el exón 1, y una paciente presentaba mutación en el intrón 2.

Tabla 2. Resumen de las características genéticas de los pacientes. Los pacientes **1 y 2** eran sobrina y tía, y los pacientes **13 y 14**, hermanos. En gris oscuro, se han marcado aquellas mutaciones identificadas en estudios previos como *hotspot*.

P	Edad	Sexo	Edad al diagnóstico del TNEP	Exón	Mutación c	Mutación p	T/M/D	De novo
1	27	M	23	3	c.500G>A	p.(Arg167Gln)	M	No
2	56	M	47	3	c.500G>A	p.(Arg167Gln)	M	No
3	34	M	31	1	c.194C>T	p.(Ser65Leu)	M	No
4	39	M	35	3	c.499C>T	p.(Arg167Trp)	M	Sí
5	48	M	38	Intrón 2	c.463+3A>T	c.463+3A>T	T/D	Sí
6	25	V	22	3	c.533T>C	p.(Leu178Pro)	M	No
7	58	M	56	3	c.481C>G	p.(Arg161Gly)	M	Sí
8	18	M	13	3	c.482G>A	p.(Arg161Gln)	M	Sí
9	46	M	37	Del Ex 1-3	Del Ex1-3	Del Ex1-3	D	No
10	47	M	43	1	c.227_229del	p.(Phe76del)	T	Sí
11	69	M	55	3	c.482G>A	p.(Arg161Gln)	M	No
12	38	M	31	Del Ex 1-3	Del Ex1-3	Del Ex1-3	D	No
13	62†	V	43	3	c.500G>A	p.(Arg167Gln)	M	No
14	59	M	51	3	c.500G>A	p.(Arg167Gln)	M	No

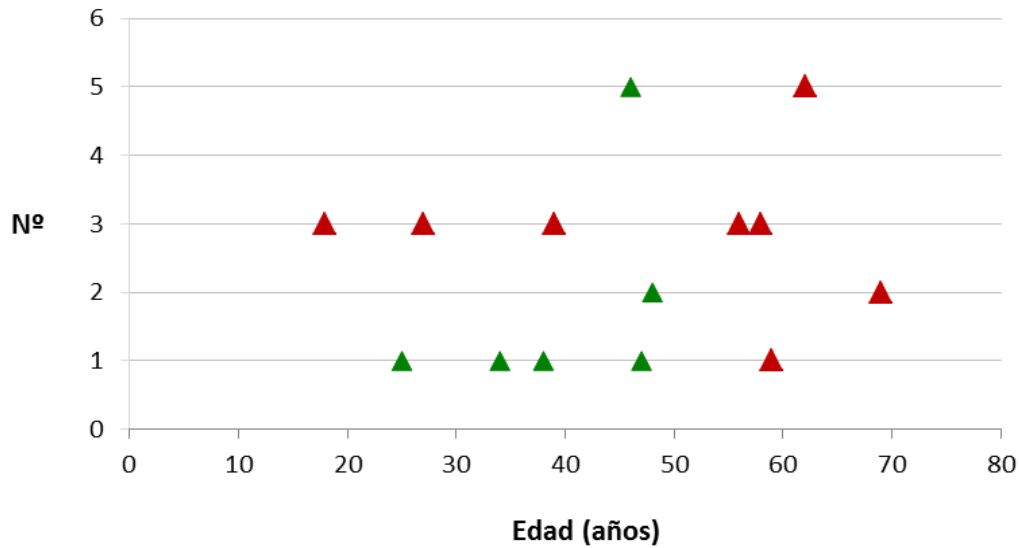
P - paciente; T/M/D- truncada/missense/delección

Todos los pacientes estaban asintomáticos en el momento del diagnóstico, salvo el **paciente 13**, que tenía ya afectación metastásica.

El diagnóstico radiológico se realizó mediante PET-TAC con Octeótride Tc99 en 6 pacientes, y Octeótride-In 111 en 5 pacientes. En tres pacientes no se había realizado ningún tipo de estudio de medicina nuclear (pacientes 3, 12 y 13). Cinco pacientes presentaban 1 único tumor neuroendocrino pancreático, mientras que los demás tenían entre 2 y 5 tumores, siendo la cifra **media de tumores** de 2,4. Parece haber una correlación positiva entre el número de tumores y la mutación en los codones 161 y 167, descritos en la literatura como *hotspot*. Estos pacientes son los que presentaban mayor número de tumores, con una media de 2,9.

En el siguiente gráfico se representa el número de tumores en relación a la edad del paciente, donde cada triángulo representa a un paciente. En rojo se han representado los pacientes cuya mutación ha sido descrita como *hotspot* para el desarrollo de TNEP, y en verde, los que no:

Gráfico 1. Número de tumores según la edad del paciente. En rojo están representados los pacientes con mutación identificada como *hotspot*.



El número de tumores no parece guardar relación directa con la edad de cada paciente.

Las **pacientes 1 y 2** (sobrina y tía) son miembros de una familia en la que son frecuentes los feocromocitomas y paragangliomas. Hasta la fecha de realización de este trabajo, había 14 personas diagnosticadas en la familia, de las cuales vivían 9. La **paciente 1** había sido intervenida de 2 feocromocitomas, mientras que la **paciente 2** había tenido un feocromocitoma y un paraganglioma.

La **paciente 3** estaba embarazada de 28 semanas.

Paciente 4. Miembro de una familia con varios afectados por vía paterna, había sido diagnosticada de un tumor de saco endolinfático, un hemangioblastoma de bulbo - e intervenida quirúrgicamente de ambos -, y un hemangioblastoma de retina, tratado mediante fotocoagulación con láser y bevacizumab. El tumor neuroendocrino pancreático fue diagnosticado durante la realización de las pruebas de seguimiento de la enfermedad.

Paciente 5. Probablemente también es un caso *de novo*, con sólo dos miembros afectados en su familia, ella y su hija. Tenía un informe genético negativo del año 2004. Se repitió el estudio genético en 2013 en el mismo centro, y se encontró la mutación en el **intrón 2**. Tiene un hemangioma hepático en segmento III. Los TNEP se detectaron de forma casual, durante la realización de las pruebas de imagen de

seguimiento de la enfermedad. Además tiene un hemangioblastoma dorsal (D9-D11) y hemangiomas hepáticos. Se hizo estudio de Ca 19,9 que fue inferior a <2,5.

Paciente 6. Miembro de una familia con varios afectados por línea paterna (abuelo y padre), tiene una hermana, también afectada. Había sido intervenido de un feocromocitoma a los 10 años de edad, por lo que se realizó estudio genético que dio como resultado el diagnóstico de enfermedad de von Hippel-Lindau. Desde entonces fue incluido en protocolo de seguimiento anual de la enfermedad.

En un informe de RMN de 2015 se describe la presencia de focos mal delimitados de realce arterial hipervasculares, menores de 8 mm, en los segmentos *hepáticos VIII y II*, de dudoso significado clínico, aunque el hallazgo no se confirmó en estudios posteriores. También se menciona la presencia de un angiomiolipoma renal. Moderada expresión de receptores de somatostatina.

Paciente 7. Los informes hacen referencia a un granuloma hepático calcificado, además de dos lesiones nodulares de 5 y 6 mm, retroperitoneales paraaórticas anteriores, compatibles con paragangliomas. Su hija ha presentado feocromocitomas y cáncer renal, por lo que el subtipo de enfermedad, considerando las manifestaciones de esta paciente y las de su hija, es el 2B.

Paciente 8. Llama la atención la temprana aparición de las manifestaciones. Había sido intervenida de feocromocitoma bilateral a la edad de 8 años, y con 13 años le diagnosticaron tres tumores pancreáticos que en principio fueron interpretados como metástasis de feocromocitomas. Se biopsiaron, dando como resultado el diagnóstico de tumores neuroendocrinos pancreáticos *con signos sugerentes de agresividad*, según se refleja en el informe de anatomía patológica. Actualmente está en tratamiento con propranolol por las varices esofágicas.

Paciente 9. El informe genético recoge la identificación de una delección de entre 51 y 89 kb que incluye totalmente los genes VHL, **C3orf10/HSPC300**, y parte del gen **FANCD2**, gen implicado en la anemia de Fanconi. En uno de los primeros informes clínicos se reflejan las dudas sobre la verdadera histología del tumor de la cabeza pancreática, y dos lesiones hepáticas hipervasculares localizadas en los *segmentos VII y VIII*. La lesión en cabeza de páncreas había sido descrita por primera vez en una RMN de 2008, como lesión sólida de 20 mm de diámetro mayor. Durante los años de seguimiento había permanecido estable en cuanto a tamaño y comportamiento estructural, habiéndose descartado en varias ocasiones origen maligno o neuroendocrino mediante gamma con octeótrido, niveles de Cromogranina A y PET-TAC. Dada la evolución y los resultados de las pruebas, las lesiones hepáticas fueron

consideradas posibles angiomas, y el tumor pancreático, lesión sólida benigna. La biopsia hepática da como resultado hiperplasia nodular focal. Finalmente se decide realizar electroporación irreversible del tumor mayor de la cabeza pancreática, y se consigue una disminución de un 30% de su tamaño original a los dos meses del tratamiento.

Paciente 10. Probablemente se trata de un caso *de novo*. El padre ya había fallecido, la madre es de edad avanzada – aunque no se le ha realizado estudio genético, y tiene 3 hermanos con estudio genético negativo. En sus informes destaca también la descripción de dos lesiones hepáticas sólidas hipervasculares en *segmentos V y VII*, que son interpretadas como angiomas.

Paciente 11. Había sido diagnosticada de enfermedad VHL por estudio genético, realizado con motivo de sus antecedentes familiares (madre fallecida de tumor cerebral a los 57 años, un hermano afectado, y dos hijos intervenidos de feocromocitomas). En 2003 se le diagnosticó un TNEP de 6 cm en cabeza pancreática y fue intervenida (55 años). El informe anatomopatológico dictaminó *neoplasia endocrina bien diferenciada de potencial maligno incierto*, debido a su tamaño e imágenes de angioinvasión. Quedó con una insuficiencia pancreática exocrina leve. En 2014 (con 66 años de edad) se le detectó un nódulo hipercaptante de 9 mm en cola pancreática, bien definido, que ha permanecido estable desde entonces, así como una ectasia del conducto de Wirsung. En 2016 se identifican 2 pequeños focos captantes milimétricos en columna cervical y dorsal, así como un tercero a nivel de L1, aunque en los estudios posteriores sólo persiste este último. Podría decirse que la forma de enfermedad que tiene esta paciente hasta el momento es bastante leve.

Paciente 12. Paciente de origen mejicano. Fue tratada con radiocirugía para hemangioblastomas bulbomedular y cerebeloso, recidivantes, de los que tuvo que ser intervenida posteriormente en 2012, a la edad de 33 años. Se solicitó estudio genético que confirmó la mutación, y se estudió a la familia, identificándose ascendencia afectada por línea materna. El tumor neuroendocrino pancreático se diagnosticó por RMN como parte de sus revisiones anuales de seguimiento de la enfermedad. Al año siguiente (2013) se detectó una lesión hepática hipervascular de 8 mm en el segmento IV, con diagnóstico probable de hiperplasia nodular focal, que no se visualiza en las resonancias posteriores.

Los dos hermanos, **pacientes 13 y 14**, eran portadores de una mutación *hotspot* en el codón 167, heredada de su madre, fallecida por diseminación metastásica de TNEP. Aun cuando se llevaban entre sí pocos años, presentaban un número muy dispar de

TNEP: 1 la mujer, y 5 el varón. El estudio genético de esta familia ha sido objeto de una publicación.¹³³

Paciente 13. Se trata del único paciente de nuestra serie con **enfermedad metastásica**, siendo el hígado el único órgano afectado. Fue intervenido por primera vez de tumores neuroendocrinos pancreáticos a los 43 años de edad, siendo diagnosticado a raíz del cuadro clínico (pérdida de peso, ictericia, prurito, coluria y acolia), y sin que entonces hubiera evidencia de metástasis.

Nueve años después, en el año 2007, se le diagnostican tres metástasis hepáticas. La primera cirugía de metástasis fue en 2008 (2 metástasis de 63x60x54 mm y 45x43x52 mm). En 2009 se sometió a una hepatectomía (lobectomía derecha). Se le diagnosticaron nuevas metástasis en 2010, y se le practicó una nueva cirugía hepática en 2011, para extirpar 7 metástasis. Los informes radiológicos describen las lesiones como hipervasculares. Además de la afectación pancreática, a lo largo de su vida presentó adenocarcinomas renales bilaterales y hemangioblastomas del SNC. Fuera del contexto de la enfermedad VHL, presentó carcinoma de próstata.

En los últimos años de su enfermedad estuvo en tratamiento con sunitinib oral, prescrito por el Dr. Pascal Hammel (Hôpital Beaujon, París). Falleció en el año 2014, a la edad de 62 años.

La **paciente 14**, hermana del anterior, debutó con un hemangioblastoma cerebeloso a los 24 años de edad. Con 29 años fue intervenida de un tumor cervical identificado como quimodectoma (paraganglioma del cuerpo carotídeo). A los 48 años fue intervenida de un hemangioblastoma en la unión bulbo-medular. Con 51 años fue sometida a una pancreatectomía cefálico-duodenal para extirpar los TNEP y a una adrenalectomía izquierda, por un feocromocitoma. A los 57 años fue ingresada por anemia y se diagnosticó hipertensión portal y varices esofágicas, comenzando tratamiento con propranolol a dosis de 20 mg/día. Es portadora de válvula de derivación ventrículo-peritoneal. En 2019 fue diagnosticada de un paraganglioma cervical contralateral.

Tabla 3. Características generales de los pacientes de nuestra serie. Se refleja la edad del diagnóstico de los tumores neuroendocrinos pancreáticos, el tiempo de seguimiento desde el diagnóstico hasta la realización del estudio, si había indicación de cirugía y si se realizó o no, el número de TNEP, y las medidas tumorales en función de la información contenida en los informes clínicos (bien el diámetro mayor o las medidas completas). Cuando sólo se registran diámetros, aparecen separados por una barra /.

P	Edad	Ubicación del centro sanitario	Seguimiento (años)	Cirugía e indicación	Nº tumores	Medidas/ Ø mayor (mm)
1	27	Andalucía	3	No	3	15x13x8
2	56	Madrid	9	No	3	9x8x7
3	34	Cataluña	2	No	1	9
4	39	Galicia	4	No *	3	7/5/6
5	48	Cataluña	10	Sí -Varios TNEPs	2	30/25
6	25	Cataluña	2	No	1	20x17x17
7	58	Euskadi	2	No	3	11/8/8
8	18	Canarias	5	Sí - Tamaño y velocidad de crecimiento	3	19/12/10
9	46	Madrid	8	Sí - Tamaño y velocidad de crecimiento	5	30x28x24
10	47	Madrid	2	No	1	19
11	69	Madrid	14	Sí - Tamaño	2	40x40x37
12	38	Madrid	6	No	1	6
13	62†	Madrid	16	Sí	5	63
14	59	C. Valenciana	8	Sí	1	26

* Cirugía rechazada por el paciente

Tabla 4. Clasificación de los pacientes según el subtipo VHL. Para realizar la clasificación se ha tenido en cuenta no sólo las manifestaciones del paciente, sino también aquellas manifestaciones conocidas de otros miembros de la familia. En el caso de la paciente 7, su hija había tenido un feocromocitoma. La paciente 11 tenía dos hijos que habían presentado feocromocitomas.

P	Edad	Mutación de novo	Exón	Tipo VHL	Manifestaciones clínicas					
					Hb SNC	Hb retina	CRCC	Feocrom.	Páncreas	
									Cistoadenoma	TNEP
1	27	No	3	2B	•	•	No	•	•	•
2	56	No	3	2B	No	No	•	•	No	•
3	34	•	1	1	•	•	•	No	•	•
4	39	No	3	1	•	•	•	No	•	•
5	48	•	<i>Intrón 2</i>	1	•	No	•	No	•	•
6	25	No	3	2A	•	•	No	•	•	•
7	58	•	3	2B	•	No	No	No	No	•
8	18	•	3	2C	No	No	No	•	No	•
9	46	No	<i>Del Ex 1-3</i>	1B	•	No	No	No	•	•
10	47	•	1	1	•	No	•	No	•	•
11	69	No	3	2A	•	No	No	No	No	•
12	38	No	<i>Del Ex 1-3</i>	*	•	No	No	No	•	•
13	62†	No	3	2B	•	No	•	No	No	•
14	59	No	3	2B	•	No	No	•	No	•

Tabla 5. Resumen de los hallazgos de los tumores neuroendocrinos pancreáticos intervenidos (TNEP). En la siguiente tabla se hace referencia únicamente a los pacientes que fueron tratados de sus TNEP. En las medidas del tumor, se refleja bien el volumen en aquellos casos en que figura en el informe clínico, bien el diámetro mayor. Perfil IH = perfil inmunohistoquímico. Índice P = de proliferación. En el caso del paciente 13, se detallan los datos de la primera cirugía hepática para extirpar las metástasis. En la columna de perfil inmunohistoquímico de la paciente 9 (electroporación), se han reflejado los datos de la analítica.

P	Edad	Edad cirugía	Técnica quirúrgica	Año de cirugía	Tumor mayor (mm)	Diagnóstico anatomopatológico	Perfil IH	Índice P (%)	Años desde cirugía
5	48	38	PT + C	2007	30x25	Displasia quística pancreática TNEP sin expresión hormonal	Cromogranina, sinaptofisina	1,2	10
					25x25			6	
8	18	13	PT + C	2012	19x12x10	TNEP bien diferenciado, grado 2. pT1(m) NO Mx	Cromogranina A, sinaptofisina y CD56	10	5
9	46	45	EI	2016	30x28x25	No consta	* Cromogranina A 160.6 ng/ml. Valores de referencia: (0.0 - 84.7)	-	1
11	69	55	PTCD + C	2003	40x40x37	TNEP bien diferenciado	Cromogranina, sinaptofisina. Escasa secreción para VIP y somatostatina	Bajo	14
13	62†	43	PTCD + C	1999	63	Neoplasia endocrina pancreática de bajo grado de malignidad (1998)	Cromogranina, sinaptofisina	-	19
		52	Lobectomía derecha	2008	45 (x2 tumores)	2 metástasis hepáticas	Cromogranina, sinaptofisina	-	10
14	59	51	PTCD + GP	2009	26	No consta	No consta	-	8

Técnica quirúrgica: PT- Pancreatectomía total; C – colecistectomía; PTCD – pancreatectomía cefálico-duodenal; GP – gastrectomía parcial; EI – electroporación irreversible.

Discusión

La participación de los pacientes ha sido muy elevada, si tenemos en cuenta que los tumores neuroendocrinos aparecen en el 8-17% de la población VHL, y que en este estudio ha colaborado el 8% del total de afectados registrados en la asociación de pacientes. Probablemente ha influido el hecho de que la asociación promueve y participa activamente en la investigación de la enfermedad desde el año 2012, y difunde los proyectos, resultados obtenidos y las publicaciones científicas de los mismos a través de sus redes sociales.

En nuestra serie hay una gran mayoría de mujeres. Al tratarse de un trabajo realizado gracias a la participación voluntaria de los pacientes, esto puede deberse a la mayor predisposición en general de las mujeres a colaborar en los estudios.

La edad media de diagnóstico de nuestra serie es de 37,5 años, bastante cercana a la descrita en la literatura en grandes series de pacientes. El porcentaje de pacientes en fase metastásica es bastante bajo (7%), frente a los datos de algunos estudios que recogen hasta un 20% de pacientes con metástasis.⁷²

El exón mutado más frecuentemente implicado en la aparición de tumores neuroendocrinos pancreáticos es el exón 3, presentándose hasta en 9 de nuestros pacientes (64%). Llama la atención que la mutación responsable de la enfermedad afecta al codón 167 en 3 de las familias (21%), mientras que afecta al 161 en otras 3 (21%). La mayoría de los pacientes de nuestra serie tienen mutaciones puntuales, mientras que tres de ellos presentan una delección (21%).

En algunos de los informes médicos aportados por los pacientes, el subtipo asignado a un paciente concreto se había realizado únicamente en base a las manifestaciones clínicas que él presentaba. Cabe decir que es complicado y arriesgado realizar la asignación del paciente a un determinado subtipo en base únicamente a las manifestaciones clínicas, y especialmente cuando se trata de un caso *de novo* y a edades tempranas, debido a la variabilidad fenotípica característica de la enfermedad. Dada la abundante bibliografía ya existente sobre las diferentes mutaciones y la mayor o menor probabilidad de desarrollar unas u otras características clínicas, algunos autores proponen la consideración conjunta del fenotipo clínico y la mutación a la hora de realizar la clasificación en un subtipo concreto de la enfermedad.²²

Para este estudio, la clasificación en un determinado subtipo se ha realizado teniendo en cuenta tanto las manifestaciones presentes en el paciente como en sus familiares.

Así, el subtipo VHL del *paciente 13* sería el 1, y el de su hermana (*paciente 14*), considerando únicamente las manifestaciones que ella presenta, sería el 2A. Considerando conjuntamente las manifestaciones los dos hermanos, el subtipo de esta familia es el 2B. El cambio de aminoácido responsable de la enfermedad en esta familia (Arg167Gln), ha sido descrito anteriormente asociado al subtipo 2 de enfermedad.²² La asociación entre las mutaciones del codón 167 y la aparición de feocromocitoma se ha constatado en afectados de diferentes países.¹³⁴

La delección completa del gen VHL junto con la del gen **C3orf10** (*también llamado HSPC300*), parece conferir una protección frente al CRCC, según el trabajo realizado por Robledo *et al*¹³⁵ y confirmado posteriormente por otros autores.²² La *paciente 9* tiene esta delección, y a la edad de 46 años aún no había tenido carcinomas renales. En su familia hay antecedentes de hemangioblastomas del SNC y de retina, por lo que el subtipo más probable es el 1B.

En el año 2018 se publicaron los datos del **European-American-Asian-VHL-PanNET-Registry**,⁷² trabajo que recogió las características de 273 pacientes con tumores neuroendocrinos, residentes en 27 países de 3 continentes, siendo la mayor cohorte estudiada hasta la fecha. Uno de los objetivos de dicho estudio fue tratar de determinar las características que podían condicionar una peor evolución de los tumores, y así establecer unos criterios de seguimiento e intervención precoz. Los datos de nuestra serie se incluyeron en dicho registro, por lo que podemos establecer una comparativa entre los resultados globales y los propios de los pacientes españoles.

Del total de pacientes, en la serie española el 14% tenían TNEP, frente al 11% del registro internacional. Sorprende ver la coincidencia exacta de la edad media de diagnóstico de los tumores neuroendocrinos entre los dos grupos de pacientes (35 años). En cuanto al sexo, el 63% eran mujeres, frente al 86% de la serie española.

En nuestra serie sólo hay un paciente con un *tumor metastásico*, lo que representa el 7%, frente al 20% (55 pacientes) del PanNET-Registry. Esto podría ser consecuencia de la diferente aplicación del protocolo de seguimiento VHL en los diferentes países, y la mayor adherencia al mismo por parte de los especialistas españoles. Al ser tumores de evolución lenta, el seguimiento protocolizado permite una detección precoz y una estimación óptima del momento de la intervención.

El *tamaño medio* de los tumores no metastásicos del PanNET-Registry fue de 20 mm, frente a los 17 mm de nuestra serie. En cuanto al *número de tumores*, el 39% (107 pacientes) presentaba tumores múltiples, frente al 64% (9 pacientes) de los españoles.

Del grupo internacional, 117 pacientes habían sido intervenidos quirúrgicamente, lo que representaría un 42,85 %, similar al porcentaje intervenido en nuestra serie (6 pacientes, 42,9%).

Se realizó pancreatectomía total en el 15,4% de los pacientes del Registro internacional, mientras que en la serie española este porcentaje fue mucho más alto, 5 de los 6 pacientes intervenidos (83,3%).

A lo largo de los últimos 20 años, a través de la información facilitada por los pacientes a la Alianza VHL hemos podido constatar una evolución en el manejo de los tumores asociados a VHL, hacia una actitud más conservadora, tratando de preservar el mayor tiempo posible la mayor cantidad de tejido de los órganos afectados. Aunque esto ha sido especialmente evidente en el caso de los tumores renales, para los que a principios del milenio se proponía principalmente nefrectomía radical en vez de tumorectomía o ablación por radiofrecuencia, es posible que con el mayor y mejor conocimiento de la enfermedad y dada la lenta evolución de los TNEP y su comportamiento mayoritariamente benigno, en unos años podamos constatar también en el caso de los TNEP una tendencia al manejo más conservador, lo que redundaría en una mayor calidad de vida de los pacientes, y durante más tiempo.

Estudio del efecto del propranolol en los hemangioblastomas VHL

Búsqueda de un fármaco de reposicionamiento

La Alianza Internacional de pacientes VHL Family Alliance lleva muchos años financiando líneas muy variadas de investigación en la enfermedad sin que hasta el momento se haya conseguido un tratamiento farmacológico.

El problema común a muchas enfermedades raras es que se desconoce o no está completamente definida la fisiopatología de la enfermedad, por lo que es casi imposible poder iniciar líneas de investigación farmacológica. La investigación que se realiza es mayoritariamente básica, y en muy pocos casos traslacional. Cuando por fin se llega a la fase de investigación farmacoclínica, la búsqueda de un fármaco para una patología concreta supone muchos años de desarrollo, con todo lo que esto implica tanto en esfuerzo económico por parte de las asociaciones de pacientes como en pérdidas de oportunidad para los afectados, muchos de los cuales no vivirán lo suficiente para probar un fármaco. Este planteamiento fue el que estableció como prioridad tratar de encontrar un fármaco que ya se estuviera utilizando para otras indicaciones, y que pudiéramos reposicionar para su uso en la enfermedad VHL.

El reposicionamiento de fármacos ahorra muchos recursos y años de investigación, pues aquellos fármacos que ya están comercializados tienen un perfil de seguridad a largo plazo conocido. Teniendo en cuenta que la seguridad está por encima de la efectividad, realizar un ensayo clínico con uno de estos fármacos supondría comenzar un ensayo en fase III para estudiar directamente su eficacia, en lugar de comenzar en fase I, ya que conocemos su toxicidad. Así pues, debido a que los tumores necesitan un componente vascular importante tanto para su crecimiento como para su diseminación, el reto inicial era buscar un fármaco antiangiogénico ya conocido, seguro, comercializado y con experiencia de uso en otra patología.

Fármacos antiangiogénicos

Tomando como referencia el reposicionamiento de propranolol para el hemangioma infantil en 2008, gracias a la publicación de los excelentes resultados obtenidos por Léauté-Labrèze *et al*,¹³⁶ en 2012 llevé a cabo exhaustivas búsquedas bibliográficas en Pubmed sobre tratamientos antiangiogénicos que pudieran controlar el crecimiento tumoral, con el fin de propiciar el espaciamiento de las cirugías del SNC de los afectados VHL. Los resultados de las búsquedas devolvieron tres fármacos con efecto antiangiogénico que podían ser candidatos a ensayos en VHL: ***talidomida, inhibidores de la tirosín-quinasa y propranolol.***

Talidomida

La talidomida se utilizó en la década de 1950-60 como sedante y medicación antiemética en el embarazo. Los efectos teratogénicos fueron responsables del nacimiento de más de 10.000 niños con malformaciones.¹³⁷

Se trata de un potente inmunomodulador con propiedades antiangiogénicas. Según se describe en las características farmacocinéticas de la ficha técnica del producto,¹³⁸ talidomida tiene *actividad inmunomoduladora, anti-inflamatoria y potencialmente antineoplásica*. Los datos de estudios *in vitro* y pruebas clínicas sugieren que todos estos efectos inmunomoduladores pueden estar relacionados con la supresión de una producción excesiva del factor de necrosis tumoral (TNF- α) y la regulación negativa de la expresión de moléculas de adhesión intercelular, implicadas en la migración de leucocitos y en la actividad antiangiogénica.

Como inmunomodulador, suprime la producción del factor de necrosis tumoral alfa e IL-12, citoquinas necesarias para la respuesta inmune de la células. Asimismo, inhibe la neovascularización a través de la supresión de TNF y del Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF); inhibe el factor nuclear kappa B (NF-kB), que regula genes implicados en el crecimiento celular, angiogénesis, supresión de apoptosis y metástasis. Por todo esto, se puede considerar un agente anticanceroso.⁶⁷

En 2004 Piribauer *et al* publicaron un caso de estabilización de un hemangioblastoma medular no VHL en una paciente de 47 años, mediante tratamiento con 200 mg/día de talidomida vía oral durante más de un año.¹³⁹ Aunque no hubo regresión del tumor, el paciente experimentó mejoría de la movilidad de los miembros superiores, y no presentó efectos adversos asociados al tratamiento.

Una nueva publicación de 2009 relata la experiencia de uso de talidomida en una adolescente de 16 años con un hemangioblastoma medular irreseccable.¹⁴⁰ Se instauró una pauta de 200 mg/día, con buena tolerancia. El tumor permaneció estable durante 37 meses, con seguimiento con resonancia magnética nuclear cada 6 meses, y posteriormente redujeron la dosis a 100 mg/día. El único efecto adverso destacable fue amenorrea, por lo que se interrumpió el tratamiento y se restableció tras la resolución de la misma.

Su uso potencial como agente anticanceroso ha propiciado su ensayo posterior en otros tumores y su utilización como tratamiento en mieloma múltiple,¹⁴¹ cáncer de pulmón¹⁴², cáncer de vejiga,¹⁴³ carcinoma pancreático¹⁴⁴ y hepatocelular.¹⁴⁵

Neuropatía periférica

La neuropatía periférica es, desafortunadamente, una reacción adversa muy frecuente y potencialmente grave del tratamiento con talidomida. Los síntomas que comprende incluyen parestesia, disestesia, molestias, coordinación anormal y debilidad. El daño puede ser irreversible y, aunque se ha notificado también con el uso a corto plazo, aparece generalmente tras un uso crónico durante meses (hasta en el 70% de los pacientes a los 12 meses de tratamiento). Puede originar también déficit motor.

La incidencia aumenta con la dosis acumulada y la duración del tratamiento. También puede aparecer tiempo después de la interrupción del tratamiento, y resolverse lentamente, o no resolverse.¹⁴⁶

De acuerdo a la ficha técnica del producto,¹³⁸ en un estudio de fase 3 la mediana del tiempo hasta el primer episodio de neuropatía fue de 42,3 semanas, lo que supone un margen muy pequeño teniendo en cuenta que buscamos un *tratamiento preventivo de por vida*, que no añada problemas a los que ya ocasiona esta enfermedad y sus cirugías. Este efecto adverso es el principal factor limitante para su uso en VHL y, junto con su potencial teratogénico, lo descartan como candidato para el tratamiento de la enfermedad de von Hippel-Lindau para el medio-largo plazo.

Inhibidores de la tirosin-quinasa

En los últimos años se han comercializado moléculas especialmente diseñadas para modular determinadas vías de señalización del cáncer. Los inhibidores de tirosin-quinasa están dirigidos a bloquear el receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), y entre ellos cabe destacar a semaxanib (SU5416), valatinib (PTK787/ZK 222584), sunitinib, y los anticuerpos monoclonales bevacizumab y pazopanib.⁶⁷

Por su efecto antiangiogénico se han ensayado en pacientes VHL, con resultados dispares. Entre los más utilizados están bevacizumab y pazopanib.

Una publicación reciente¹⁴⁷ posiciona a pazopanib basándose principalmente en su efecto sobre el carcinoma renal; esta situación era previsible teniendo en cuenta que pazopanib está autorizado y financiado en primera línea de tratamiento del cáncer renal desde hace años, y el tipo histológico que aparece en VHL es el carcinoma renal de células claras, que es el más frecuente en la población general.¹⁴⁸ Sin embargo, el efecto sobre el resto de tumores que componen el espectro de la enfermedad es dudoso, como se deduce de los resultados de este mismo trabajo y otras publicaciones.^{147,149}

Son fármacos con potenciales efectos adversos también muy graves. Se utilizan habitualmente en pacientes con patología cancerosa, cuya esperanza de vida está acortada. Sin embargo, los pacientes VHL tienen una buena calidad de vida entre operaciones, y su esperanza de vida, aunque está disminuida con respecto a la población general, ronda los 65 años de edad.⁸⁹ Utilizar este tipo de tratamientos tan agresivos en estos pacientes de forma crónica, no debería considerarse una opción válida para todos los casos.

Propranolol

Se trata de un bloqueante beta adrenérgico, comercializado en España hace más de 50 años, con una amplia experiencia de uso para diferentes patologías y con un conocido perfil de seguridad. Las contraindicaciones y los efectos adversos son pocos. Con la seguridad que ofrece un medicamento ampliamente utilizado a nivel internacional, fui ampliando las búsquedas bibliográficas sobre este fármaco, centrándolas sobre todo en el efecto descrito en 2008 sobre el hemangioma infantil congénito,¹³⁶ con el fin de asegurarme de que era un buen candidato para iniciar líneas de investigación con él. Así fue como surgió la idea de probar propranolol en pacientes VHL.

Inicio de las investigaciones

En este capítulo se recogen tres estudios relacionados entre sí. Se elaboraron los correspondientes protocolos, los cuales fueron aprobados por los Comités de Ética de la Investigación Clínica de los centros donde se iban a llevar a cabo:

- ***Obtención de cultivos de hemangioblastomas de pacientes VHL. Iniciado por la Dra. Gemma Serrano (Complejo Hospitalario Universitario de Albacete), y continuado posteriormente por la Dra. Luisa María Botella Cubells, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid. 2013.***
- ***Efecto terapéutico de propranolol en una serie de pacientes con enfermedad de von Hippel-Lindau y hemangioblastomas de retina a corto, medio y largo plazo. Dra. Rosa María Jiménez Escribano, Complejo Hospitalario de Toledo. 2014.***
- ***Obtención de cultivos celulares primarios de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau y estudio de biomarcadores. Dra. Luisa María Botella, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid. 2015.***

En el **año 2012** el Dr. José María de Campos, neurocirujano y jefe del Servicio de Neurocirugía de la Fundación Jiménez Díaz (Madrid) era considerado por la Alianza VHL el médico con mayor experiencia en la enfermedad y cirujano de referencia en España. Como colaborador habitual para ofrecer segundas opiniones a los pacientes VHL, y por su perfil investigador, desde la asociación de pacientes le propusimos liderar un ensayo clínico para estudiar el efecto del propranolol en los hemangioblastomas del SNC de pacientes VHL. Puso una condición preliminar antes de iniciar cualquier tipo de ensayo clínico en pacientes: ***demostrar el efecto positivo de propranolol in vitro, en cultivos de hemangioblastomas de pacientes VHL.***



Dr. José M^a de Campos

Con esta finalidad se constituyó un **grupo de investigación** formado por el equipo del Dr. de Campos, el equipo de investigación de la Dra. Botella (laboratorio 109 del CIB, Unidad CIBER 707), y dos personas de la Alianza Española VHL (la presidenta, Susi Martínez, y la vicepresidenta-médico asesor, Karina Villar).

Los primeros ensayos *in vitro* se realizaron con cultivos previos, obtenidos por la Dra. Gemma Serrano, del Complejo Hospitalario Universitario de Albacete, a partir de excedentes de cirugías de pacientes VHL del Dr. de Campos. Una vez obtenidos los cultivos, parte era enviada al Centro de Investigaciones Biológicas, donde sería la Dra. Luisa María Botella, jefe del laboratorio CIB 109, la responsable de los experimentos con propranolol.

En las siguientes páginas se describen los ensayos realizados. Por una cuestión de organización, los dos estudios preclínicos figuran en el mismo apartado, aunque tal y como se ha reflejado anteriormente, la ampliación de la obtención de muestras es posterior al ensayo clínico de Oftalmología.

1. Estudios *in vitro* con propranolol

Primeros experimentos

La mutación del gen VHL ocasiona una proteína VHL no funcional. Dado que esta proteína es imprescindible para el aclaramiento del Factor Inducible por Hipoxia (HIF), la falta de funcionalidad de la proteína ocasiona un acúmulo de HIF, el cual pasa al núcleo, activando genes diana implicados en proliferación, angiogénesis, degradación de matriz extracelular, control del tono vascular o eritropoyesis, entre otros procesos. Esto desencadenaría la aparición de los hemangioblastomas.

Asimismo, los hemangioblastomas producen niveles extraordinariamente elevados de VEGF, responsables de inducir una extensa vascularización.³⁰ Por tanto, todo compuesto que disminuyera HIF conseguiría controlar el desarrollo de los hemangioblastomas, retrasando así las cirugías de los pacientes.

Según algunos estudios, VEGF es la molécula que mejor se correlaciona con la angiogénesis ocular. Estudios de hibridación *in situ* han demostrado regulación al alta de VEGF en retinas de pacientes con retinopatías secundarias a diabetes, oclusión de la vena central de la retina, desprendimiento de retina o tumores intraoculares.¹⁵⁰

Por las publicaciones previas sobre propranolol y hemangiomas, y dado que los hemangioblastomas comparten con los hemangiomas la característica de estar fuertemente vascularizados, nuestra *hipótesis de trabajo* era que **propranolol podía frenar el crecimiento de los cultivos VHL** obtenidos.

Objetivo principal

Se pretendía demostrar que, tratando las células de los hemangioblastomas de pacientes VHL con propranolol, se podía disminuir la cantidad de HIF y, por tanto, de sus genes diana, frenando así el crecimiento de los cultivos celulares VHL.

Como **objetivo secundario** se pretendía estudiar si propranolol reducía la viabilidad de las células en proliferación, e inducía la muerte celular programada (apoptosis) de las mismas.

Procedimiento

Fase I: experimentos iniciales en línea tumoral de laboratorio

Para los experimentos iniciales se utilizó una línea tumoral de laboratorio, HeLa (células de cáncer de cérvix), establemente transfectada con el reportero HRE-luc que contiene elementos de respuesta a HIF (procedentes del promotor del gen VEGF), y equivalentes a los que tienen los genes diana de hipoxia. Esta línea se trató con propranolol a dosis de 50 y 100 μM (micromolar) tras inducción de hipoxia.

Los **primeros resultados** obtenidos indicaban que propranolol:

- A dosis de 50 y 100 μM , es capaz de disminuir la unión de la proteína HIF a sus sitios específicos de unión.
- Disminuye la cantidad de proteína de HIF presente en células HeLa sometidas a hipoxia.
- Reduce la viabilidad/supervivencia de las células HeLa en cultivo al 20-50%, dependiendo de la dosis. Esta disminución se produce por apoptosis, o muerte celular programada.

Fase II: experimentos en cultivos primarios de hemangioblastomas VHL

Tras los resultados anteriores, se iniciaron los experimentos en los cultivos primarios de hemangioblastomas de pacientes VHL. Para ello, se realizaron ensayos de screening con cultivos primarios procedentes de dos hemangioblastomas distintos (llamados *HB2* y *HB3*) y se observó que:

- La viabilidad de las células de hemangioblastoma disminuye tras tratamiento con 50 y 100 μM de propranolol (medida a través del ATP intracelular). Esta disminución es más marcada cuando las células son tratadas con medio de cultivo más pobre en cantidad de nutrientes (RPMI), que en medios ricos (EGM-2).
- En microscopía (*figura 1*) se observa la evolución de los cultivos a 24, 48, 72 y 96 horas, tratados con diferentes dosis (50 y 100 μM) de propranolol. Tras 5 días de tratamiento continuo con propranolol, se observa que hay menos células, y más espacios vacíos en la placa de cultivo debido a la afectación en la viabilidad celular. Al final quedaban menos de 5.000 células, con pobre morfología comparadas con las 300.000 células sanas de los cultivos sin tratar. Las células remanentes mostraban una apariencia atípica, apoptótica.

- El grado de apoptosis o muerte celular producida por el propranolol, se valoró mediante la medición de la actividad caspasa 3/7 de las células de los hemangioblastomas. Se observó un aumento de la apoptosis, llegando hasta casi un 50% en medio pobre RPMI y a 48 horas de cultivo.
- Asimismo, se observó que propranolol inhibía la tubulogénesis de las células de hemangioblastoma de forma parcial (a 50 μ M) o total (a 100 μ M).

La **conclusión final** es que el tratamiento con propranolol disminuye la viabilidad celular, tanto de células HeLa como de las derivadas de hemangioblastoma, paralizando la proliferación e induciendo la apoptosis celular. Nuestros resultados serían compatibles con la regresión observada en los hemangiomas infantiles.

Figura 1. Cultivo de hemangioblastoma tratado con dos concentraciones diferentes de propranolol.¹⁰⁵ En la parte superior, cultivo control. Aumento 40X.

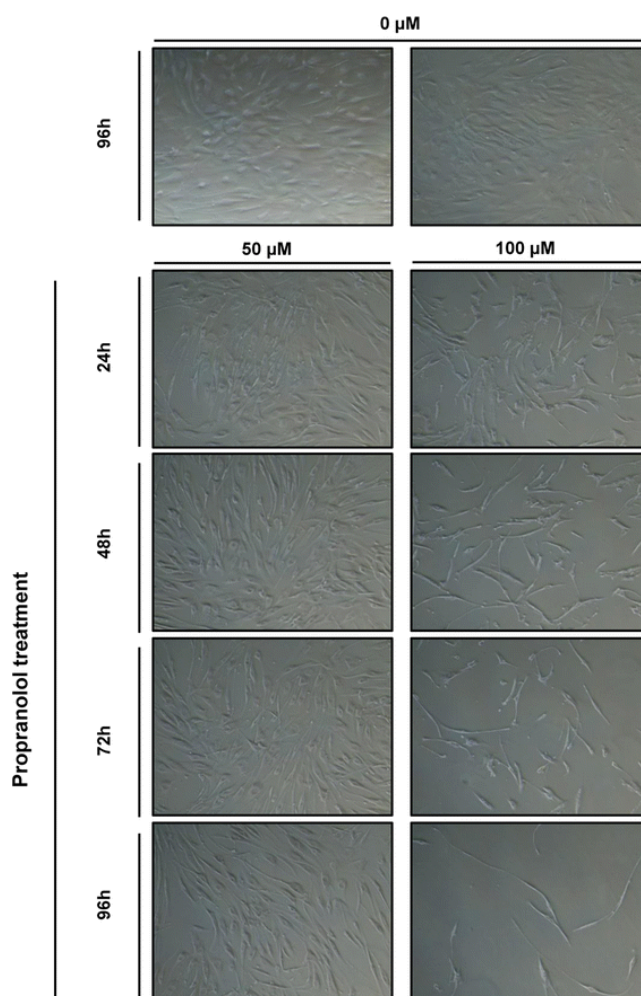
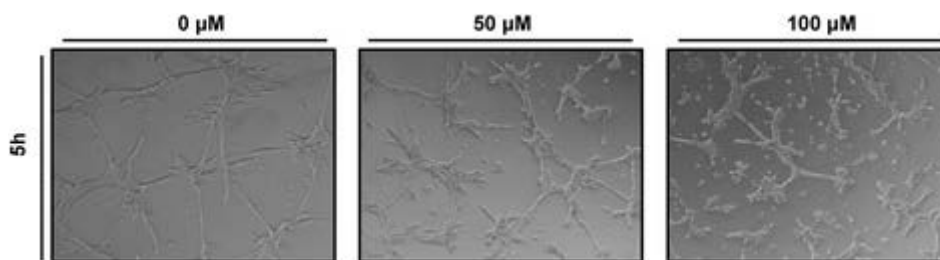


Figura 2. Cultivos celulares de hemangioblastoma tratados con propranolol. Inhibición de la tubulogénesis.¹⁰⁵ Aumento 40X.



Los resultados de estos experimentos iniciales se publicaron en el año 2015, con el título ***Propranolol reduces viability and induces apoptosis in hemangioblastoma cells from von Hippel-Lindau patients.***¹⁰⁵

Nuevos experimentos y proyecto de ampliación de obtención de muestras

Tras los resultados anteriormente expuestos, el equipo de investigación decidió ampliar la recogida de muestras a otros centros de toda España, con el fin de conseguir el mayor número posible de muestras. Para ello se preparó un nuevo protocolo de estudio, titulado ***Obtención de cultivos celulares primarios de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau y estudio de biomarcadores.***

El **objetivo principal** era realizar el cultivo celular *in vitro* de otros tumores característicos de la enfermedad VHL, procedentes de excedentes de cirugía (***carcinoma renal, hemangioblastomas, tumores neuroendocrinos pancreáticos, feocromocitomas y tumor de saco endolinfático***), y evaluar su respuesta frente a propranolol y otros fármacos.

El protocolo fue presentado para su aprobación al *Comité de Ética de la Investigación Clínica del Complejo Hospitalario de Toledo*. Incluía una hoja de información al paciente y un modelo de consentimiento informado para donación de excedentes tumorales y su envío al laboratorio CIB 109, para su cultivo y posterior experimentación (***Anexo I***).

Los **objetivos secundarios** del estudio comprendían:

- Medición mediante ELISA de la cantidad de las proteínas solubles dianas de HIF-1 α ; VEGF, EPO y Endogлина soluble:
 - ***en el plasma de los pacientes tratados en el ensayo clínico*** “Efecto terapéutico de propranolol en una serie de pacientes con enfermedad de von Hippel-Lindau y hemangioblastomas de retina a corto, medio y largo

plazo”, que se estaba llevando a cabo en el Servicio de Oftalmología del Complejo Hospitalario de Toledo (Nº EudraCT 2014-003671-30) . Los plasmas de las muestras se recogieron pre-tratamiento y en las sucesivas visitas del estudio tras iniciar el tratamiento.

- **en los cultivos primarios de los tumores.**
- Medición de la cantidad de expresión de genes diana de HIF antes y tras 24 horas de tratamiento con propranolol: VEGF, EPO, Endoglin y Sox-2.
- Estudio de biomarcadores de progresión tumoral de micro RNAs; el miR21 (marcador tumoral de la mayoría de los cánceres, mama, colon, pulmón), el miR210 (que se estimula con hipoxia) y el miR205 (antiangiogénico, que sube también en procesos de angiogénesis activa), ya que nuestra hipótesis sería que sus niveles disminuyen tras el tratamiento con propranolol.
- Constituir una **colección de muestras biológicas** (tumorales y de sangre periférica) procedentes de pacientes VHL, para investigaciones futuras.

Diseño

Se trata de un estudio preclínico cuyo objetivo es analizar y evaluar distintos biomarcadores relacionados con la viabilidad celular de los tumores característicos de la enfermedad, antes y después del tratamiento con propranolol y otros fármacos. Las muestras biológicas (tumores y sangre) de pacientes con la enfermedad de VHL, proceden de:

- Excedentes tumorales de cirugía de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau. Esto fue posible gracias a la colaboración desinteresada de los cirujanos y otros especialistas (patólogos y otros médicos).
- Sangre periférica procedente de los pacientes tratados en el ensayo clínico ***Efecto terapéutico de propranolol en una serie de pacientes con enfermedad de von Hippel-Lindau y hemangioblastomas de retina a corto, medio y largo plazo.***

Se solicitó la colaboración de los pacientes a través de la asociación Alianza VHL, desde donde se informó del proyecto a los afectados. Todos los **pacientes otorgaron su consentimiento informado.**

Asimismo se solicitó la colaboración del GETHI, Grupo Español de Tumores Huérfanos e Infrecuentes, con el fin de que los cirujanos de toda España conocieran el proyecto y pudieran reclutar pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau, a los que informarían y solicitarían el consentimiento informado para la donación de

excedentes de tumores. También se solicitó la colaboración de diferentes especialistas considerados de referencia en la enfermedad.

Resultados

La mayor parte de los cultivos se obtuvieron a partir de hemangioblastomas, principalmente procedentes de la **Fundación Jiménez Díaz** y gracias a la colaboración del Dr. Daniel Aguirre Mollehuanca, facultativo del Servicio de Neurocirugía.

También se han conseguido cultivos de carcinoma renal gracias a la colaboración del Dr. Luis Martínez Piñeiro, Servicio de Urología, Hospital Infanta Sofía (Madrid).

Hasta el momento ha sido técnicamente imposible obtener cultivos a partir de excedentes de feocromocitomas o de otros tipos tumorales.

Como parte de un anhelo de la Alianza VHL de tener un **biobanco VHL**, con todas las muestras recolectadas hasta la fecha se ha creado y registrado la colección de muestras biológicas bajo el nombre **“Bases moleculares, diagnóstico genético y búsqueda de terapias de 2 enfermedades raras con afectación vascular: HHT y VHL”** en el **Registro de Biobancos (sección Colecciones)** del Instituto de Salud Carlos III. La ubicación física de la colección es el Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), C/ Ramiro de Maeztu, Madrid.

A fecha de preparación de este trabajo, la mayoría de las muestras proceden de pacientes que comunican su intención de donar a la asociación Alianza VHL y de los médicos que colaboran habitualmente con la asociación, y organizan conjuntamente el procedimiento de donación de la muestra. Esto demuestra, una vez más, que **los investigadores más implicados e interesados en colaborar son aquellos que realizan el seguimiento de la enfermedad de forma habitual.**

2. Ensayo clínico con propranolol

Efecto terapéutico de propranolol en una serie de pacientes con enfermedad de von Hippel-Lindau y hemangioblastomas de retina a corto, medio y largo plazo.

Una vez comprobado el efecto del propranolol sobre los cultivos celulares de hemangioblastomas de diferentes pacientes, era el momento de plantear un ensayo clínico (EC) con pacientes, tal como propuso en su día el Dr. José María de Campos.

Se trata de un estudio de reposicionamiento de un medicamento autorizado para distinta indicación a la que se investiga, ya que en la actualidad no se dispone de alternativa farmacoterapéutica para la enfermedad. En consonancia con el art. 1b) del **Real Decreto 1015/2009, de 19 de junio, por el que se regula la disponibilidad de medicamentos en situaciones especiales**.⁶⁶

Artículo 1. Objeto y ámbito de aplicación.

1. *En aplicación de lo dispuesto en los apartados 3 y 4 del artículo 24 de la Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de medicamentos y productos sanitarios, mediante este real decreto se establecen:*

b) Las condiciones para la prescripción de medicamentos autorizados cuando se utilicen en condiciones distintas a las autorizadas, que en todo caso tendrá carácter excepcional.

Propranolol se comercializó en España en 1966. Las indicaciones para las que está autorizado su uso según ficha técnica¹⁵¹ incluyen el tratamiento de la hipertensión arterial y renal, angina de pecho, taquiarritmias, temblor esencial, miocardiopatía hipertrófica obstructiva, profilaxis de la migraña, profilaxis de la hemorragia digestiva alta en pacientes con hipertensión portal y varices esofágicas, entre otras.

El **principal objetivo** de este ensayo estaba dirigido a comprobar la **seguridad y efectividad del uso de propranolol** en este grupo específico de pacientes. Si bien este es un medicamento comercializado hace muchos años, no se puede garantizar su seguridad de uso para una patología concreta y con unas peculiaridades que no tiene la mayoría de la población, sin que se hayan realizado ensayos clínicos previos para esta indicación concreta.

Asimismo, era necesario comprobar su **efectividad in vivo**. Muchos medicamentos muestran efectividad *in vitro*, pero cuando pasamos a probarlo en animales, el efecto

no es el esperado. En ocasiones, aun cuando el fármaco es efectivo en animales, al realizar el ensayo en humanos el medicamento no es efectivo; en otras, se ponen de manifiesto efectos adversos que no se habían observado en los animales de experimentación. Por todas estas razones se han de seguir unos pasos concretos a la hora de probar un fármaco.

En **2014** la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) había ya autorizado la comercialización de propranolol bajo el nombre comercial de **Hemangiol®** para el *hemangioma infantil proliferativo que precisa tratamiento sistémico*. La ficha técnica del producto recoge las siguientes indicaciones:¹⁵²

- *Hemangioma potencialmente mortal o que pone en peligro la capacidad funcional.*
- *Hemangioma ulcerado con dolor y/o ausencia de respuesta a las medidas básicas de cuidado de heridas.*
- *Hemangioma con riesgo de cicatrices permanentes o desfiguración.*

Los **hemangiomas** son los tumores vasculares benignos más frecuente en recién nacidos. El efecto de propranolol sobre los hemangiomas se descubrió de forma casual en el año 2008, cuando se pautó para la miocardiopatía de un bebé con un hemangioma capilar nasal que estaba siendo tratado con corticoides.¹³⁶ Tras la suspensión de éstos, el tumor continuó regresando, y a la edad de 14 meses el hemangioma había experimentado una involución espectacular. Desde la publicación de este caso hasta ahora, se ha ensayado ampliamente, y numerosas publicaciones científicas corroboran su efecto beneficioso en el hemangioma infantil.¹⁵³ Actualmente propranolol en suspensión oral es el tratamiento de elección para este tumor vascular.

Propranolol tiene varios mecanismos de acción potencial, descritos en la literatura: vasoconstricción, efecto antiangiogénico, apoptosis de las células endoteliales capilares y reducción de las vías de señalización VEGF y bFGF.¹⁵⁴ Los beneficios que se han observado en el tratamiento de dichos tumores vasculares son su capacidad para la resolución casi completa o completa. Dado que los hemangioblastomas que aparecen en la enfermedad de von Hippel-Lindau son tumores vasculares, proliferativos, planteamos la posibilidad de que funcione para disminuir o al menos frenar el crecimiento de los hemangioblastomas de retina en aquellas localizaciones en las que no se pueden utilizar los tratamientos habituales (laserterapia, crioterapia) por el alto riesgo de acelerar la pérdida de visión.

Recientemente propranolol se ha comenzado a ensayar como tratamiento coadyuvante para el cáncer de mama,¹⁵⁵ y algunos trabajos han mostrado

prometedores resultados en tumores malignos como melanoma,¹⁵⁶ paraganglioma metastásico¹⁵⁷ y angiomiosarcoma cardiaco metastásico.¹⁵⁸

Centrándonos en la patología específicamente de retina, en los últimos años se han publicado algunos artículos sobre el uso de propranolol para el tratamiento del hemangioma coroidal difuso que aparece en el síndrome de Sturge-Weber, con resultados positivos.¹⁵⁹

La *secuencia de experimentación* obligaría a probar propranolol en un modelo animal VHL. Sin embargo, al no existir modelo VHL con hemangioblastomas y teniendo en cuenta la experiencia de uso desde su comercialización, se planteó la experimentación directa en pacientes. Este hecho complicaba también la aprobación del estudio por el Comité de Ética de la Investigación (CEIC), aunque afortunadamente, en el caso de enfermedades tan graves y raras como esta, la normativa permite diseños alternativos al del diseño clásico de ensayo clínico.

El ensayo clínico fue ideado y preparado conjuntamente con la **Dra. Rosa María Jiménez Escribano**, jefe del Servicio de Oftalmología del Complejo Hospitalario de Toledo. Mi participación en él ha sido fundamentalmente en los aspectos preparación del protocolo y documentación anexa (manual del investigador, etiquetado del fármaco, etc.); gestión de su autorización por parte del CEIC del hospital, la Dirección General de Asistencia Sanitaria del SESCAM, y de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS); análisis de los resultados globales y preparación de los manuscritos para su publicación (estos, conjuntamente con las oftalmólogas y el equipo del CIB). Los aspectos oftalmológicos de este ensayo clínico son objeto de otra tesis doctoral en la que está trabajando la Dra. Beatriz González Rodríguez, médico adjunto del Servicio de Oftalmología del Complejo Hospitalario Universitario de Toledo, que ha realizado, junto con la Dra. Jiménez, la valoración oftalmológica de los pacientes.

Los resultados obtenidos con este trabajo han sido objeto de dos publicaciones: una primera en **2017**, que recoge los resultados del *estudio de los biomarcadores*,¹⁶⁰ y una segunda en **2019**, donde se reflejan los resultados oftalmológicos del ensayo clínico.¹⁶¹

Justificación y objetivos

La enfermedad de von Hippel-Lindau es una patología que conlleva un riesgo vital importante para el paciente. El hemangioblastoma de retina es uno de los tumores más frecuentes, y la no intervención implica un mal pronóstico a largo plazo. A pesar de los tratamientos, muchos pacientes acaban presentando amaurosis uni o bilateral.

En las localizaciones peripapilares, en las que las opciones de tratamiento son reducidas por el riesgo de pérdida visual yatrogénica, el desenlace final suele ser la pérdida de visión del ojo afectado. Hasta la fecha ningún tratamiento ha conseguido cambiar el curso de la enfermedad.

Por todas estas razones, los **candidatos ideales** para el EC serían aquellos pacientes con tumores de retina cuya localización hiciera muy difícil o imposible tratarlos sin que se afectara la visión. Así se determinó que el *criterio principal de inclusión* en el ensayo sería la existencia de al menos un hemangioblastoma papilar o yuxtapapilar. Dado que la evolución normal de los tumores papilares o yuxtapapilares en la enfermedad de VHL es hacia la amaurosis, planteamos un **uso experimental de propranolol fuera de indicación**, como alternativa terapéutica a dicha evolución natural.

No se conoce con detalle el mecanismo de acción por el que propranolol ejerce su efecto en los hemangiomas, pero cuando bloquea los receptores β -adrenérgicos de las células, consigue promover vasoconstricción (inhibiendo la vasodilatación y reduciendo el flujo de sangre en el tumor), induce la apoptosis – muerte celular programada - e inhibe la expresión de determinados genes angiogénicos como VEGF, bFGF o MMPs, controlados por el factor de transcripción HIF.

Con estos antecedentes, más otros encontrados en la literatura que demuestran que propranolol induce la diferenciación de las células indiferenciadas de hemangiomas hacia adipocitos,¹⁶² planteamos la hipótesis de que propranolol, podría ser un tratamiento eficaz para controlar el crecimiento de los hemangioblastomas que aparecen en la enfermedad de von Hippel-Lindau, pues son también tumores vasculares. En el caso del uso de Hemangirol®, se utiliza en hemangiomas proliferativos en los primeros meses de vida, mientras que los hemangioblastomas son tumores proliferativos que surgen y aumentan de tamaño a lo largo de toda la vida del individuo.

Material y métodos

Diseñamos un ensayo clínico *de fase 3*, con *un único brazo de tratamiento*. Por razones éticas, no está justificado el uso de placebo. En las patologías en las que no existe un tratamiento farmacológico disponible, la comparación se puede realizar con la evolución natural de la enfermedad.

- **Hipótesis del estudio:** Propranolol, debido a su mecanismo de acción, puede ejercer un efecto terapéutico positivo en la enfermedad VHL al disminuir, tanto en número como en tamaño, los hemangioblastomas.

Objetivo principal y finalidad del estudio

Como ya se ha mencionado, el objetivo principal de este estudio era evaluar la eficacia de propranolol en el control del crecimiento de los hemangioblastomas peripapilares, tras de un **periodo de tratamiento de 1 año**, a las dosis a las que se ha visto que es eficaz en la regresión de los hemangiomas infantiles. Para ello, se realizaría la valoración de la evolución de los hemangioblastomas de retina a corto, medio y largo plazo, en tratamiento con propranolol vía oral.

El **objetivo secundario** del estudio era determinar si el tratamiento y la dosis utilizada es efectiva en controlar el crecimiento de los hemangioblastomas del SNC. El neurocirujano evaluaría las resonancias del SNC con contraste (que incluyeron también médula espinal), realizadas antes del inicio del ensayo y tras la finalización del mismo.

Los **objetivos exploratorios** se centraban en la detección y cuantificación de los biomarcadores plasmáticos *factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)* y *miRNA210*, a lo largo del ensayo clínico, y la detección de dianas controladas por HIF en leucocitos de sangre periférica. Estos biomarcadores fueron evaluados para determinar una posible relación entre sus niveles y la actividad de la enfermedad. Con este fin, se extrajo una muestra de sangre de cada paciente en cada visita, y enviada para su análisis en el Centro de Investigaciones Biológicas CIB-109, CSIC, Madrid. Además se midieron biomarcadores adicionales, como BAX, Cas-9, Epo, Sox-2 y Oct-4, como control del posible efecto del propranolol.

Los **criterios de inclusión** fueron:

- 1 - Diagnóstico genético de enfermedad de von Hippel-Lindau.
- 2 - Al menos un hemangioblastoma papilar o yuxtapapilar, no elegible para tratamiento estándar (fotocoagulación con láser o crioterapia) debido al alto riesgo de pérdida visual yatrogénica.
- 3 - Hemangioblastomas periféricos de retina para los cuales los pacientes hubieran rechazado tratamiento estándar.

Una vez seleccionados los posibles candidatos y previamente a la toma del medicamento, se establecieron las siguientes premisas:

- *Los pacientes que entren en el estudio deben tener realizadas las pruebas de despistaje de feocromocitoma en la visita anual de control de la enfermedad con su médico de referencia. En el caso de que no se haya hecho, deberá aportar los resultados de determinación de catecolaminas en orina de 24 horas previo a la inclusión en el estudio.*
- *El cardiólogo del equipo investigador realizará una exploración al paciente para asegurar que no existe contraindicación para la toma de propranolol desde el punto de vista cardiovascular. Será el cardiólogo quien marque la pauta de inicio y mantenimiento del tratamiento.*
- *Las pacientes en edad fértil deben acordar utilizar métodos anticonceptivos fiables desde la visita de selección hasta la finalización del estudio.*
- *Los pacientes deben acordar no participar en un estudio clínico sobre otro dispositivo o fármaco en investigación a lo largo de este estudio.*
- *La mayoría de los betabloqueantes, particularmente los lipofílicos, pasan a leche materna aunque en concentración variable. Por tanto, se desaconsejará la lactancia a aquellas madres lactantes que deseen participar en este estudio.*
- *El sujeto debe ser capaz de comprender la información del Consentimiento informado aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica y debe firmar el formulario antes de iniciar los procedimientos del estudio.*

Criterios de exclusión

Únicamente se tomaron como criterios de exclusión las contraindicaciones de la ficha técnica de propranolol.

A los pacientes que cumplieran todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión se les entregaría la hoja de información al paciente, y se solicitaría el consentimiento informado por escrito. En caso de menores o discapacidad psíquica, se recogería el consentimiento informado firmado por sus padres o tutores legales.

Descripción del tratamiento del ensayo

El único tratamiento fue propranolol (*Sumial®*, de 10 y de 40 mg, comprimidos recubiertos con película).

Justificación de la dosis

La pauta de propranolol que se planteó inicialmente para determinar la relación beneficio-riesgo en el tratamiento de la enfermedad de VHL fue de 2 mg/kg/día. De esta posología se dispone de datos de eficacia en el tratamiento del hemangioma, procedentes de numerosos estudios publicados desde el año 2008 y del ensayo

clínico **A randomised, controlled, multidose, multicentre, adaptive phase II/III study in infants with proliferating infantile hemangiomas requiring systemic therapy to compare four regimens of propranolol (1 or 3 mg/kg/day for 3 or 6 months) to placebo (double blind)**, nº de EudraCT 2009-013262-84.

El ajuste de dosis de propranolol para determinar la relación óptima eficacia-seguridad dependería de la respuesta de los pacientes en cada momento, estrechamente vigilada por un cardiólogo con experiencia en el manejo de propranolol.

Pauta posológica: *Se iniciará con una dosis de 2 mg/kg/día de propranolol, reducción de la dosis según respuesta y un control cardiológico simultáneo. En el caso de los niños, la dosis se ajustará en función de su peso corporal, tomando como referencia la pauta que se ha establecido para el tratamiento del hemangioma infantil proliferativo¹⁵² (la dosis inicial recomendada es de 1 mg/kg/día, administrada en dos dosis separadas de 0,5 mg/kg, e incrementando hasta la dosis terapéutica – 1-2 mg/kg/día - bajo supervisión de un cardiólogo).*

Parámetros de eficacia

Se definió la **variable principal** del estudio como el número y tamaño de los hemangioblastomas de retina, valorados por el oftalmólogo investigador, describiendo su localización y características (presencia de exudado, etc.).

Las **variables secundarias** son aquellas relativas a la medición de la agudeza visual, biomicroscopía, presión intraocular, funduscopia, tomografía de coherencia óptica (OCT), exudación y desprendimiento exudativo de retina.

Se definió la **Enfermedad Libre de Progresión** como el periodo de tiempo en el que aparece un nuevo hemangioblastoma o crece/n de tamaño el/los que tenía el paciente antes del inicio del ensayo.

Aspectos éticos

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación Clínica del Complejo Hospitalario de Toledo, clasificado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) como un ensayo clínico fase 3, autorizado y registrado con **número de EudraCT 2014-003671-30**.

Desarrollo del estudio

Inicialmente estaba previsto incluir 3 pacientes, pero tras la difusión del ensayo a través de la Alianza VHL, finalmente se incluyeron **7 pacientes de diferentes regiones de España**.

En la visita de selección se les informó de forma individualizada y detallada de la finalidad del ensayo clínico, y se les entregó la hoja de información al paciente (ver **Anexo II**) y la ficha técnica del medicamento,¹⁵¹ para que pudieran leerla en casa y consultar con sus médicos de confianza. Los pacientes también debían otorgar el **consentimiento informado** establecido **para el uso de medicamentos fuera de indicación** según el modelo estándar del hospital. Cualquier tratamiento concomitante que hubiera de tomar el paciente por cualquier otra patología, debía ser notificado al equipo investigador antes de iniciarlo.

Todos los pacientes tenían un **diagnóstico genético positivo de VHL**. Cuatro presentaban tumores yuxtapapilares, y por tanto tenían un alto riesgo de pérdida visual yatrogénica si eran tratados con los tratamientos habituales. Algunos pacientes se habían sometido a tratamientos previos, como fotocoagulación con láser o crioterapia, y habían rechazado continuar tratándose debido a la progresión tumoral a pesar de los tratamientos.

Antes de iniciar el tratamiento, los pacientes fueron sometidos a un reconocimiento médico por parte de un cardiólogo, con el fin de excluir patología cardíaca que contraindicara el tratamiento con propranolol.

Aunque el protocolo proponía una dosis ajustada por peso, de 2 mg/kg/día, por motivos de seguridad el cardiólogo estableció una dosis de propranolol oral única para todos los pacientes, cada 8 horas, hasta alcanzar en 7-10 días una dosis diaria total de 120 mg. Este tratamiento se mantuvo durante un año completo. Los pacientes no recibieron ningún otro tratamiento durante el ensayo clínico.

Las **visitas clínicas** se llevaron a cabo en el Servicio de Oftalmología del Complejo Hospitalario de Toledo en los meses 1, 3, 6, 9 y 12. En cada visita se midieron las variables y se tomaron fotografías de las retinas de cada paciente. Además, aparte de las valoraciones realizadas en el ensayo clínico, estos pacientes continuaron las revisiones con sus oftalmólogos de siempre, lo que permitió realizar una valoración retrospectiva de la evolución.

Las **exploraciones y analíticas** realizadas, tanto en situación basal como al corto, medio y largo plazo durante el periodo de tratamiento de este estudio se detallan en el

Anexo II. Las **pruebas de referencia** utilizadas para la valoración oftalmológica, fueron:

- Oftalmoscopia indirecta.
- Tomografía de coherencia óptica.
- Angiofluoresceíngrafía.
- RMN, con contraste, orbitaria y cerebral, para evaluar también los posibles hemangioblastomas preexistentes en encéfalo.

El **estudio de biomarcadores** se planteó para buscar una posible correlación entre los niveles del fármaco y la variación de los mismos a lo largo del tratamiento con propranolol. Se trata en realidad de un subestudio que se desarrolló en el Laboratorio 109 del Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC) bajo la dirección de la Dra. Luisa María Botella.

Para aquellos pacientes que se retiraran del estudio, la visita de seguimiento se programó a los 30 días de la retirada.

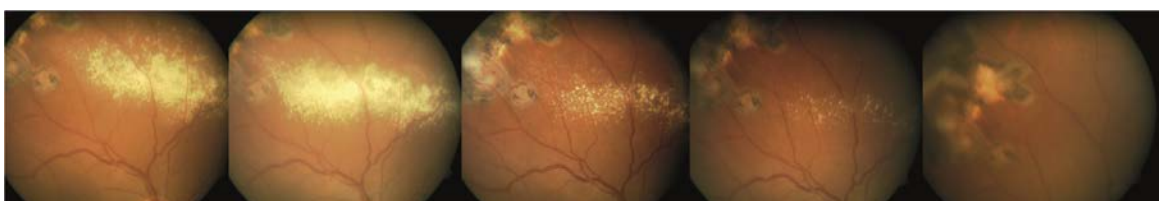
Resultados

La **paciente 6** abandonó el ensayo a las pocas semanas de comenzar el tratamiento, debido a una intervención programada. Posteriormente decidió no continuar. Todos los demás pacientes tomaron 120 mg de propranolol durante todo el tiempo del ensayo.

El único **efecto adverso** notificado fue la hipotensión en uno de los pacientes, que se solventó con un incremento escalonado de la dosis hasta alcanzar la dosis total indicada por el cardiólogo.

El número y tamaño de los hemangioblastomas de retina permanecieron estables en todos los pacientes (**tabla 2**). El hallazgo más destacable fue la absorción gradual del exudado de retina que presentaban los pacientes con tumores exudativos; se constató un descenso paralelo en los niveles de los biomarcadores antes mencionados, hasta situarse en niveles normales de la población general.

Figura 3. Evolución de la reabsorción del exudado en el paciente 1.¹⁶¹

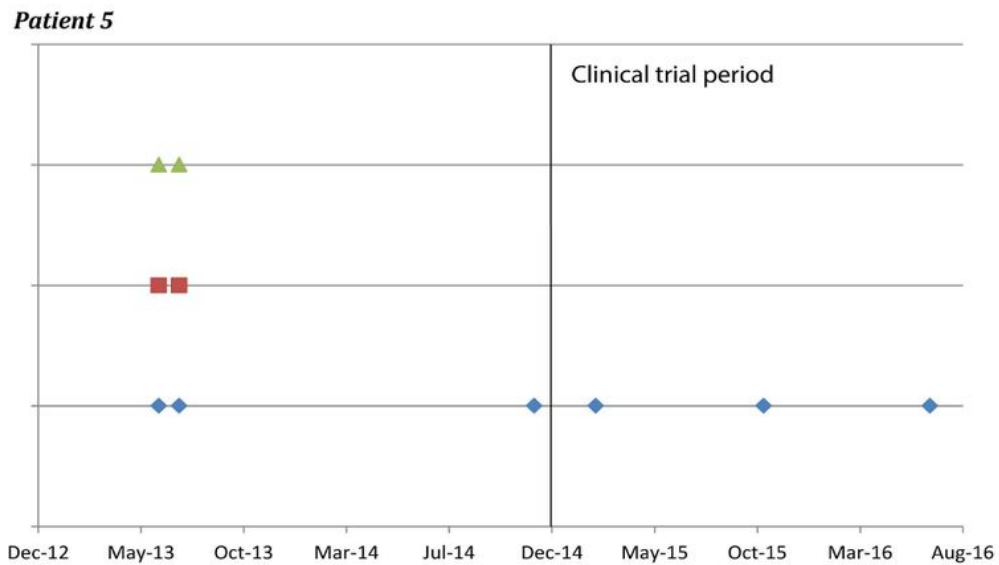
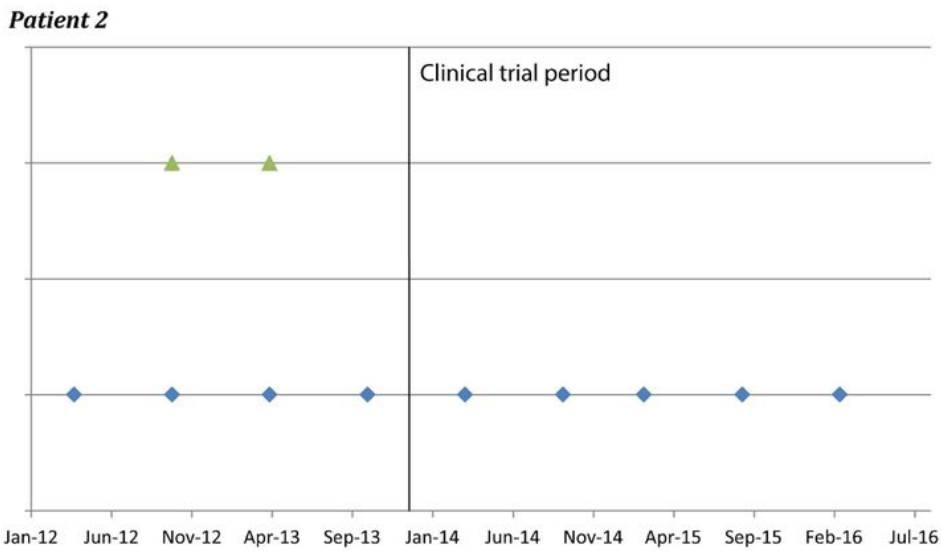
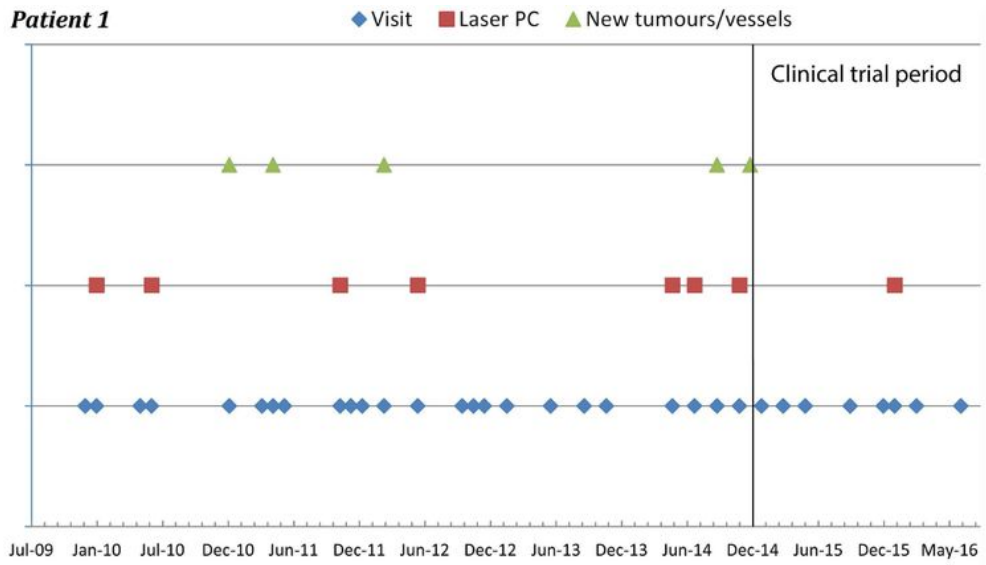


Todos los pacientes habían continuado con sus revisiones oftalmológicas por sus oftalmólogos habituales, al margen del ensayo clínico. Como información complementaria, a la finalización del ensayo clínico solicitamos a todos los pacientes una copia de los registros de sus historias clínicas del último centro donde les estuvieran realizando el seguimiento. Con esta información evolutiva pudimos realizar una valoración antes-después de la toma de propranolol. Los pacientes 1, 2 y 5 aportaron la historia clínica con varios años de seguimiento; estos datos están representados en la **Figura 4**, página siguiente.

Todos presentaban niveles elevados de VEGF y miR210 al inicio, los cuales fueron disminuyendo progresivamente a lo largo del estudio.

No hubo cambios significativos en el patrón de crecimiento de los hemangioblastomas del SNC durante el periodo de duración del ensayo clínico (*tabla 1*). Sólo dos de los pacientes permanecieron estables en cuanto al edema y componente quístico o nodular de los tumores preexistentes. Ninguno de los pacientes requirió neurocirugía durante el ensayo.

Figura 4. Evolución de la afectación de retina según los registros de las historias clínicas de los pacientes 1, 2 y 5. La línea negra vertical marca el inicio del ensayo clínico. (Elaboración propia).¹⁶¹



En las tablas 1 y 2 se representan las características y resultados de los pacientes del estudio.

Tabla 1. Hallazgos del SNC al inicio y tras finalizar el ensayo clínico. (Elaboración propia).¹⁶¹

Paciente	Edad y sexo	Gen <i>VHL</i> ¹²		HB preexistentes (RMN)		Cambios al final (RMN)	
		Locus	Mutación	Encéfalo	Médula	Encéfalo	Médula
1	36 M	Intron 2	Splice g.8665, A > G; c.DNA 463,+2A > C	2RCH-1LCH-1V	No	1LCH – aumento del nódulo, quiste y edema	No
2	33 F	Intron 2	Splice g.8665, A > G; c.DNA 463,+2A > C	1MO	No	Aumento del nódulo	No
3	50 F	Exon 3	c.501 A > T	2LCH	No	No	No
4	20 M	Exon 3	c.501 A > T	1LCH- 1MO	T7-T10-T12-L1	MO- aumento del nódulo y quiste	No
5	15 M	Ex1-2-3	del completa <i>VHL</i>	1MO	1C4, 2C5, 2C6, 1D5, 1L1	No	Aumento del nódulo y edema de 2 HB cervicales
6	38 F	Exon 1	del exon 1	No	No	<i>Abandono</i>	<i>Abandono</i>
7	22 M	Exon 3	c.486, C > G	No	1T2-1T3	No	No

El número antes de las siglas representa el número de tumores. RCH – Hemisferio cerebeloso derecho; LCH – hemisferio cerebeloso izquierdo; MO – bulbo raquídeo; V – Vermis; HB – Hemangioblastoma; EC – Ensayo clínico.

*Todos los pacientes se sometieron a una resonancia magnética nuclear entre 1 y 3 meses antes del inicio del EC y tras la finalización del mismo.

Tabla 2. Resumen de los hallazgos oftalmológicos al inicio y tras finalizar el ensayo clínico.¹⁰⁶

Paciente	Edad y sexo	Gen VHL ¹²		Tumores preexistentes				A la finalización del ensayo	
		Locus	Mutación	Retina ojo izquierdo		Retina ojo derecho		Tumores	Exudación
1	36 M	Intron 2	Splice g.8665, A > G; c.DNA 463,+2A > C	1 perif	-	1 perif	Gran exudación	Sin cambios	Sin exudación
2	33 F	Intron 2	Splice g.8665, A > G; c.DNA 463,+2A > C	1 yuxtap	-	-	-	Sin cambios	-
3	50 F	Exon 3	c.501 A > T	1 yuxtap	Exudación	-	-	Sin cambios	Mucha menos exudación
4	20 M	Exon 3	c.501 A > T	1 yuxtap	-	-	-	Sin cambios	-
5	15 M	Ex1-2-3	del completa VHL	-	-	1 perif	-	Sin cambios	-
6	38 F	Exon 1	del exon 1	1 yuxtap	-	-	-	Abandono ^b	-
7	22 M	Exon 3	c.486, C > G	2 perif	-	2 perif	-	Sin cambios	-

Perif – Periférico; Yuxtap - yuxtapapilar

Conclusiones

Propranolol produce vasoconstricción, disminuye los niveles de VEGF y ocasiona apoptosis celular, lo que justificaría una estabilización o regresión de los hemangioblastomas.

Podríamos pensar que nuestros hallazgos pueden deberse a quiescencia tumoral o al curso natural de la enfermedad. Sin embargo, la **regresión espontánea de un exudado** es un evento excepcional si no hay un tratamiento específico. Asimismo, la reabsorción del exudado se correlacionó con los mayores descensos de VEGF medidos en el paciente 1, por lo que podríamos atribuir el efecto al propranolol. miR210 tuvo una evolución paralela a VEGF.

VEGF y miRNA210 se perfilan como posibles biomarcadores de actividad de la enfermedad, e incluso podrían utilizarse para monitorizar una posible respuesta a un tratamiento de ensayo, aunque se necesitan más estudios para confirmar esto. Hasta donde sabemos, estos son los primeros biomarcadores propuestos para monitorizar la actividad de la enfermedad.

Aunque *a priori* parece que propranolol puede ser un tratamiento útil para tratar los hemangioblastomas de retina en pacientes VHL, lo ideal sería poder realizar un ensayo clínico con un gran número de pacientes y que contemple la búsqueda de dosis, para determinar aquella que tenga la mejor relación riesgo-beneficio. Sin embargo, nos encontramos con el inconveniente de que este tipo de ensayos clínicos habitualmente no está al alcance de la investigación independiente debido a los elevados costes que implican; y por otro lado, medicamentos de reposicionamiento tan baratos como propranolol no son de interés para el desarrollo de un ensayo clínico por la industria farmacéutica, debido a que los futuros ingresos probablemente no van a garantizar ni siquiera el retorno de la inversión que supondría.

Designación de propranolol como medicamento huérfano para la enfermedad de von Hippel-Lindau

Gracias a este ensayo clínico, a principios de 2017 la **Agencia Europea del Medicamento (EMA)** otorgó la designación de medicamentos huérfano a propranolol para el tratamiento de la enfermedad de von Hippel-Lindau,¹⁰⁷ siendo el primer medicamento para VHL que recibe esta designación a nivel mundial.

Como investigadores implicados con los pacientes, nuestro objetivo era facilitar el uso de propranolol a los afectados por la enfermedad de otros países de nuestro entorno. Tras la designación de huérfano por parte de la EMA, se remitió la información a la Federación Europea VHL (<http://www.vhl-europa.org/>) para su difusión entre los médicos y los pacientes. Pocas semanas después nos informaron de los problemas legales para su prescripción en diferentes países, dado que no tiene aprobada la indicación para el tratamiento de la enfermedad y por tanto no está autorizado su uso. Aunque no he explorado la situación legislativa del uso de medicamentos fuera de indicación (**off-label use**) en otros países, parece difícil de creer que este tema sólo esté resuelto en España.

Tras contactar con el Departamento de Medicamentos de Uso Humano de la Agencia Española (AEMPS), nos manifestaron su intención de ayudarnos e incluso aprobar un protocolo para uso fuera de indicación en nuestro país.

Estudio de la situación sociosanitaria de los pacientes VHL en España

Introducción

Actualmente hay mucha bibliografía en Internet sobre la enfermedad de von Hippel-Lindau tanto de tipo clínico como de estudios de investigación básica. Sin embargo, no hay estudios ni en España ni en otros países sobre la situación sociosanitaria de los afectados por la enfermedad.

El objetivo de este estudio es conocer la situación sociosanitaria de estos pacientes en nuestro país, como reflejo de la evolución que ha tenido la enfermedad y del seguimiento y tratamiento que reciben. Esto es particularmente importante debido a la necesidad de identificar centros sanitarios donde la atención de esta enfermedad rara pueda considerarse excelente, y pudieran ser propuestos como centros de referencia. Por ello, se ha registrado la comunidad autónoma de residencia.

Material y métodos

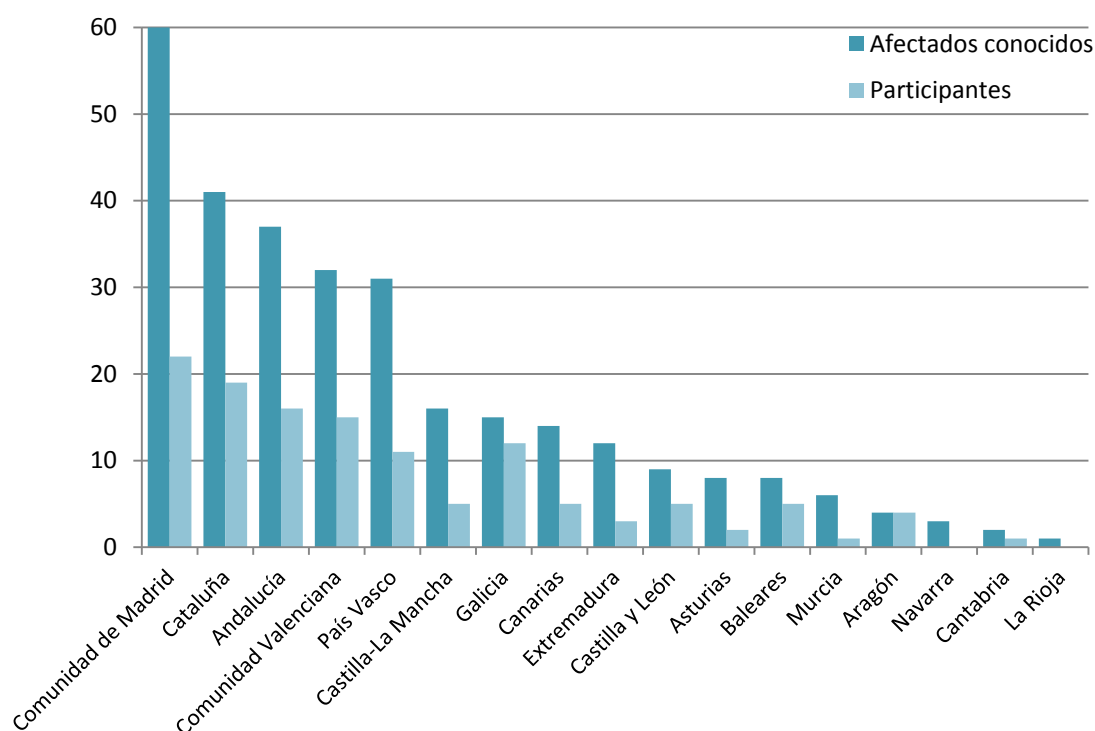
Para la realización de este estudio se preparó una encuesta online formada por 49 preguntas - la mayoría con respuestas cerradas -, que se cumplimentaba en un tiempo máximo de 30 minutos. La encuesta (**Anexo III**) recogía datos demográficos, datos de la historia clínica, datos sobre la asistencia sanitaria recibida, derivaciones a otras comunidades autónomas, tratamientos complementarios, tipos y grado de discapacidad, incapacidad laboral, etc.

A través de la Alianza VHL se envió una invitación a participar a los afectados con los que la asociación mantiene contacto, ofreciendo un plazo de tiempo para responder de 2 meses. La mayoría de los pacientes optó por la entrevista telefónica, que realizó el trabajador social de la asociación. Se solicitó a los afectados sus datos personales para poder contactar con ellos posteriormente, en caso necesario.

Resultados

El número total de afectados que participaron en este estudio fue de **126**. Teniendo en cuenta que la incidencia de la enfermedad es de 1/36.000, y la cifra estimada de afectados en España es alrededor de 1.300, se puede decir que nuestra muestra de pacientes es representativa, pues equivale a cerca del 10% de la población afectada residente en España. Con respecto a la población VHL con la que la asociación mantiene contacto (305 afectados en total), la cifra de participantes representa más del 30% de los pacientes conocidos.

Gráfico 1. Participación en el estudio respecto al nº de afectados conocidos

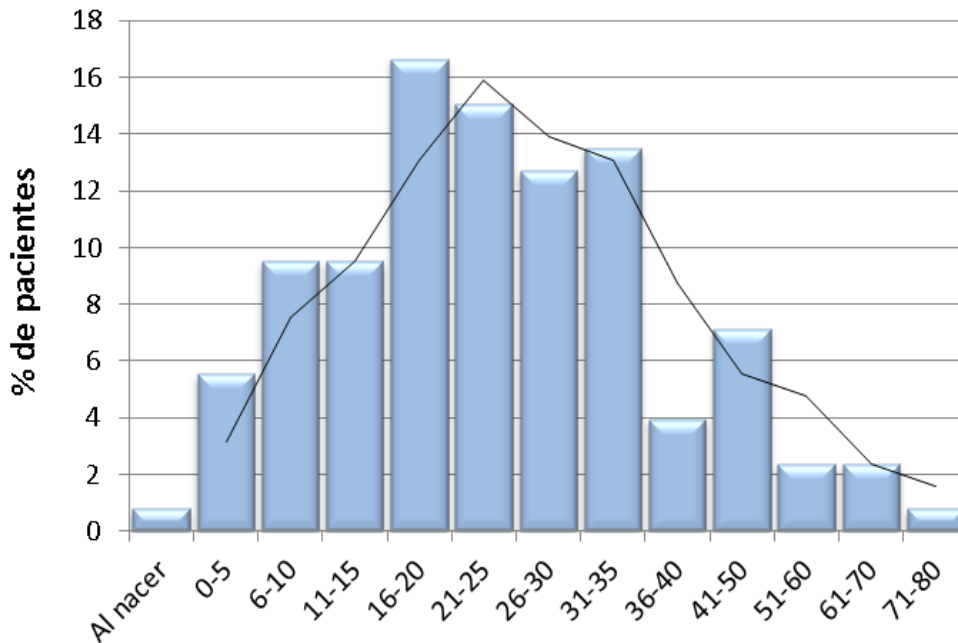


Las **comunidades autónomas** con mayor participación fueron la Comunidad de Madrid, Cataluña, Andalucía, Comunidad Valenciana, Galicia y País Vasco, lo cual guarda relación directa con el número de afectados localizados en estas comunidades. En cuanto a la distribución por género, el 60,3% de los participantes eran mujeres, y el 39,7%, hombres.

El **19,84% (25 pacientes)** declararon ser casos únicos en su familias (**casos de novo**), mientras que el 80,15% (101) tenía más familiares afectados. Esta cifra coincide con la recogida en la literatura, que habla de un 20% de casos *de novo*.

La **edad al diagnóstico** fue muy variable, situándose la mediana en el grupo de edad de 21 a 25 años. Las respuestas quedan representadas en el siguiente gráfico:

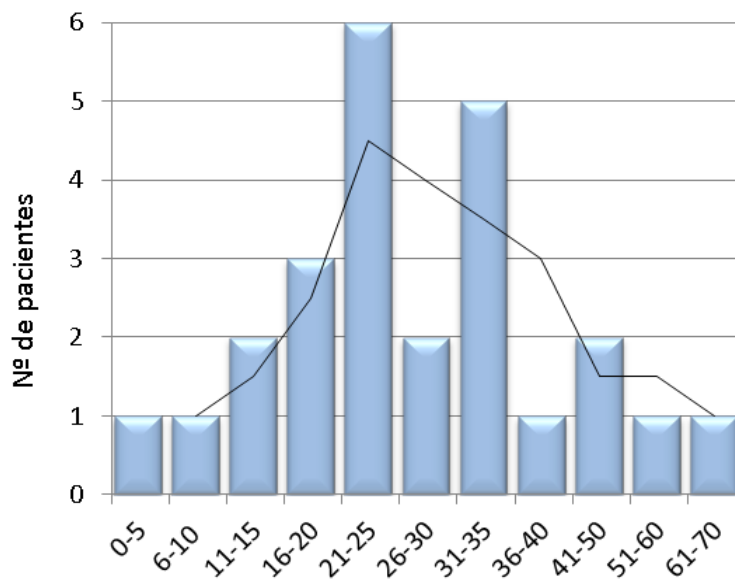
Gráfico 2. Edad al diagnóstico



Cabe destacar que el 69,8% de los afectados fueron diagnosticados **antes de los 30 años de edad**. Esto se correlaciona con la historia natural de la enfermedad y la aparición temprana de las primeras manifestaciones. Antes de los 20 años, había sido diagnosticado el 42%.

En cuanto a los 25 casos *de novo*, en la mayoría de ellos el diagnóstico se realizó a partir del quinquenio de los **21-25 años de edad**, sin que se observe por tanto mucha diferencia con respecto a lo observado en la distribución general.

Gráfico 3. Edad al diagnóstico de los casos de novo

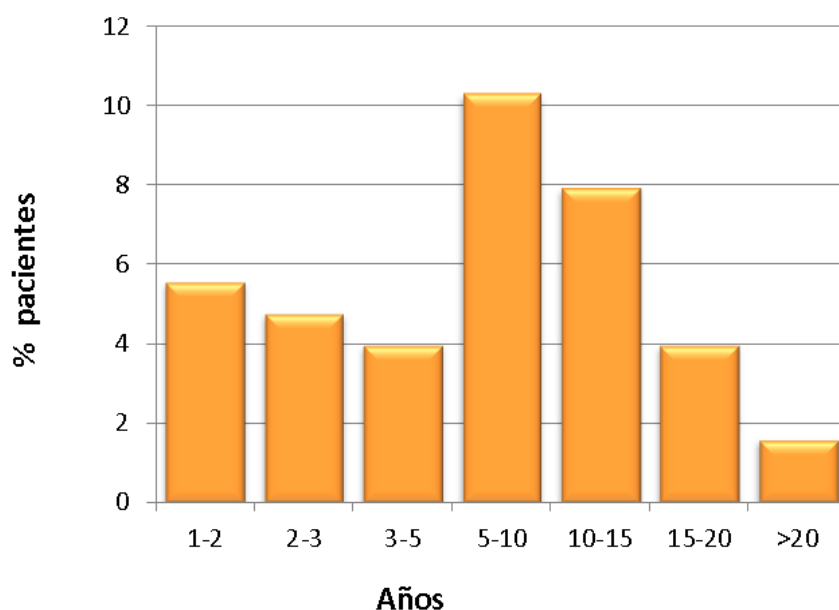


En los casos en los que hay antecedentes familiares de VHL, el diagnóstico debería haberse realizado en los primeros meses tras el diagnóstico del **caso índice**, y así la edad del diagnóstico de la muestra habría tenido una mediana desplazada hacia grupos etarios bajos.

En cuanto al **tiempo transcurrido desde las primeras manifestaciones hasta el diagnóstico**, 62 pacientes tardaron menos de un año en recibir el diagnóstico de la enfermedad (aproximadamente el 49%). El 24% tardaron más de 5 años (30 pacientes), entre los que se encuentran 9 casos *de novo*. 16 personas manifestaron que no tenían síntomas en el momento del diagnóstico, pues les hicieron estudio a raíz del diagnóstico de otros familiares. En ocasiones esto es debido a las manifestaciones más o menos leves de la enfermedad, que pueden confundir a los clínicos que no estén familiarizados con ella. Cabe destacar la dificultad de realizar un diagnóstico temprano en los casos *de novo*, pues muchas de las manifestaciones que pueden tener estos pacientes también se dan de forma aislada en la población general, y así es difícil pensar en un diagnóstico de enfermedad de von Hippel-Lindau de entrada, sin antecedentes familiares que nos orienten, en un paciente sin otras manifestaciones y con carcinoma renal, feocromocitoma, angioma de retina o hemangioblastoma del SNC.

En la siguiente gráfica se representa el tiempo de demora en el diagnóstico (no se han incluido los 62 pacientes antes referidos, en los que el diagnóstico se realizó en menos de un año):

Gráfico 4. Tiempo transcurrido desde las primeras manifestaciones hasta el diagnóstico (sólo los casos diagnosticados tras > 1 año).



En cuanto al **estudio genético**, tres pacientes no lo tenían hecho. La justificación que se les había dado era que el paciente ya tenía un diagnóstico clínico de la enfermedad, por lo que el médico consideraba innecesario realizar el estudio. En otros 4 pacientes, se había realizado el diagnóstico genético del afectado, pero no de los familiares en riesgo.

Tabla 1. Estado del estudio genético

Estudio genético de la enfermedad VHL	Nº	%
Sin estudio genético	3	2
Estudio genético al paciente, pero no a la familia	4	3
Estudio genético al paciente y a la familia	119	95
Total	126	100

Tabla 2. Según quien tiene la iniciativa de solicitar el estudio genético

Iniciativa de realización	Nº	%
El paciente o sus padres	35	29
El médico responsable del paciente	87	71
Total	122	100

Según se puede observar, en un elevado número de casos (35, lo que supone el 29% de los pacientes con estudio genético), fue el propio paciente o sus padres los que solicitaron al médico la realización de la prueba.

Con estos resultados, podemos afirmar que muchos médicos responsables del seguimiento de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau desconocen la trascendencia del diagnóstico genético y de su papel esencial en el despistaje de esta enfermedad en el resto de la familia, aun sabiendo que se trata de una patología hereditaria cancerosa, con un patrón de herencia dominante.

Sobre el **seguimiento** que se les realiza, sin embargo, en la mayoría se sigue el protocolo recomendado a nivel internacional, aunque hay aún un preocupante **17%** en el que no ocurre así:

Tabla 3. Cumplimiento del protocolo de seguimiento

Respuesta del paciente	Nº	%
No, no me hacen el seguimiento (me atienden cuando me encuentro mal)	3	2
Sí, me hacen el seguimiento, pero de forma irregular	19	15
Sí, me hacen todo lo recomendado	104	83
Total	126	100

Los tres pacientes a los que no se les realiza el protocolo de seguimiento, solicitaron la derivación a otro centro con experiencia en la enfermedad. Les fue concedida a dos de ellos y denegada al tercero.

Se interrogó sobre el perfil del médico que estaba coordinando el seguimiento de los pacientes. Los datos obtenidos se representan en la siguiente tabla:

Tabla 4. Especialidad que coordina el seguimiento del paciente

	Nº	%	Comunidad autónoma
Medicina Interna	45	35,7	Sin destacar ninguna
No tengo	26	20,6	Sin destacar ninguna
Neurocirugía	22	17,5	Todos de Madrid, FJD*
Endocrinología	9	7,1	Andalucía, Euskadi, Galicia
Consejo Genético	8	6,3	5 en Cataluña, Murcia, Galicia, Canarias
Oncología pediátrica	5	4,0	-
Oncología	4	3,2	Cataluña, Valencia, Canarias
Neurología	1	0,8	Euskadi

*FJD – Fundación Jiménez Díaz, Madrid

También se les preguntó sobre la **facilidad para ser derivados a centros o médicos con mayor experiencia en la enfermedad**. La derivación está más que justificada en el caso de las enfermedades raras, pues los pacientes están dispersos por toda la geografía española, y salvo contadas excepciones por interés particular de algún médico, es difícil encontrar una agrupación de casos que estén siendo vistos en el mismo centro.

Cabe destacar que el centro para el que más derivaciones se solicitan en la enfermedad de von Hippel-Lindau es la Fundación Jiménez Díaz, y en concreto para la consulta de la **Unidad de Neurooncología Familiar** (dependiente del Servicio de Neurocirugía), que en el año 2012 puso en marcha una consulta específica para VHL.

Tabla 5. Derivación a otro centro no considerado de referencia

¿Ha solicitado alguna vez derivación a otro centro sanitario que no le correspondiera por lugar de residencia?	Nº	%
Sí, me la concedieron	42	33
Sí, me la denegaron	16	13
A veces me la conceden y otras me la deniegan	8	6
No he solicitado derivación	60	48
Total	126	100

De los 22 pacientes que no tenían seguimiento reglado, 9 nunca han solicitado la derivación a otro centro sanitario que no les correspondiera por lugar de residencia. 8 pacientes la solicitaron y les fue concedida, a 3 les fue denegada, y otras 2 personas manifestaron que a veces se la conceden y otras se la deniegan.

En la mayoría de los casos la denegación de derivación obedece más a criterios economicistas que científicos. Al estar transferida la sanidad a las comunidades autónomas, actualmente las derivaciones se realizan a través del sistema **SIFCO**, y generan un gasto a la comunidad autónoma de origen del paciente que no se genera si el paciente es atendido con recursos propios. La única manera de salvar este problema - que está actualmente incidiendo de forma directa en la atención sanitaria que reciben los afectados por enfermedades raras en España - es que los centros sanitarios que están atendiendo el mayor número de casos de cada patología, sean designados **CSUR** para dichas patologías (Centros, Servicios y Unidades de Referencia, *Real Decreto 1302/2006 de 10 de noviembre, por el que se establecen las bases del procedimiento para la designación y acreditación de los centros, servicios y unidades de referencia del Sistema Nacional de Salud*). En el caso de los CSUR, la comunidad de origen no tiene que abonar ningún gasto a la comunidad autónoma de destino, donde se encuentra ubicado el centro de referencia para la enfermedad.

Según información facilitada por la asociación de pacientes Alianza VHL, las Comunidades autónomas que más deniegan son Castilla y León y la Comunidad Valenciana, y la que más deriva es el País Vasco, sin que en este último caso se haya

constatado limitación ni siquiera para derivar a otros centros expertos en otros países europeos donde realizan procedimientos quirúrgicos concretos (Alemania, adrenalectomías parciales y Bélgica, neurocirugías).

En cuanto a las **patologías concomitantes** declaradas por los encuestados, destacan las relativas a *alteraciones de la coagulación y a patología tiroidea y paratiroidea*. Así, 5 personas manifestaron padecer **deficiencia de algún factor de coagulación**: factor V en una persona, VII en otras dos (madre e hija), y VIII en una.

De las 10 personas (8%) que manifestaron padecer **patología tiroidea** (hipo o hipertiroidismo, sin especificar origen), una de ellas declaró una tiroiditis de Hashimoto. Dado que la disfunción tiroidea constituye una de las patologías más prevalentes en la población general, estas cifras podrían ser un reflejo de las encontradas en dicha población. Sin embargo, merecería la pena ampliar el estudio incluyendo a todos los pacientes VHL que quisieran participar.

Dos personas manifestaron padecer un hiperparatiroidismo.

Utilización de terapias complementarias

En cuanto a las **terapias complementarias**, 36 personas manifestaron estar recibiendo algún tipo de terapia en el momento de rellenar el cuestionario, lo que representa al **28,6%** de los encuestados. La fisioterapia es la terapia más utilizada (22 personas), seguida de la terapia ocupacional (4 personas) y la logopedia (4 personas).

Únicamente 13 personas (10%) manifestaron haber recibido **apoyo psicológico** en el momento del diagnóstico, lo que pone de relieve un importante déficit en la atención ofrecida a estos pacientes, y que ya se ha puesto de manifiesto en otras enfermedades raras.

A través de la Alianza VHL, sabemos que los centros que mejor atención ofrecen a los pacientes con enfermedades raras y sus familias son aquellos que cuentan con una unidad con un **gestor de casos**, que se encarga de la coordinación de un equipo multidisciplinar de profesionales para ofrecer una atención y seguimiento integrales, teniendo en cuenta los diferentes aspectos de la enfermedad y realizando un enfoque familiar del problema; esto es, incluyendo en el seguimiento y toma de decisiones a toda la familia. Los centros identificados son la Fundación Puigvert, Barcelona, que cuenta con una Unidad de Gestión de Pacientes de enfermedad renal hereditaria, y la Fundación Jiménez Díaz, Madrid, a través de la Unidad de Neurooncología Familiar.

Incapacidad y discapacidad

Para conocer la repercusión de la enfermedad en la **calidad de vida de los afectados**, se les interrogó sobre el grado de incapacidad laboral reconocido legalmente, el grado de discapacidad reconocido y el tipo de discapacidad. Aunque este apartado podría considerarse más del interés de la atención sociosanitaria que de la atención sanitaria, en el caso de las enfermedades que requieren cirugías complejas, la calidad de vida es un fiel reflejo de la atención sanitaria que están recibiendo estos pacientes. De hecho, la mejor forma de determinar los centros de excelencia en cuanto a Neurocirugía en la enfermedad de von Hippel-Lindau sería realizar un **estudio comparativo de resultados en términos de salud, midiendo la discapacidad antes y después de una intervención neuroquirúrgica en un número representativo de pacientes.**

Los grados de **incapacidad laboral permanente** que recoge la legislación, son los siguientes:¹⁶³

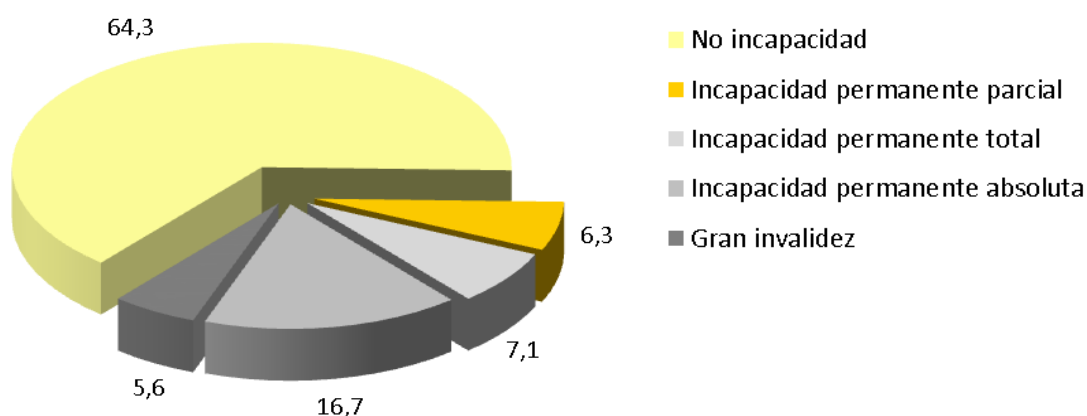
- a) **Incapacidad permanente parcial** para la profesión habitual.
- b) **Incapacidad permanente total** para la profesión habitual. *Se entenderá por incapacidad permanente total para la profesión habitual la que inhabilite al trabajador para la realización de todas o de las fundamentales tareas de dicha profesión, aunque pueda dedicarse a otra distinta.*
- c) **Incapacidad permanente absoluta** para todo trabajo. *Se entenderá por incapacidad permanente absoluta para todo trabajo la que inhabilite por completo al trabajador para toda profesión u oficio.*
- d) **Gran invalidez.** *Se entenderá por gran invalidez la situación del trabajador afectado de incapacidad permanente absoluta y que, por consecuencia de pérdidas anatómicas o funcionales, necesite la asistencia de otra persona para realizar los actos más esenciales de la vida, tales como vestirse, desplazarse, comer o análogos.*

Las **respuestas** que dieron los pacientes de nuestra muestra, quedan reflejadas en las tablas y gráficas siguientes:

Tabla 6. Incapacidad reconocida

Grado de incapacidad reconocido	Nº	%
No incapacidad	81	64,3
Incapacidad permanente parcial	8	6,3
Incapacidad permanente total	9	7,1
Incapacidad permanente absoluta	21	16,7
Gran invalidez	7	5,6
Total	126	100

Gráfico 5. Grado de incapacidad laboral



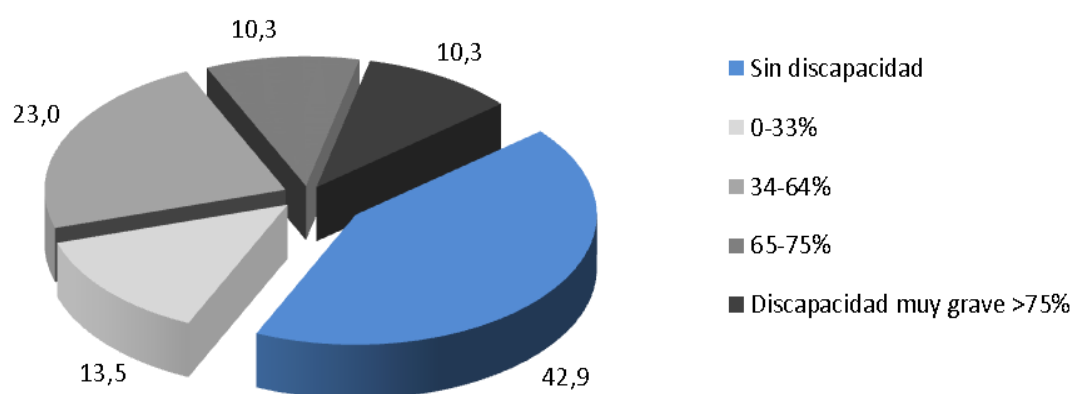
Hasta un 35,7% de los pacientes tiene una incapacidad laboral, que resulta ser una incapacidad para todo tipo de trabajo en un 22,2%, y es gran invalidez en el 5,6% de los afectados.

La **valoración de la discapacidad** y el grado que se otorga, tiene la finalidad de dar acceso al ciudadano a los beneficios, derechos económicos y servicios que los organismos públicos otorguen.¹⁶⁴ Es competencia de los órganos correspondientes de las Comunidades Autónomas a quienes hubieren sido transferidas las funciones en materia de calificación de grado de las limitaciones en la actividad y discapacidad.

Tabla 7. Grado de discapacidad reconocida

Discapacidad reconocida	Nº	%
Sin discapacidad	54	42,9
0-33%	17	13,5
34-64%	29	23,0
65-75%	13	10,3
Discapacidad muy grave, >75%	13	10,3
Total	126	100

Gráfico 6. Grado de discapacidad legal reconocido



Escuchando a los pacientes

Para finalizar la encuesta, se preguntó a los pacientes si querían hacer algún comentario adicional. El objetivo era intentar detectar otras variables no recogidas o necesidades no cubiertas actualmente por nuestro sistema sanitario.

Hasta 43 personas hicieron aportaciones, principalmente relacionadas con la **atención sanitaria** recibida. Estos comentarios deberían tenerse en cuenta a la hora de valorar el grado de satisfacción personal con la atención sanitaria. En la siguiente tabla el trabajador social de la Alianza VHL registró los más relevantes, ordenados por comunidad autónoma de origen:

Tabla 8. Comentarios de los pacientes

Andalucía	<i>Fue al psiquiatra y al psicólogo un tiempo para estar mejor. Como en la FJD, ningún sitio.</i>
Andalucía	<i>Ha admitido la enfermedad, es una persona muy positiva.</i>
Aragón	<i>Necesitaría más información sobre el tema de las derivaciones. El último trabajo que tuve no me renovaron porque faltaba para las consultas del urólogo, etc...</i>
Cantabria	<i>Nunca le han hecho el protocolo de seguimiento y casi se muere. Desde que se lo diagnosticaron hasta ahora, con 28 años, no la tomaban en serio y la trataban mal. Ningún apoyo psicológico.</i>
Castilla y León	<i>El mayor problema es el papeleo que hay que hacer al derivar.</i>
Castilla y León	<i>Esto es lo que es y hay que llevarlo como se pueda pero cada vez te afecta más, cuanto más mayor eres, en la movilidad...Psicológicamente no ayuda. No tiene curación, he visto morir a familiares míos.</i>
Castilla y León	<i>Lamentables transferencias a las comunidades de la sanidad pública.</i>
Castilla y León	<i>Me miran en Puerta de Hierro pero me gustaría que me miraran en la FJD, allí son expertos y quiero otra opinión de unos quistes en la médula espinal.</i>
Castilla y León	<i>Tratamientos costosos en Barcelona. En 2 años se ha gastado 15.000€.</i>
Castilla-La Mancha	<i>Aún no he manifestado ningún síntoma de la enfermedad. Solo tengo el positivo en la mutación y comenzaré en breve con las revisiones. Tengo dos hijos pequeños con los que iniciaré el estudio genético en las próximas semanas. En mi familia ya hay tres portadores confirmados y dos de ellos, de una forma u otra han desarrollado esta enfermedad. Si contamos los que ya han fallecido por esta causa, que son cuatro hermanos, incluidos entre ellos mi padre, somos siete personas de una misma familia y se sumarán más a medida que vayan teniendo resultados los que están esperando. Espero que todo avance y consigamos una cura</i>
Castilla-La Mancha	<i>Le derivaron en su día pero ahora tiene problemas con las derivaciones y su renovación. No se la quieren renovar. Le gustaría ir a la FJD, pero tampoco lo pide, que por lo menos le dejen en el Gregorio Marañón. En Ciudad Real no le miran nada, no saben nada de la enfermedad. Hay que explicarles todo a los médicos.</i>
Castilla-La Mancha	<i>Ojalá fuera más fácil el tema de las derivaciones a otras comunidades y el papeleo que conlleva.</i>
Cataluña	<i>Diagnosticada hace poco. Operada del riñón derecho y está a la espera de que la operen del izquierdo.</i>
Cataluña	<i>Gracias por ésta encuesta.</i>
Cataluña	<i>Me gustaría más que se separaran todas las ER, cada una es un mundo, no todas juntas. Habría que desglosarlas.</i>
Cataluña	<i>Muy satisfecha con la atención del Val de Hebrón por parte de todos los especialistas y por parte de la Asociación VHL</i>
Cataluña	<i>Recibió tratamiento psicológico en el momento del diagnóstico por la</i>

	<i>AECC.</i>
Cataluña	<i>Sabe casi todo con respecto a la enfermedad y está muy puesto al día gracias a su mujer.</i>
Cataluña	<i>Una de las grandes dificultades es poder acceder libremente desde la sanidad pública a los pocos especialistas con contrastada experiencia sobre el VHL, tanto a nivel nacional como extranjero. Hacer entender que una derivación a tiempo a manos de un experto es más económico que una mala cirugía que te deje secuelas innecesarias. Que la experiencia se adquiere al lado de los que son expertos y no a base de ir probando. Las reticencias de algunos especialistas a valorar la información que les transmites.</i>
Comunidad de Madrid	<i>En Fuenlabrada me tratan muy bien.</i>
Comunidad de Madrid	<i>Muchas gracias por acogernos y guiarnos un poco, que si no estaría más perdida.</i>
Comunidad de Madrid	<i>Tengo muchas dudas con respecto a solicitar una valoración para que determinen mi grado de discapacidad y dependencia. No hay mucha información al respecto, no sé si me lo concederían por tener VHL. Tal vez se podría tratar en la reunión anual.</i>
Comunidad Valenciana	<i>Cada vez está más difícil el poder tener una calidad de vida. Gracias por todos los que nos ayudan en este recorrido.</i>
Comunidad Valenciana	<i>Nos cuesta mucho la facilidad de derivar.</i>
Comunidad Valenciana	<i>Que se trabaje para que no haya problemas de derivaciones.</i>
Comunidad Valenciana	<i>Uno de los problemas a los que nos enfrentamos los afectados de una enfermedad rara como el VHL es que tenemos difícil acceso a profesionales especializados en nuestra enfermedad a través del sistema sanitario público. En mi caso, hace unos años me diagnosticaron un tumor en el cerebelo y después de que mi neurocirujano en el hospital de La Fe (Valencia) me dijera que posiblemente era canceroso (no un hemangioblastoma) y darme algunos datos erróneos, decidí consultar con un médico especializado en VHL. Para ello, intenté que me derivaran y me dijeron que era muy difícil, además de que iba a llevar mucho tiempo y tenían que operarme de urgencia. Así que para que pudieran atenderme en la FJD en Madrid hace unos años (cuando el Dr. José María de Campos dirigía la unidad especializada en VHL) tuve que pedir cita privada con él y después empadronarme en Madrid, solicitar mi historial médico en La Fe, pruebas diagnósticas, etc. Esto supuso muchos problemas: papeleo, tiempo, gastos de desplazamiento y alojamiento de numerosos viajes, etc. Para mí, lo peor fue el tiempo de espera, ya que el diagnóstico inicial era "tumor canceroso" y querían operar de urgencia, así que no podía esperar mucho. Aún así, decidí esperar a que me viera JM de Campos. Tardó 3 meses en hacerse posible. El diagnóstico inicial era erróneo, era un hemangioblastoma. Al final el Dr. de Campos lo intervino con éxito. Desde entonces, sigo empadronada en Madrid y ahora me hacen allí el seguimiento porque estoy más tranquila. Aunque esto significa que he</i>

	<i>perdido el derecho a ir al médico en la comunidad en la que realmente resido, de forma que si tengo alguna duda o me pasa cualquier cosa (relacionada o no con la enfermedad), tengo que desplazarme a Madrid o pedir cita en una consulta privada en mi ciudad.</i>
Galicia	<i>Cuando la enfermedad te aparece no te derivan, debería de ser libre elección. Tengo que empadronarme en Madrid.</i>
Galicia	<i>Que hubiese una derivación a un centro que realmente supiera tratarnos. Aquí estoy muy perdida en Galicia. No tenemos apoyo psicológico ni alguien que se ocupe de la fisio especializada en problemas derivados en neurocirugía. Tampoco tenemos terapia ocupacional para gente como yo.</i>
Galicia	<i>Que las derivaciones que se piden a médicos especializados se concedieran porque no hay mucho conocimiento sobre esta enfermedad Que hubiera más sistemas de apoyo a las familias psicológicamente y terapéuticamente hablando.</i>
País Vasco	<i>Al residir en el estado Francés y al existir aquí otro tipo de políticas de asistencia, tal vez algunas respuestas pueden distorsionar un poco la estadística de la realidad del estado español.</i>
País Vasco	<i>Espero que sirva a todos.</i>
País Vasco	<i>Ha dejado los médicos, toma mucha medicación. Hay que levantarlo con grúa de la cama.</i>
País Vasco	<i>Mi hija de 11 años también lo tiene sigue las pruebas recomendadas, "gracias a que no indagaron a que fue debido mi primer tumor, mi hija ha heredado VHL"</i>
Principado de Asturias	<i>La Calidad Asistencial en Asturias, no es buena actualmente; he notado un aumento muy grande en las listas de espera, cobertura, etc... La Alianza hace un trabajo excelente y me alegro mucho de esta iniciativa.</i>
Principado de Asturias	<i>No es una enfermedad como si fuese una gripe. Es una enfermedad que avanza continuamente. La atención médica es como para una enfermedad normal o una gripe. No me atienden muy bien en la atención sanitaria. En Barcelona en Jiménez Díaz te operan y a los 3 días te mandan a casa. Me cosen con hilo normal y debería de ser con cuerda.</i>
Región de Murcia	<i>Tiene un 15% de discapacidad y quiere que le pidan más.</i>

Como se puede observar, el tema de las derivaciones a médicos que conocen la enfermedad es una petición reiterativa. En algunos casos, critican el actual sistema de asistencia sanitaria, e incluso plantean algo que ya hacen muchos pacientes de enfermedades raras hoy en día: empadronarse en la comunidad autónoma donde desean recibir la asistencia sanitaria.

Conclusiones

La alta participación denota la gran implicación de los afectados en la investigación de la enfermedad.

Los datos en relación a la petición de **estudio genético** por parte de los clínicos ponen de manifiesto la poca importancia que se le da a esta prueba diagnóstica, lo cual es un hallazgo común en la atención sanitaria a otras enfermedades raras. En muchas ocasiones no se da la debida importancia al diagnóstico genético, que facilitaría el diagnóstico de familiares en riesgo y en los que la detección precoz de las manifestaciones puede permitir la intervención precoz.

La mayor parte de los pacientes son seguidos en **Medicina Interna**, desde donde se coordina la petición de las diferentes pruebas y atención de otros Servicios. El segundo Servicio más frecuente es **Neurocirugía de la Fundación Jiménez Díaz**, donde se creó una Unidad específica de la enfermedad VHL en el año 2012, y que actualmente es donde se agrupa el mayor número de pacientes en seguimiento a nivel nacional (*Fuente: Alianza VHL*). Entre estos dos servicios, se atiende de forma coordinada al 53% de los pacientes. Hay un preocupante 21% que no tiene un médico responsable de coordinar su seguimiento.

Registrar otras **patologías concomitantes** nos ha permitido constatar una alta frecuencia de patología tiroidea, que debería ser motivo de estudio por si pudiera tratarse de una entidad asociada a la enfermedad VHL no descrita anteriormente en la literatura.

La realización de estudios de este tipo, encuestando directamente a los pacientes, nos da la oportunidad de conocer variables que no se recogen en la historia clínica. Si bien es fundamental la sintomatología clínica de los afectados, hay otros aspectos que pueden ofrecernos valiosa información y que vienen a complementar los datos recogidos de forma reglada durante las entrevistas médico-paciente. Los datos recogidos aquí vienen a completar el boceto que tenemos actualmente de la enfermedad VHL en España y de la atención integral que se le da, que como hemos puesto de manifiesto, todavía tiene muchos aspectos que mejorar, a todos los niveles.

La dificultad de investigar en España con muestras humanas en fresco

Desde el año 2001 he trabajado como voluntaria en la Alianza VHL. No ha sido hasta fechas recientes (2013) que desde la asociación hemos comenzado a plantear a los investigadores básicos proyectos de investigación propios e innovadores. A partir de entonces he conocido muchos de los problemas a los que se enfrenta la investigación independiente en nuestro país. Si bien la investigación académica no recibe el apoyo necesario para dar forma a todo el conocimiento e ideas que surgen en este ámbito, la situación es aún peor cuando las ideas nacen en el seno de una pequeña asociación de pacientes de una enfermedad, a lo que se añade la circunstancia de tratarse de una *enfermedad rara*.

La legislación desarrollada y todos los procedimientos que se han ideado desde nuestras instituciones, no han sido pensados para la excepcionalidad sino para la generalidad, y así la **Ley 14/2007 de Investigación biomédica** vino a complicar el desarrollo de determinados proyectos de investigación, debido a las condiciones restrictivas del uso futuro de muestras donadas por pacientes que podían ser los únicos con la enfermedad en sus familias, y que pueden haber fallecido en el momento en que surja un posible proyecto de investigación en la misma, de forma que no pueden dar el consentimiento para el uso de su muestra en una nueva línea de investigación.

De la misma manera, la legislación de **protección de datos de carácter personal** ha complicado notablemente el desarrollo de la investigación clínica en enfermedades raras. Cuando investigamos una enfermedad común es relativamente sencillo contar con muchos posibles pacientes candidatos para nuestros estudios, pero no así cuando se trata de una enfermedad poco frecuente... y no digamos cuando hablamos de una ultrarrara. Estos pacientes están condenados al olvido y a que la investigación de su enfermedad encuentre múltiples obstáculos, que muchas veces parecen insalvables.

Con este apartado pretendo dar a conocer los pasos que he dado para tratar de salvar estos obstáculos, y que quizás puedan ser útiles para los investigadores independientes y académicos de otras enfermedades raras. Poder contar con muestras biológicas de los pacientes con enfermedades raras para investigación, facilitaría el desarrollo de la medicina personalizada en un campo tan necesario como el de estas enfermedades tan desconocidas, y que carecen en la mayoría de los casos de investigación básica, y de modelos animales.

A la búsqueda de tumores VHL

Cuando desde la Alianza VHL empezamos a plantearnos financiar proyectos de investigación en la enfermedad, nos encontramos con la dificultad añadida de la **obtención de muestras tumorales de pacientes** para desarrollar los cultivos celulares primarios para poder investigar. Las muestras con las que se trabaja habitualmente en los laboratorios de investigación suelen ser líneas celulares animales, inmortalizadas, pero nuestro objetivo era conseguir muestras VHL en fresco, excedentes de cirugía, con el objetivo de obtener en el laboratorio cultivos primarios originados a partir de tumores de pacientes, con los que llevar a cabo los experimentos.

Habitualmente no suele existir conexión entre los investigadores básicos de una enfermedad concreta y los clínicos que realizan el seguimiento de los pacientes que la sufren. Esta desconexión entre ambos grupos de investigadores ocurre también en patologías prevalentes – como cáncer de mama – donde es habitual trabajar con líneas celulares animales.

La **investigación en VHL** representaba un triple desafío, pues se trataba de:

1. Conseguir muestras de una enfermedad rara, por lo que no tendríamos tantas muestras como en otras enfermedades más frecuentes... o al menos no en un corto plazo de tiempo.
2. Necesariamente tenían que ser humanas, por no existir líneas celulares de animales VHL.
3. Tenían que ser muestras en fresco para cultivar inmediatamente tras la cirugía.

Además se hacía necesario contar con la colaboración de múltiples Servicios clínicos, dado que las muestras tumorales pueden provenir de diferentes órganos (SNC, riñón, glándula suprarrenal, oído interno...).

Como responsable de investigación de la Alianza VHL, en el **año 2015** contacté con el Dr. Francisco de Luna, del **Banco Nacional de Tumores del CNIO**. La *Red Nacional de Biobancos* es una fuente importante de muestras para experimentación, pero desgraciadamente la mayoría de las muestras son fijadas para su estudio. Las colecciones de tejidos de las que se dispone son extensas, y son útiles para determinados estudios, pero no nos servían para el primer objetivo de nuestra investigación, la obtención de cultivos de tejidos VHL **para experimentación en el laboratorio, con medicamentos, estudio de biomarcadores, y actualmente**

xenografts. Mantuvimos una reunión con el Dr. de Luna en la que nos propuso el establecimiento de un procedimiento normalizado de trabajo (PNT) para la obtención de las muestras en fresco, lo cual suponía un *cambio en el modo de trabajar de los biobancos, introduciendo el manejo de muestra en fresco y preparación para cultivo posterior*. Este procedimiento incluía la creación de una **alerta** a través de la Red de Biobancos, de forma que en cuanto llegara una muestra procedente de una cirugía de un paciente VHL al Servicio de Anatomía Patológica de cualquier hospital de la red, se activaría un protocolo para envío de una parte de ese material al laboratorio CIB 109. Sin embargo, poco tiempo después de esta reunión nos comunicó que en ese momento era inviable llevarlo a cabo.

La imposibilidad de la Red Nacional de Biobancos de colaborar supuso un desafío para nuestra investigación, por lo que tuvimos que plantear la recogida de muestras VHL **contando directamente con los propios pacientes**, como habíamos estado haciendo inicialmente, pero ampliando el número de hospitales remitentes de muestras.

Desarrollo del procedimiento de obtención de muestras humanas para investigación *in vitro*

La utilización de muestras humanas con fines de investigación está regulada en nuestro país por la **Ley 14/2007, de Investigación Biomédica**, y la autorización para la salida de muestras del centro se regula en el *Capítulo III, Utilización de muestras biológicas humanas con fines de investigación biomédica*:

Artículo 62. *Informe del Comité de Ética de la Investigación. Será preciso, en todo caso, el informe favorable del Comité de Ética de la Investigación correspondiente al centro para la obtención y utilización de muestras biológicas para investigación biomédica y para estudios de biodiversidad, en particular cuando se haya previsto la utilización de muestras biológicas procedentes de personas fallecidas o cuando se pretenda la incorporación de una muestra biológica a una línea de investigación no relacionada con aquella para la que se obtuvo inicialmente consentimiento.*

La Alianza VHL mantiene un estrecho contacto con los pacientes a través de su presidenta, Susi Martínez. En las sucesivas reuniones anuales desde el año 2013 se ha explicado a los pacientes este proyecto de investigación, así como a los médicos que colaboran con la asociación, y con el lema **“un regalo que sólo tú puedes dar”**, se ha publicitado en la página web de la Alianza VHL y en las redes sociales. La

respuesta ha sido muy positiva, y actualmente muchos afectados avisan a la asociación cuando les programan una cirugía, y facilitan una forma de contacto con su cirujano.

Para cumplir con la legislación vigente, se redactó un protocolo consensuado con los investigadores básicos, que debía presentarse para su aprobación y autorización del estudio a los más de 100 Comités de Ética de la Investigación (CEI) de toda España. El estudio se tituló “***Obtención de cultivos celulares primarios de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau y estudio de biomarcadores***” y se remitió al Comité Ético de la Investigación Clínica (CEIC) del Complejo Hospitalario de Toledo, el cual lo aprobó solicitando algunas modificaciones, principalmente reflejando la necesidad de que las muestras salieran desde el biobanco del hospital tras la firma de un documento de cesión de muestras. El dictamen de conformidad se recoge en el ***Anexo I***.

En el **año 2017** se remitió el protocolo a varios CEIC para su valoración, obteniéndose el dictamen favorable de los CEIC de Cantabria, Hospital Dr. Pesset (Valencia) y Hospital Central de la Defensa (Madrid).

Durante el año 2018 se envió el protocolo a unos **80 Comités de Ética**, localizados a través de la página web de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), <https://www.aemps.gob.es/investigacionClinica/ceicsca.do>. Sólo dos respondieron positivamente, aprobando el protocolo y autorizando la salida de muestras en caso de que hubiera un paciente que quisiera donar: Hospital Clínico San Carlos y Fundación Jiménez Díaz (Madrid). Muchos centros remitieron una respuesta negativa, informando de que ni siquiera iban a valorar el estudio si no se proponía un ***investigador en el centro***. Hay que matizar que la investigación no se iba a llevar a cabo en ninguna de sus fases en el centro, ni se solicitaba en ningún momento datos de carácter personal de los pacientes, ni de la historia clínica, puesto que son los propios pacientes los que contactan con la asociación y nos facilitan estos datos de forma directa (incluidos los informes médicos). Por otro lado, actualmente la asociación no mantiene contacto con médicos de todos los posibles centros de donde pueda proceder una muestra futura; sin embargo, es necesario que el estudio esté aprobado cuando surja la posibilidad de donación.

En aquellos centros en los que conocíamos algún médico que pudiera colaborar, le solicitamos que firmara el compromiso del investigador. El centro que más nos interesaba era la **Fundación Jiménez Díaz (FJD)**, donde en el año 2010 el entonces jefe de Servicio de Neurocirugía, Dr. José María de Campos Gutiérrez, había

propiciado la creación de una **Unidad de Neurooncología familiar**, y una **consulta específica de VHL**. El Dr. de Campos llevaba más de 10 años atendiendo pacientes VHL procedentes de toda España, a los que atendió inicialmente en el Hospital del Río Hortega, Valladolid, cuando también era responsable del Servicio de Neurocirugía de dicho hospital. La Alianza VHL informó en su momento a todos los afectados de la creación de la consulta VHL en la FJD, de forma que a todos aquellos pacientes que necesitaban una segunda opinión, se les recomendaba que acudieran a dicho centro.

Con el Dr. JM de Campos se había iniciado el proyecto de donación de muestras tumorales en el **año 2013**, con los excedentes de neurocirugía (hemangioblastomas del SNC), los cuales eran llevados al Hospital General Universitario de Albacete en virtud de un convenio de colaboración con la Alianza VHL, para obtener los cultivos. Posteriormente, desde el Hospital de Albacete, la Dra. Gemma Serrano (investigadora principal en el centro) facilitaba los cultivos al laboratorio CIB 109, para el primer proyecto de investigación *in vitro* con medicamentos que llevamos a cabo, el **estudio del efecto del propranolol** a diferentes concentraciones en cultivos de hemangioblastomas, y que dio lugar a una primera publicación¹⁰⁵.

El médico que realiza actualmente el seguimiento de la mayoría de los pacientes en la Fundación Jiménez Díaz es el Dr. Daniel Aguirre Mollehuanca, neurocirujano, quien actúa también como gestor de casos. El Dr. Aguirre aceptó participar en el proyecto de obtención de cultivos, y firmó el compromiso de investigador principal en su centro a principios de 2018. La documentación fue remitida al Comité de Ética de investigación del centro, y tras las aclaraciones oportunas requeridas por el Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos (CEIm), en abril de 2018 el centro autorizó el proyecto.

Colección de muestras

Cada Comité de Ética revisa y solicita aclaraciones o modificaciones de los estudios que se pretenden llevar a cabo en sus centros según sus propios protocolos internos, y así, uno de los requisitos que solicitó la FJD para aprobar el estudio fue que la colección de muestras tumorales humanas VHL que se estaba generando estuviera registrada en el **Registro de Biobancos (sección Colecciones)** del **Instituto de Salud Carlos III**. El trámite de registro de una colección es sencillo, se puede realizar online, y con ello queda constancia oficial de la existencia de dicha colección. La nuestra quedó registrada bajo la responsabilidad de la Dra. Luisa María Botella - jefe del laboratorio CIB 109 - el 15 de febrero de 2018, bajo el título **“Bases moleculares, diagnóstico genético y búsqueda de terapias de 2 enfermedades raras con**

afectación vascular: HHT y VHL”. Esto es así porque en el laboratorio CIB 109 también tienen muestras de pacientes con telangiectasia hemorrágica hereditaria (HHT), pues es la otra enfermedad rara que se investiga en este laboratorio.

The screenshot shows a web browser window with the URL <https://biobancos.isciii.es/ListadoColecciones.aspx?id=C.0004778>. The page header includes the logo of the Spanish Government and the Instituto de Salud Carlos III. The main content area displays the following information:

Detalle de la Colección C.0004778

Fecha de comunicación: 15/02/2018

Responsable de la colección: Botella Cubells, Luisa-Maria

Dirección profesional: Centro de Investigaciones Biológicas, calle Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid, Madrid

Proyecto de investigación inicial: BASES MOLECULARES, DIAGNOSTICO GENETICO Y BUSQUEDA DE TERAPIAS DE 2 ENFERMEDADES RARAS CON AFECTACION VASCULAR: HHT Y VHL. SAF2014-52374-R

Línea de investigación: Bases Moleculares y búsqueda de terapias para la enfermedad de VHL, incluida en el proyecto anterior

Tipo y Origen de las muestras conservadas:

Tipo	Origen
sangre y excedentes de cirugías	sangre, hemangioblastoma de médula, cerebelo, bulbo, carcinoma renal células claras, feocromocitoma, paraganglioma, tumor saco endolinfático, adenocarcinoma ligamento ancho

Situación de la donación de muestras en otros centros de toda España

Dado que en el resto de los centros había bastantes problemas, con la intención de conseguir un dictamen único que sirviera para toda España solicitamos la valoración del protocolo al **Comité de Ética del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)**, donde se encuentra también ubicado el Instituto de Investigación en Enfermedades Raras. No recibimos respuesta directa desde este comité, pero en conversación con unos de los miembros de dicho Comité - la Dra. Teresa Pampols -, me informó que dado que la investigación que proponíamos no iba a realizarse en ningún centro hospitalario ni se iban a utilizar recursos del centro, no tendría porqué haber ningún problema ejecutar para la donación de las muestras, siempre que existiera un documento de consentimiento informado firmado por el paciente donante, y se informara al cirujano del proyecto. Nos recomendó que cuando un paciente fuera a ser intervenido y quisiera donar sus muestras, contactáramos directamente con el médico para que facilitara el envío de la muestra. Que el médico coopere enviando una muestra dando soporte a su paciente que quiere donarla para investigación, no presentaría un problema ético sino benéfico, y por otro lado, conseguir la autorización a los CEIC de todos los hospitales españoles, siendo que no existe un proyecto a realizar en el hospital – sino el simple envío de la muestra -, puede resultar una labor imposible. Lo

que proponía la Dra. Pampols es algo que llevamos años realizando, habitualmente con buena colaboración y respuesta por parte de los cirujanos.

Nuestras dudas provienen de lo dispuesto en el **artículo 62 de la Ley 14/2007**, ya comentado anteriormente, y que establece la obligatoriedad de un informe favorable del Comité de Ética de la Investigación del centro.

Una vez más la excepcionalidad de una enfermedad rara, añadido a la excepcionalidad de que una asociación de pacientes sea el promotor de una investigación que se va a realizar fuera del centro hospitalario, es algo con lo que los legisladores no contaron cuando se redactó la Ley, y esto dificulta mucho cuando no bloquea completamente la investigación.

También cabría la posibilidad de utilizar el **Biobanco Nacional de Enfermedades Raras (BioNER)**, para depositar las muestras, acompañado de un consentimiento informado firmado por los pacientes. El titular del BioNER es el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), y la responsabilidad operativa y funcional de su gestión y dirección está atribuida al Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER). El Bioner forma parte del **Eurobiobanc**, por lo que las muestras podrían ser solicitadas por investigadores de otros países europeos. Lo injusto – por decirlo de alguna manera – de la situación era que las muestras donadas por los pacientes para la investigación de su enfermedad, oficialmente serían cedidas desde el BioNER para la investigación en el CIB, siendo que toda la organización y gestión de la donación se realiza desde la Alianza VHL.

Buscando alternativas, contacté con el Dr. Manuel Posada de la Paz, director del **Instituto de Investigación en Enfermedades Raras**, y le planteamos una colaboración para la obtención de excedentes tumorales a través del BioNER. El proyecto fue valorado por el Comité de Ética del ISCIII y en junio de 2018 recibimos el dictamen de aprobación del estudio, de forma que las muestras deberían tener como destino definitivo el Biobanco de Enfermedades Raras, aunque una parte fuera remitida al CIB 109. Para que se lleve a cabo la donación a través del BioNER, son necesarios **dos consentimientos informados del paciente**, además de **documento de acuerdo de cesión de muestras** (MTA, a firmar por la Dra. Botella como responsable del laboratorio destino de las muestras). Asimismo, el paciente debería inscribirse en el Registro de ER del ISCIII y enviar un informe clínico para que quede constancia de su condición de afectado VHL, y así dejar abierta la posibilidad de estudiar fenotipos y correlacionarlos con los genotipos.

La colaboración con el BioNER se utilizaría en aquellos casos en que los centros no han aprobado el protocolo, de forma que la muestra se remitiría desde el centro al CIB 109, donde se procedería a su cultivo, remitiendo posteriormente una parte de dicho cultivo al BioNER. El inconveniente de este circuito era el requisito de que todos los pacientes tenían que aportar todos sus informes médicos al BioNER. Si bien la Alianza VHL como asociación de pacientes puede mediar en este tema, de ninguna manera puede condicionar la recepción de una muestra a la aportación de una historia clínica que el paciente es libre de entregar o no, por lo que esta vía actualmente ha quedado en vía muerta.

Biobanco Vasco

Para seguir ampliando las posibles fuentes de muestras tumorales, en septiembre de 2018 mantuvimos una reunión con el Dr. Roberto Bilbao, director del Biobanco Vasco, para una puesta en común y tratar de plantear algún tipo de colaboración, puesto que el biobanco vasco están tratando de impulsar la investigación en enfermedades raras. Esta sería, de momento, la tercera vía de obtención de muestras, mediante un **convenio de colaboración**, de forma que serían ellos los receptores de los excedentes, y los cultivarían según el procedimiento previamente compartido por los investigadores del CIB, enviando posteriormente una parte del cultivo al CIB 109. Sin embargo nos encontramos con un nuevo problema, y es que el biobanco recepciona las muestras, pero no gestiona su envío desde los centros sanitarios, y la Alianza VHL tampoco puede realizar este cometido.

Biobanco de Extremadura

También en septiembre de 2018 quedó pendiente una reunión con la Dra. Sonia Mulero y otros facultativos del **Servicio de Genética de Extremadura**. Con ellos se pretendía seguir el mismo procedimiento, pues cuantos más sean los clínicos implicados desde sus propios centros, más fácil será conseguir todas las muestras posibles para obtener los cultivos primarios. Muchos de los cultivos se han utilizado para implantarlos en ratones inmunodeprimidos con el objetivo de tratarlos posteriormente con propranolol e ICI 118551 (xenografts). Otros cultivos se han utilizado en experimentos varios, y la colección tiene que seguir creciendo al ritmo que se van consumiendo los cultivos existentes.

En resumen, actualmente no hay unas claras directrices establecidas para conseguir crear una colección de muestras por parte de un grupo de investigadores independientes que no estén vinculados a un centro sanitario público.

La voluntad de los pacientes de donar sus muestras tumorales para investigación es un derecho que los CEI no respetan si no es imponiendo sus propias condiciones. En muchas ocasiones a lo largo de este trabajo he encontrado muy poca e incluso nula colaboración tanto por parte de los Comités de Ética como de los Departamentos de Salud o Consejerías de Sanidad de los cuales dependen, para que un paciente pueda cumplir con su deseo de donar una muestra de su tumor a un grupo de investigación de su enfermedad, para un proyecto que ya tiene varios dictámenes positivos de otros CEIC así como del Subcomité de Bioética del CSIC. Y todos estos problemas burocráticos no hacen sino aumentar las dificultades que tiene la investigación independiente y académica en nuestro país.

Las autoridades sanitarias y Administraciones públicas no han resuelto este grave problema de la investigación independiente en nuestro país. Por el contrario, hay todo tipo de facilidades cuando el promotor de un estudio es comercial, y aporta sustanciosas cantidades de dinero en concepto de “compensaciones económicas” para los centros e investigadores, lo que debería hacernos reflexionar en cuanto al verdadero sentido de la palabra “Ética”.

Investigación futura

Todo el trabajo realizado hasta ahora es parte de un proyecto orientado a encontrar un tratamiento efectivo para la enfermedad de von Hippel-Lindau, y con él se ha cumplido parte de mi objetivo inicial, que era **conseguir un grupo de investigadores básicos y clínicos que trabajaran conjuntamente con la asociación de pacientes, en la investigación de la enfermedad.**

Los pacientes de cualquier enfermedad son los primeros interesados en que la investigación de su propia enfermedad siga adelante. Son ellos los que más ayudarán a conseguir los medios para seguir investigando, y esto abarca desde la **donación de muestras** hasta la **aportación de sus propias historias clínicas y recaudación de fondos** para seguir financiando una investigación que puede no ser rentable para organismos públicos ni para empresas farmacéuticas, por el reducido número de personas que se beneficiarán.

Sin embargo, creo que la visión desde el punto de vista del gestor sanitario debería ser más amplia, pues la investigación en toda enfermedad trae beneficios para otras. En el caso de la enfermedad de von Hippel-Lindau, al tratarse de una enfermedad cancerosa donde estamos investigando sobre la angiogénesis, otras enfermedades cancerosas pueden beneficiarse de la misma investigación. La angiogénesis es un proceso necesario tanto para el crecimiento *in situ* como para la extensión a distancia de los tumores y generación de metástasis, que es en última instancia la responsable de la evolución fatal de la enfermedad cancerosa, por lo que su investigación es de una importancia primordial.

Otros fármacos

En estos años hemos seguido buscando otros posibles fármacos que pudieran ser efectivos en VHL. Propranolol es un betabloqueante β_1 y β_2 , y su afinidad por los receptores β_1 producen efectos cardiovasculares que hacen que su uso esté contraindicado en determinados pacientes. Puede utilizarse en la mayoría de los pacientes, pero se nos presenta un problema cuando el afectado es hipotenso, tiene un bloqueo cardíaco de segundo o tercer grado, o un síndrome del seno enfermo. Asimismo, no se debe utilizar cuando existe historial previo de asma bronquial o broncoespasmo, ni en pacientes con predisposición a hipoglucemia. Estas, entre otras, son contraindicaciones limitantes importantes.¹⁵¹

En el curso de nuestra investigación buscábamos otros betabloqueantes liposolubles, de forma que atravesaran la barrera hematoencefálica y pudieran ejercer efecto a nivel de los hemangioblastomas del SNC. Precisamente por esta razón la

cardioselectividad era una característica que descartaba a determinados betabloqueantes.

Afortunadamente encontramos en la bibliografía una molécula que había sido utilizada como medicamento comparador en diversos ensayos clínicos en los años 90,^{165,166} y que fue finalmente abandonada por no presentar efecto a nivel de frecuencia cardiaca y tensión arterial, precisamente las dos características que favorecerían su aplicación en nuestro caso. Esta molécula es **ICI 118551**, bloqueante β_2 altamente específico que estuvo protegido bajo patente durante unos años, pero que finalmente se abandonó por no haberle encontrado aplicación clínica.

Con la esperanza de que este nuevo medicamento pudiera funcionar, se comenzaron los experimentos en el laboratorio CIB 109 del CSIC, bajo la dirección de la Dra. Luisa M^a Botella. Los resultados de los primeros experimentos *in vitro* fueron positivos, por lo que se ampliaron, y ya se han publicado varios artículos, uno de ellos referenciado anteriormente en esta tesis:

The β_2 -adrenergic receptor antagonist ICI-118,551 blocks the constitutively activated HIF signalling in hemangioblastomas from von Hippel-Lindau disease.¹⁶⁷

Targeting β_2 -Adrenergic Receptors Shows Therapeutical Benefits in Clear Cell Renal Cell Carcinoma from Von Hippel–Lindau Disease.¹⁶⁸

Blockade of β_2 -Adrenergic Receptor Reduces Inflammation and Oxidative Stress in Clear Cell Renal Cell Carcinoma.⁹⁴

Como ya se ha explicado anteriormente, en el año 2018 se registró la solicitud conjunta de patente para VHL a nombre de la Alianza VHL y el CSIC,¹⁰⁸ y a principios de 2019 se licenció a una empresa farmacéutica con el objetivo de realizar el desarrollo del producto y llevarlo a ensayo clínico con pacientes VHL. A la fecha de finalización de este trabajo de tesis doctoral continúa el desarrollo del medicamento por parte del laboratorio.

Todo esto ha traído una nueva esperanza a los pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau, que ven que los esfuerzos conjuntos de todos están consiguiendo buenos resultados.

Conclusiones

Estudio de los tumores neuroendocrinos pancreáticos

De los resultados obtenidos en este estudio, podemos concluir que los TNEP de nuestra muestra de pacientes tienen unas características y un comportamiento clínico similares a los del Registro internacional European-American-Asian-VHL-PanNET-Registry, aunque con algunas diferencias importantes que podrían ser debidas al reducido tamaño de nuestra muestra.

La edad media de diagnóstico de los TNEP de nuestro estudio es similar a la descrita en las grandes series de la literatura, y el más frecuentemente implicado es el exón 3, con afectación destacada de los codones 161 y 167. Asimismo, el porcentaje de pacientes intervenidos quirúrgicamente es muy similar al del estudio PanNET-Registry (42,9% vs. 42,85%).

No obstante, se aprecian claras diferencias: en nuestra muestra hay una notable predominancia de mujeres (86% vs. 63% del registro internacional), mayor porcentaje de pacientes con TNEP múltiples (64% vs. 39%), menor tamaño medio de los tumores no metastásicos (17 mm vs. 20 mm), pancreatometomía total en un porcentaje mayor de pacientes españoles (83,3% vs. 15,4%) y un porcentaje de pacientes metastásicos muy inferior (7% vs. 20%). Estas diferencias podrían deberse a una mayor adherencia al protocolo de seguimiento por parte de los médicos especialistas españoles, lo que favorecería una detección en fases más tempranas, con un menor tamaño tumoral, y por ende, menor posibilidad metastásica, y propiciando una intervención quirúrgica precoz.

Estudio del efecto del propranolol en los hemangioblastomas VHL

Se confirma nuestra hipótesis de trabajo, pues ha quedado demostrada la eficacia de este betabloqueante en el control del crecimiento de estos tumores, tanto *in vitro* como *in vivo*.

De los resultados del ensayo clínico obtenidos podemos concluir que propranolol se ha mostrado eficaz en el control del crecimiento de los hemangioblastomas de retina, y parece ejercer un llamativo papel en la reabsorción de los exudados de retina preexistentes. Sin embargo, y dado que el número de pacientes de nuestro ensayo es muy reducido, serían precisos más ensayos clínicos con un mayor número de pacientes para confirmar los resultados observados.

Situación sociosanitaria de los pacientes VHL en España

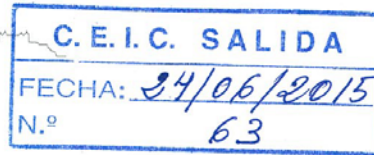
Las principales conclusiones de este estudio, en el que participaron 126 pacientes (equivalente al 10% de la población VHL estimada para España) son que el diagnóstico inicial y seguimiento de un elevado número de pacientes VHL españoles es claramente deficiente, con retrasos diagnósticos de años desde el inicio de los síntomas. El 24% tardó más de 5 años en recibir el diagnóstico, y el 13,5% más de 10 años, lo que implicaría que determinados tumores con potencial metastásico – como el carcinoma renal, el feocromocitoma o el TNEP - tengan la posibilidad de seguir creciendo sin ningún tipo de control médico.

Son especialmente llamativos los datos relacionados con el diagnóstico genético. A tres de los pacientes no se les había realizado porque el médico responsable no lo había considerado necesario dado que el paciente ya cumplía criterios clínicos, en otros cuatro pacientes se había realizado el diagnóstico genético del caso índice pero no se había considerado necesario realizar despistaje familiar, y en el 30% de los casos fue el propio paciente o su familia quien demandó la realización del estudio. Todas estas situaciones deberían hacer reflexionar a nuestras autoridades sanitarias sobre la falta de conciencia de la necesidad de realizar estudio genético en una enfermedad rara, cancerosa y hereditaria como esta. Sumado a que al 17% de pacientes no se les realiza protocolo de seguimiento y además se les suele denegar la derivación a centros o médicos con mayor experiencia en la enfermedad, nos lleva a pensar que el sistema sanitario deja atrapado al paciente en una situación de alto riesgo y sin expectativas de seguimiento y tratamiento adecuados.

Este estudio pone de relieve la necesidad urgente de una figura médica con suficientes conocimientos tanto de genética como clínicos de la enfermedad VHL que se responsabilice del seguimiento adecuado del paciente. Esta figura es la que ofrece la **especialidad médica de Genética Clínica**, no reconocida aún en nuestro país pero que es más que necesaria en enfermedades como esta, y cuya creación llevan ya muchos años demandando las asociaciones de pacientes de enfermedades raras... con mucha razón, como hemos podido comprobar, porque les va en ello la vida.

Anexos

Anexo I ~ Obtención de cultivos celulares primarios y estudio de biomarcadores



DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D. Fernando Jiménez Torres, Secretario del Comité Ético de Investigación clínica del "Complejo Hospitalario de Toledo".

CERTIFICA:

Que este Comité, en su reunión de fecha 24 de junio de 2015, ha evaluado las **Aclaraciones** del Promotor: **ALIANZA VHL (Asociación de pacientes de la enfermedad de Von Hippel-Lindau)**, en relación al ESTUDIO:

Título del Estudio: ESTUDIO OBTENCION DE CULTIVOS CELULARES PRIMARIOS DE PACIENTES CON LA ENFERMEDAD DE VON HIPPEL-LINDAU Y ESTUDIO DE BIOMARCADORES.

Código del Estudio: **VHL-HOPE-2015-1**.

V.1 de fecha abril de 2015.

Este Comité emite **DICTAMEN FAVORABLE**, para que se lleve a cabo el **Estudio**, siendo Inv. Principal: **Dra. Rosa M^a. Jimenez Escribano**. S^o. Oftalmología del Hospital Virgen de la Salud de Toledo.

Que el Comité tanto en su composición como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el Real Decreto 223/2004, y su composición actual es la siguiente:

Presidente:	Dr. Antonio Gómez Rodriguez
Vicepresidente:	D. David García Marco
Secretario:	Dr. Fernando Jiménez Torres
Vocales:	Dra. Enriqueta Muñoz Platón
	Dña. Manuela Martínez Camacho
	Dña. María Antonia Mareque Ortega
	Dr. Juan Carvajal Alonso
	Dr. Rafael Cuenca Boy
	Dña. M ^a Ángeles Jiménez Navarro
	Dr. Luis Fernando Viejo LLorente
	Dña. Elena Carrascoso Sánchez
	Dra. M ^a José Espinosa de los Monteros Garde
	Dra. Inés Martínez Galán
	D. Jesús Santos Del Cerro
	Dña. Alica Hanzeliková Pogrányivá
	D. Adrian Nodal de la Fuente

Anexo I - Obtención de cultivos celulares primarios y estudio de biomarcadores

COMPLEJO HOSPITALARIO DE TOLEDO

HOSPITAL VIRGEN DE LA SALUD
Avda. Barber, 30. 45004. Toledo. Teléfono 925 269200



[Faint handwritten notes or signatures]

Que en dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum perceptivo legalmente.

Lo que firmo en Toledo, 24 de junio de 2015.



Fdo: Fernando Jiménez Torres

I. DONACIÓN VOLUNTARIA DE MUESTRAS DE TUMORES PARA CULTIVO IN VITRO, DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD DE VON HIPPEL-LINDAU (VHL)

Objetivos, procedimientos y beneficios:

La utilización en investigación biomédica de muestras biológicas y datos biomédicos asociados de personas que padecen la enfermedad de von Hippel-Lindau (también conocida como VHL), es imprescindible para poder profundizar en el conocimiento de esta enfermedad y mejorar así su prevención, diagnóstico, pronóstico, seguimiento y tratamiento. El estudio en el que se le ofrece participar consiste en cultivar in Vitro células de tumores procedentes de excedentes de cirugía de pacientes VHL, a fin de estudiar el crecimiento de las mismas cuando son tratadas con compuestos químicos, conocer su comportamiento y buscar una terapia para tratar la enfermedad.

Se le ha ofrecido participar en este estudio de investigación porque en breve ha de someterse a una cirugía para extirparle uno de los tumores característicos de la enfermedad de von Hippel-Lindau. Su colaboración consistiría en donar un pequeño fragmento del tumor que van a extirparle. Esto no producirá ninguna molestia ni riesgo para usted, ya que se aprovecha parte del tumor extraído en la operación. Por el presente documento le solicitamos la donación voluntaria de muestras y datos asociados para su uso en investigación biomédica. Es posible que de su participación en este estudio no obtenga un beneficio directo, sin embargo, los resultados de los estudios sobre este tema podrían beneficiar en un futuro a usted o a otros pacientes que sufren la enfermedad.

Descripción del proceso:

- Se le informará sobre los objetivos de la investigación biomédica para la que se emplearán las muestras y se le responderá a las dudas que pueda plantear.
- Las muestras serán destinadas al Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, integrado en el Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), donde serán utilizadas en este proyecto de investigación, en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación vigente.
- Los resultados de este estudio serán tratados estadísticamente sin que se revele la identidad del donante.
- No percibirá ninguna compensación económica o de otro tipo por las muestras y datos proporcionados.

Molestias y posibles riesgos:

La donación no conlleva ningún riesgo adicional a la propia cirugía. Una vez extraído el tumor, una parte de él se destina al diagnóstico, y la parte sobrante no se utiliza para nada más. Es de esta parte de la que le solicitamos la donación.

Asimismo le pedimos su consentimiento para que autorice procesar y almacenar las muestras en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, integrado en el Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

La investigación biomédica con las muestras almacenadas se realizará en instalaciones debidamente acondicionadas, bajo la supervisión científica del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, del CSIC. La persona responsable de la custodia es la Dra. Luisa María Botella Cubells (cibluisa@cib.csic.es).

En caso de producirse la revocación de la autorización para la realización del estudio, la información sobre el destino de sus muestras estará a su disposición en el Centro de Investigaciones Biológicas, con el fin de que pueda manifestar su conformidad o disconformidad con el destino previsto. El tratamiento y

el análisis de la información biomédica obtenida de este estudio, serán llevados a cabo por las Dras. Luisa María Botella Cubells y Virginia Albiñana Díaz (CIB 109) y por el personal investigador designado por la Alianza VHL.

Lugar de realización del análisis y destino de las muestras: Le pedimos su consentimiento para que autorice a procesar y almacenar las muestras en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, del CSIC. Las muestras sobrantes se anonimizarán para su futuro uso en otras investigaciones relacionadas con la enfermedad de von Hippel-Lindau.

Protección de datos personales:

De conformidad con la normativa vigente en materia de protección de datos, usted consiente expresamente que se incorporen los datos epidemiológicos y de carácter personal aportados. La finalidad del fichero es recoger información de donantes y de sus muestras biológicas para la gestión global de este estudio. El acceso a su información personal quedará restringido al personal investigador mencionado anteriormente, que estará obligado a mantener la confidencialidad de la información de acuerdo a la legislación vigente.

En cualquier caso, usted tiene derecho a ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición de datos en el ámbito reconocido por la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre. El responsable del fichero es el Centro de Investigaciones Biológicas CIB 109. Para ejercer los derechos mencionados, y para cualquier duda, puede dirigirse por escrito mediante instancia dirigida al Centro de Investigaciones Biológicas CIB 109, Ramiro de Maeztu, 9 - 28040 Madrid – España.

Implicaciones de la información obtenida en el estudio:

Si decide participar en el estudio, es posible que del análisis de las muestras biológicas se obtenga información relevante para el tratamiento de la enfermedad de von Hippel-Lindau. De acuerdo con la legislación vigente, tiene derecho a ser informado de los resultados que se obtengan en el curso del estudio. Esta información se le comunicará si lo desea; en el caso de que prefiera no ser informado, su decisión se respetará.

Uso futuro de las muestras y datos:

Las muestras donadas se utilizarán exclusivamente en este proyecto de investigación. Al término del estudio y una vez obtenidos los resultados, los excedentes de las muestras se anonimizarán y se conservarán como colección para fines de investigación biomédica. Cualquier estudio de investigación para el que se solicite la utilización de estas muestras deberá disponer de la aprobación de un Comité de Ética de Investigación Clínica (CEIC), el cual vela para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales.

Le pedimos su consentimiento para que autorice el uso de la información biomédica resultante del estudio en futuros proyectos de investigación biomédica, nacionales e internacionales, debidamente aprobados por los comités que se establezcan según la legislación vigente, de acuerdo con los protocolos de funcionamiento establecidos al efecto.

Derecho de revocación del consentimiento:

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y cabe la posibilidad de que incluya alguna restricción sobre el uso de sus muestras. En caso de aceptar la realización de varias donaciones en el marco de un mismo proyecto, usted puede decidir dejar de participar en cualquier momento a lo largo del estudio. Si después de realizar la donación de muestras biológicas para esta investigación biomédica, usted cambia de opinión, puede solicitar la destrucción de las mismas contactando con el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109.

Le agradecemos sinceramente su colaboración.

I. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EXCEDENTES DE CIRUGÍA

Titulo del estudio: Obtención de cultivos celulares primarios de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau y estudio de biomarcadores

Promotor: Alianza de familias de von Hippel-Lindau

Investigadores principales: Luisa María Botella, Virginia Albiñana

Centros que se incluirán en el estudio: Centro de Investigaciones Biológicas (laboratorio CIB 109).

Nombre del paciente.....

D.N.I.

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados, lo cual se conoce como *consentimiento informado*. Puede preguntar con total libertad sobre cualquier duda que tenga al respecto. Si desea participar, firme el Consentimiento Informado, del cual se le entregará una copia firmada y fechada.

JUSTIFICACIÓN Y FINALIDAD DEL ESTUDIO

Hasta la fecha no existe un tratamiento farmacológico para el tratamiento de los tumores que aparecen en la enfermedad de von Hippel-Lindau. Mediante el presente estudio se pretende obtener cultivos in Vitro de tumores característicos de la enfermedad de von Hippel-Lindau, con el fin de estudiar el crecimiento de las mismas cuando son tratadas con compuestos químicos, conocer su comportamiento y buscar una terapia para tratar la enfermedad, así como estudiar los biomarcadores tumorales (sustancias que pueden aumentar cuando crecen los tumores).

Es posible que usted no reciba un beneficio directo de este trabajo de investigación. Sin embargo, las conclusiones que se obtengan del estudio se darán a conocer al mundo científico para contribuir al conocimiento de la enfermedad y su posible tratamiento.

Usted puede revocar esta autorización en cualquier momento.

ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, pudiendo informar o no de las razones de su decisión, la cual será respetada en su totalidad.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable.
- La información obtenida en este estudio será tratada con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores, según establece la Ley Orgánica de protección de datos de carácter personal 15/1999. Se mantendrá especial protección de su intimidad y se le garantiza la imposibilidad de identificación en comunicaciones o publicaciones científicas.
- La persona responsable de la correcta utilización de las muestras biológicas y su posterior anonimización para ser conservadas como colección con fines de investigación biomédica es la Dra. Luisa María Botella Cubells, del Centro de Investigaciones Biológicas CIB 109.

CONSENTIMIENTO INFORMADO – Obtención de cultivos celulares primarios de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau y estudio de biomarcadores

Yo, D/Dña.....con DNI.....he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos, y que mis datos personales serán tratados de forma anonimizada.

Estoy de acuerdo en participar de forma voluntaria en el estudio de INVESTIGACION sobre la enfermedad de von Hippel-Lindau que se está llevando a cabo en el Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC, cuya Investigadora Coordinadora es la Dra. Luisa M^a Botella, y que consiste en cultivar in Vitro muestras de tumores característicos de la enfermedad de von Hippel-Lindau, a fin de estudiar el crecimiento de las mismas cuando son tratadas con compuestos químicos, conocer su comportamiento y buscar una terapia para tratar la enfermedad, para el cual se me han explicado las condiciones siguientes:

- Para realizar este estudio se requiere la donación de tejido excedente de un tumor relacionado con la enfermedad VHL. Este procedimiento no produce ninguna molestia ni riesgo para mí.
- En relación con los resultados del estudio se me asegura que serán tratados de forma **confidencial** y se me comunicarán personalmente en caso de que lo solicite. Asimismo se me indica que estos resultados no serán comunicados a otros miembros de mi familia o a terceras partes sin mi consentimiento expreso.
- Mi participación es voluntaria, que puedo conocer el progreso de los estudios en cualquier momento, y que puedo **abandonar** el estudio sin que ello repercuta en la atención para el tratamiento de la enfermedad.
- Las muestras donadas serán utilizadas únicamente para este estudio.
- Los datos y los resultados obtenidos se podrán incluir en bases de datos, en cuyo caso se respetará la normativa vigente sobre la confidencialidad de los mismos. Los resultados estadísticos que proporcione la investigación usarán sólo los códigos numéricos y, en el caso de publicarse la información obtenida en el estudio, no se identificará como mía.
- Estos estudios van encaminados a un mejor conocimiento de esta enfermedad en el futuro.
- Al tratarse de un estudio de investigación no me supondrá ningún coste económico.
- Mi participación en este proyecto de INVESTIGACION es independiente, y no interferirá en ningún caso, con los resultados de otros estudios o pruebas médicas.
- Recibiré una copia firmada y fechada de esta carta de consentimiento.

Firma del participante o del padre o tutor

Fecha

Nombre del investigador.....

He explicado a..... la naturaleza y los propósitos de la investigación, así como los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la legislación vigente en materia de investigación biomédica y actuaré conforme a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procede a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

II. DONACIÓN VOLUNTARIA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS PARA DETECTAR Y CUANTIFICAR BIOMARCADORES RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD DE VON HIPPEL-LINDAU (VHL)

Objetivos, procedimientos y beneficios:

La utilización en investigación biomédica de muestras biológicas y datos biomédicos asociados de personas que padecen la enfermedad de von Hippel-Lindau (también conocida como VHL), es imprescindible para poder profundizar en el conocimiento de esta enfermedad y mejorar así su prevención, diagnóstico, pronóstico, seguimiento y tratamiento. Por el presente documento le solicitamos la donación voluntaria de muestras sanguíneas y datos asociados para su uso en investigación biomédica. Por norma general, la donación incluye muestras de sangre (4-6 tubos).

Si decide participar, usted podrá realizar una donación de sangre que permitirá estudiar la evolución en el tiempo de esta enfermedad.

Es posible que de su participación en este estudio no obtenga un beneficio directo, sin embargo, los resultados de los estudios sobre este tema podrían beneficiar en un futuro a usted o a otros pacientes que sufren la enfermedad.

Descripción del proceso:

- Se le informará sobre los objetivos de la investigación biomédica para la que se emplearán las muestras y se le responderá a las dudas que pueda plantear.
- Se realizará la obtención de las muestras biológicas necesarias para el estudio. Las muestras serán destinadas al Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, integrado en el Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), donde serán utilizadas en este proyecto de investigación, en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación vigente.
- Los resultados de este estudio serán tratados estadísticamente sin que se revele la identidad del donante.
- No percibirá ninguna compensación económica o de otro tipo por las muestras y datos proporcionados.

Molestias y posibles riesgos:

La toma de muestras de sangre le puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y ocasionar un pequeño hematoma o una leve infección que desaparece en pocos días. En alguna ocasión puede aparecer mareo en el momento de la extracción de la sangre.

Le pedimos su consentimiento para que autorice procesar y almacenar las muestras en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, integrado en el Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

La investigación biomédica con las muestras almacenadas se realizará en instalaciones debidamente acondicionadas, bajo la supervisión científica del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, del CSIC. La persona responsable de la custodia es la Dra. Luisa María Botella Cubells (cibluisa@cib.csic.es).

En caso de producirse la revocación de la autorización para la realización del estudio, la información sobre el destino de sus muestras estará a su disposición en el Centro de Investigaciones Biológicas, con el fin de que pueda manifestar su conformidad o disconformidad con el destino previsto. El tratamiento y el análisis de la información biomédica obtenida de este estudio, serán llevados a cabo por las Dras. Luisa María Botella Cubells y Virginia Albiñana Díaz (CIB 109) y por el personal investigador designado por la Alianza VHL.

Lugar de realización del análisis y destino de las muestras: Le pedimos su consentimiento para que autorice a procesar y almacenar las muestras en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, del CSIC. Las muestras sobrantes se anonimizarán para su futuro uso en otras investigaciones relacionadas con la enfermedad de von Hippel-Lindau.

Protección de datos personales:

De conformidad con la normativa vigente en materia de protección de datos, usted consiente expresamente que se incorporen los datos epidemiológicos y de carácter personal aportados. La finalidad del fichero es recoger información de donantes y de sus muestras biológicas para la gestión global de este estudio. El acceso a su información personal quedará restringido al personal investigador mencionado anteriormente, que estará obligado a mantener la confidencialidad de la información de acuerdo a la legislación vigente.

En cualquier caso, usted tiene derecho a ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición de datos en el ámbito reconocido por la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre. El responsable del fichero es el Centro de Investigaciones Biológicas CIB 109. Para ejercer los derechos mencionados, y para cualquier duda, puede dirigirse por escrito mediante instancia dirigida al Centro de Investigaciones Biológicas CIB 109, Ramiro de Maeztu, 9 - 28040 Madrid – España.

Implicaciones de la información obtenida en el estudio:

Si decide participar en el estudio, es posible que del análisis de las muestras biológicas se obtenga información relevante para el tratamiento de la enfermedad de von Hippel-Lindau. De acuerdo con la legislación vigente, tiene derecho a ser informado de los resultados que se obtengan en el curso del estudio. Esta información se le comunicará si lo desea; en el caso de que prefiera no ser informado, su decisión se respetará.

Uso futuro de las muestras y datos:

Las muestras donadas se utilizarán exclusivamente en este proyecto de investigación. Al término del estudio y una vez obtenidos los resultados, los excedentes de las muestras se anonimizarán y se conservarán como colección para fines de investigación biomédica. Cualquier estudio de investigación para el que se solicite la utilización de estas muestras deberá disponer de la aprobación de un Comité de Ética de Investigación Clínica (CEIC), el cual vela para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales.

Le pedimos su consentimiento para que autorice el uso de la información biomédica resultante del estudio en futuros proyectos de investigación biomédica, nacionales e internacionales, debidamente aprobados por los comités que se establezcan según la legislación vigente, de acuerdo con los protocolos de funcionamiento establecidos al efecto. Los datos personales de pacientes serán previamente disociados, de modo que la información que se obtenga no pueda ligarse en modo alguno a persona identificada o identificable.

Derecho de revocación del consentimiento:

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y cabe la posibilidad de que incluya alguna restricción sobre el uso de sus muestras. En caso de aceptar la realización de varias donaciones en el marco de un mismo proyecto, usted puede decidir dejar de participar en cualquier momento a lo largo del estudio. Si después de realizar la donación de muestras biológicas para esta investigación biomédica, usted cambia de opinión, puede solicitar la destrucción de las mismas contactando con el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109.

Le agradecemos sinceramente su colaboración.

II. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MUESTRAS SANGUÍNEAS

Título del estudio: Obtención de cultivos celulares primarios de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau y estudio de biomarcadores

Promotor: Alianza de familias de von Hippel-Lindau

Investigadores principales: Luisa María Botella, Virginia Albiñana

Centros que se incluirán en el estudio: Complejo Hospitalario de Toledo y Centro de Investigaciones Biológicas (laboratorio CIB 109).

Nombre del paciente.....

D.N.I.

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados, lo cual se conoce como *consentimiento informado*. Puede preguntar con total libertad sobre cualquier duda que tenga al respecto. Si desea participar, firme el Consentimiento Informado, del cual se le entregará una copia firmada y fechada.

JUSTIFICACIÓN Y FINALIDAD DEL ESTUDIO

Hasta la fecha no existe un tratamiento farmacológico para el tratamiento de los tumores que aparecen en la enfermedad de von Hippel-Lindau. Mediante el presente estudio se pretende estudiar los biomarcadores tumorales – sustancias que pueden aumentar cuando crecen los tumores -, con el fin de determinar su posible aplicación en un futuro para frenar el crecimiento de los tumores.

Es posible que usted no reciba un beneficio directo de este trabajo de investigación. Sin embargo, las conclusiones que se obtengan del estudio se darán a conocer al mundo científico para contribuir al conocimiento de la enfermedad y su posible tratamiento.

Usted puede revocar esta autorización en cualquier momento.

ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, pudiendo informar o no de las razones de su decisión, la cual será respetada en su totalidad.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable.
- La información obtenida en este estudio será tratada con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores, según establece la Ley Orgánica de protección de datos de carácter personal 15/1999. Se mantendrá especial protección de su intimidad y se le garantiza la imposibilidad de identificación en comunicaciones o publicaciones científicas.
- La persona responsable de la correcta utilización de las muestras biológicas y su posterior anonimización para ser conservadas como colección con fines de investigación biomédica es la Dra. Luisa María Botella Cubells, del Centro de Investigaciones Biológicas CIB 109.

CONSENTIMIENTO INFORMADO – Obtención de cultivos celulares primarios de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau y estudio de biomarcadores

Yo, D/Dña.....con DNI.....he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos, y que mis datos personales serán tratados de forma anonimizada.

Estoy de acuerdo en participar de forma voluntaria en el estudio de INVESTIGACION sobre la enfermedad de von Hippel-Lindau que se está llevando a cabo en el Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC, cuya Investigadora Coordinadora es la Dra. Luisa M^a Botella, y que consiste en estudiar el efecto del propranolol en cultivos celulares procedentes de muestras de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau, para el cual se me han explicado las condiciones siguientes:

- Que para realizar este estudio se requiere la extracción de una muestra de mi sangre. Este procedimiento no produce ni más molestias ni más riesgos que los de cualquier análisis de sangre convencional. También me han explicado que pudiera ser necesario la obtención de nuevas muestras de sangre adicionales para completar el estudio.
- Que en relación con los resultados del estudio se me asegura que serán tratados de forma **confidencial** y se me comunicarán personalmente en caso de que lo solicite. Asimismo se me indica que estos resultados no serán comunicados a otros miembros de mi familia o a terceras partes sin mi consentimiento expreso.
- Que mi participación es voluntaria, que puedo conocer el progreso de los estudios en cualquier momento, y que puedo **abandonar** el estudio sin que ello repercuta en la atención para el tratamiento de la enfermedad.
- Que las muestras (sangre o tejidos excedentes de tumores) serán utilizadas únicamente para medir el efecto de este fármaco sobre las mismas.
- Que los datos y los resultados obtenidos se podrán incluir en bases de datos, en cuyo caso se respetará la normativa vigente sobre la confidencialidad de los mismos. Los resultados estadísticos que proporcione la investigación usarán sólo los códigos numéricos y, en el caso de publicarse la información obtenida en el estudio, no se identificará como mía sin mi permiso.
- Que estos estudios van encaminados a un mejor conocimiento de esta enfermedad en el futuro.
- Que al tratarse de un estudio de investigación no me supondrá ningún coste económico.
- Que mi participación en este proyecto de INVESTIGACION es independiente, y no interferirá en ningún caso, con los resultados de otros estudios o pruebas médicas.
- Recibiré una copia firmada y fechada de esta carta de consentimiento.

Firma del participante o del padre o tutor

Fecha

Nombre del investigador.....

He explicado a..... la naturaleza y los propósitos de la investigación, así como los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la legislación vigente en materia de investigación biomédica y actuaré conforme a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procede a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

ANEXO III. INSTRUCCIONES PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS para la obtención de cultivos celulares primarios de pacientes con la enfermedad de von Hippel-Lindau

Muestras a enviar:

- Excedentes de tumores con la mutación VHL: hemangioblastomas, carcinoma renal, feocromocitoma, tumor neuroendocrino pancreático, tumor de saco endolinfático, en el contexto de la enfermedad de von Hippel-Lindau.

Almacenaje de las muestras hasta su envío. Todas las muestras se conservarán en un medio enriquecido (RPMI o DMEM complementado con 10% ó 20% de suero fetal bovino) y en su defecto, en suero fisiológico y a temperatura ambiente. Las muestras deben llegar lo antes posible a Madrid, por lo que, si el envío no garantiza que la muestra llegue antes de las 17:00 horas, se avisará al laboratorio CIB 109 para organizar la recogida a través de uno de los investigadores. Tfno.: 91 837 31 12. Ext. 4312.

Envío de las muestras. Se avisará mediante correo electrónico (cibluisa@cib.csic.es) a la Dra. Luisa María Botella, quien avisará a la empresa de mensajería (Envia para llegada al laboratorio el mismo día antes de las 17:00 o MRW para llegada al día siguiente antes de las 10:00) para la recogida. Si fuera imposible la petición por email, podría avisarse llamando al tfno.: 616 46 05 34. Es preferible que la petición se encargue en días anteriores a la cirugía. En caso necesario, la petición podrá hacerse la mañana del mismo día de la cirugía, hasta las 17:00 para que la muestra pueda llegar al día siguiente al laboratorio.

Los envíos se realizarán de lunes a viernes.

En la petición de envío se indicarán los siguientes datos:

- Fecha y hora de recogida
- Hospital y Servicio
- Dirección y teléfono
- Persona de contacto

Dirección de envío:

Luisa María Botella
Centro de Investigaciones Biológicas. CSIC
Calle Ramiro de Maeztu, 9, casilla 22
28040. Madrid

Anexo II. Hojas de información al paciente y consentimientos informados.

I. DONACIÓN VOLUNTARIA DE MUESTRAS DE TUMORES PARA CULTIVO IN VITRO, DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD DE VON HIPPEL-LINDAU (VHL)

Objetivos, procedimientos y beneficios:

La utilización en investigación biomédica de muestras biológicas y datos biomédicos asociados de personas que padecen la enfermedad de von Hippel-Lindau (también conocida como VHL), es imprescindible para poder profundizar en el conocimiento de esta enfermedad y mejorar así su prevención, diagnóstico, pronóstico, seguimiento y tratamiento. El estudio en el que se le ofrece participar consiste en cultivar in Vitro células de tumores procedentes de excedentes de cirugía de pacientes VHL, a fin de estudiar el crecimiento de las mismas cuando son tratadas con compuestos químicos, conocer su comportamiento y buscar una terapia para tratar la enfermedad.

Se le ha ofrecido participar en este estudio de investigación porque en breve ha de someterse a una cirugía para extirparle uno de los tumores característicos de la enfermedad de von Hippel-Lindau. Su colaboración consistiría en donar un pequeño fragmento del tumor que van a extirparle. Esto no producirá ninguna molestia ni riesgo para usted, ya que se aprovecha parte del tumor extraído en la operación. Por el presente documento le solicitamos la donación voluntaria de muestras y datos asociados para su uso en investigación biomédica. Es posible que de su participación en este estudio no obtenga un beneficio directo, sin embargo, los resultados de los estudios sobre este tema podrían beneficiar en un futuro a usted o a otros pacientes que sufren la enfermedad.

Descripción del proceso:

- Se le informará sobre los objetivos de la investigación biomédica para la que se emplearán las muestras y se le responderá a las dudas que pueda plantear.
- Las muestras serán destinadas al Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, integrado en el Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), donde serán utilizadas en este proyecto de investigación, en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación vigente.
- Los resultados de este estudio serán tratados estadísticamente sin que se revele la identidad del donante.
- No percibirá ninguna compensación económica o de otro tipo por las muestras y datos proporcionados.

Molestias y posibles riesgos:

La donación no conlleva ningún riesgo adicional a la propia cirugía. Una vez extraído el tumor, una parte de él se destina al diagnóstico, y la parte sobrante no se utiliza para nada más. Es de esta parte de la que le solicitamos la donación.

Asimismo le pedimos su consentimiento para que autorice procesar y almacenar las muestras en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, integrado en el Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

La investigación biomédica con las muestras almacenadas se realizará en instalaciones debidamente acondicionadas, bajo la supervisión científica del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) 109, del CSIC. La persona responsable de la custodia es la Dra. Luisa María Botella Cubells (cibluisa@cib.csic.es).

En caso de producirse la revocación de la autorización para la realización del estudio, la información sobre el destino de sus muestras estará a su disposición en el Centro de Investigaciones Biológicas, con el fin de que pueda manifestar su conformidad o disconformidad con el destino previsto. El tratamiento y

Anexo II ~ Efecto terapéutico de propranolol en los hemangioblastomas de retina

C.E.I.C. SALIDA
FECHA: 7/07/2014
N.º 80

DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D. Fernando Jiménez Torres, Secretario del Comité Ético de Investigación clínica del "Complejo Hospitalario de Toledo".

CERTIFICA:

Que este Comité, en su reunión de fecha 25 de junio de 2014, ha evaluado las **modificaciones** del Estudio:

Título del Estudio: EFECTO TERAPEUTICO DE PROPRANOLOL EN UNA SERIE DE PACIENTES CON ENFERMEDAD VON HIPPEL-LINDAU, Y HEMANGIOBLASTOMAS DE RETINA A CORTO, MEDIO Y LARGO PLAZO.

Versión 1 de fecha 22/03/2014.

Este Comité emite **DICTAMEN FAVORABLE** *al haberse recibido respuesta a las aclaraciones solicitadas por este CEIC con fecha 30/10/2013*, para que se lleve a cabo el Estudio en el Hospital Virgen de la Salud de Toledo, siendo las investigadoras principales: **Dras. María Isabel Soler y Rosa M^a. Jimenez. S^o. Oftalmología.**

Que el Comité tanto en su composición como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el Real Decreto 223/2004, y su composición actual es la siguiente:

Presidente:	Dr. Antonio Gómez Rodríguez
Vicepresidente:	D. David García Marco
Secretario:	Dr. Fernando Jiménez Torres
Vocales:	Dra. Enriqueta Muñoz Platón
	Dña. Manuela Martínez Camacho
	Dña. María Antonia Mareque Ortega
	Dr. Juan Carvajal Alonso
	Dr. Rafael Cuenca Boy
	Dña. M ^a Ángeles Jiménez Navarro
	Dr. Luis Fernando Viejo LLorente
	Dña. Elena Carrascoso Sánchez
	Dr. Jose Gil Sales
	Dra. M ^a José Espinosa de los Monteros Garde
	Dra. Inés Martínez Galán
	Dr. Jesús Santos Del Cerro
	Dña. Alica Hanzeliková Pogrányivá
	D. Adrian Nodal de la Fuente

Anexo II - Efecto terapéutico de propranolol en los hemangioblastomas de retina

COMPLEJO HOSPITALARIO DE TOLEDO

HOSPITAL VIRGEN DE LA SALUD
c/le. Barber, 30. 45004. Toledo. Teléfono 925 269200



Que en dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum perceptivo legalmente.

Lo que firmo en Toledo, 25 de junio de 2014.



Fdo.: Fernando Jiménez Torres

ANEXOS

Anexo I. LISTADO DE CENTROS HOSPITALARIOS E INVESTIGADORES PRINCIPALES.

Dra. María Isabel Soler Sanchís. Servicio de Oftalmología. Complejo Hospitalario de Toledo.
Dra. Rosa María Jiménez Escribano. Servicio de Oftalmología. Complejo Hospitalario de Toledo.

Anexo II. Exploración Física y Análisis Clínicos.

(Situación basal, a corto, medio y largo plazo durante el tratamiento del estudio)

Exploración física por cardiólogo

Pruebas complementarias:

- Electrocardiograma (E.C.G.)
- Medición de tensión arterial (T.A.) y frecuencia cardiaca (F.C.)

Exploración oftalmológica completa:

1. Agudeza visual (Test Bailey-Lovie)
2. Biomicroscopía.
3. Presión intraocular.
4. Oftalmoscopia indirecta.
5. Retinografías.

Pruebas de imagen:

- Angiofluoresceíngrafía.
- Tomografía de coherencia óptica.
- Ecografía ocular.
- RMN con contraste orbitaria y cerebral, para evaluar también los posibles hemangioblastomas preexistentes en encéfalo.

Extracción de sangre para subestudio de biomarcadores.

Anexo III. Cronograma. ESQUEMA DE SEGUIMIENTO DEL PACIENTE

Procedimiento	Selección(V0) (Día 1)	Visita 1 (a los 7 días de la visita basal)	Visita 2 (al mes de la visita 1)	Visita 3	Visita 4	Visita 5	Visita Fin de estudio. Visita 6
días	0-15	1	30 (1 mes)	90 (3 meses)	180 (6 meses)	270 (9 meses)	365 (1 año)
Consentimiento informado	X						
Historia clínica	X						
Medicación previa (revisar para evitar interacciones)	X						
Constantes vitales	X	X	X	X	X	X	X
Exploración física por cardiólogo (medición de T.A., FC y ECG)	X	X	X				
Exploración oftalmológica completa.	X	X	X	X	X	X	X
Exploración por radiólogo (RMN con contraste, orbitaria y craneal)	X						X
Mediciones antropométricas (peso corporal)	X						
Datos demográficos	X						
Instrucciones al paciente para la administración adecuada del tratamiento	X	X	X	X	X	X	X
Extracción de sangre para estudio de biomarcadores	X		X	X	X	X	X
Criterios inclusión/exclusión	X						
Dosis de propranolol (se recogerá en cuaderno de recogida de datos del investigador)		X	X	X	X	X	X
Diario del paciente (toma de TA y frecuencia cardíaca, así como dosis diaria de propranolol)	X	X	X	X	X	X	X
Entrega de Medicación		X	X	X	X	X	
Adherencia al tratamiento		X	X	X	X	X	X
Medicación concomitante	X	X	X	X	X	X	X
Reacciones alérgicas locales/sistémicas	X	X	X	X	X	X	X
Acontecimientos adversos y acontecimientos adversos graves	X	X	X	X	X	X	X

- Todos los datos obtenidos durante las visitas, deben quedar registrados en el CRD.

Anexo IV. HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Efecto terapéutico de propranolol en una serie de pacientes con enfermedad de von Hippel-Lindau, y hemangioblastomas de retina, a corto, medio y largo plazo.

En este centro se está llevando a cabo un estudio de investigación clínica al que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica, y se realizará de acuerdo a la legislación vigente. Su participación es voluntaria, y quedará confirmada, si así lo decidiera, mediante su firma al final de este documento. Esta hoja de información pretende ofrecerle a usted información completa para que valore y decida si quiere o no participar en el estudio. Lea esta hoja con atención, y pregunte al médico investigador las dudas que le surjan. También puede consultar con las personas que considere oportuno (familia, amigos, médico de cabecera), antes de decidirse. Sin embargo, considere la información que se le entregue en relación a este estudio como información confidencial.

¿PARA QUÉ SE VA A REALIZAR ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN?

Como usted sabe, los tumores de retina son una manifestación frecuente de la enfermedad de von Hippel-Lindau. Cuando aparecen cerca o encima del nervio óptico, las opciones actuales de tratamiento (fotocoagulación con láser y la crioterapia) conllevan pérdida de visión. Además estos tratamientos no impiden que vuelvan a salir nuevos tumores. También se han utilizado fármacos antiangiogénicos intravítreos, sin éxito. Por este motivo, se le invita a participar en este estudio para determinar si el efecto de un medicamento llamado propranolol, puede contribuir a controlar el crecimiento de un tumor en estas localizaciones, sin que se produzca pérdida de visión, así como a evitar que aparezcan nuevos tumores.

El tratamiento que se le ha propuesto es un uso fuera de indicación del medicamento llamado como propranolol. En esta hoja de información encontrará información detallada que le permitirá valorar si desea o no participar. En todo caso, su participación es libre y voluntaria. Se ha decidido iniciar este estudio porque hay estudios preliminares de laboratorio que parecen indicar que este medicamento podría ejercer un efecto beneficioso en los tumores de retina de la enfermedad de VHL. Como parte de este estudio, se pretende estudiar ciertos biomarcadores específicos relacionados con estos tumores (EPO, VEGF, FGF y endoglina soluble), que se encuentran en la sangre y que pueden ayudar a comprender el posible efecto del fármaco.

¿QUIÉNES SON LOS INVESTIGADORES?

Los investigadores del proyecto son médicos especialistas del Complejo Hospitalario de Toledo (oftalmólogos, cardiólogo y radiólogos), que es el centro donde se van a llevar a cabo las revisiones y pruebas necesarias para el estudio.

¿OBTENDRÉ ALGÚN BENEFICIO POR PARTICIPAR?

Mediante este estudio los investigadores pretenden determinar si el medicamento es eficaz en controlar el crecimiento de los tumores de retina, y si es capaz de disminuir su tamaño y las manifestaciones asociadas (exudación, etc.). En caso de que sea eficaz, se conseguirá controlar el crecimiento del tumor y por tanto, mantener la visión. En caso de ineficacia, el tumor seguirá la evolución natural de la enfermedad. No va a recibir remuneración alguna por su participación en este estudio.

SI ACEPTO PARTICIPAR, ¿QUÉ TENDRÉ QUE HACER?

Si usted acepta participar, se le abrirá historia clínica, se le realizarán una serie de pruebas y un seguimiento durante un periodo de un año. Tendrá que venir a las revisiones programadas para que los investigadores puedan valorar el efecto del tratamiento mediante las diferentes pruebas.

En cada visita se le realizará una extracción de sangre de 5 ml, para la determinación de los biomarcadores mencionados anteriormente, y ver cómo varían sus concentraciones antes y durante el tratamiento.

¿A QUÉ RIESGOS ME EXPONGO CON MI PARTICIPACIÓN?

Las pruebas médicas que se van a llevar a cabo son rutinarias en la atención médica. La extracción de sangre es una práctica habitual que cuando se realiza por personal técnico adecuado, no suele producir complicaciones, salvo ligeros hematomas. Las entrevistas se realizarán en las consultas de Oftalmología, antes de iniciar el tratamiento y durante el mismo. Se realizarán las siguientes visitas de seguimiento: a los 7 días de iniciado el tratamiento, al mes, 3, 6, 9 y 12 meses. Las entrevistas las realizarán las investigadoras, especialistas en Oftalmología.

En la primera visita se le abrirá historia clínica y se comprobará si es usted apto para el estudio. En todas las visitas se le realizarán una serie de pruebas (no en todas las visitas se realizarán todas las pruebas), que consistirán en:

- Electrocardiograma (E.C.G.)
- Medición de tensión arterial (T.A.) y frecuencia cardíaca (F.C.)
- Exploración oftalmológica completa: agudeza visual, medición de presión intraocular, oftalmoscopia indirecta, etc.
- RMN con contraste
- Extracción de sangre para estudio de biomarcadores

El medicamento que va a tomar se llama propranolol. Este es un fármaco que lleva muchos años comercializado, aunque no está indicado para los tumores de retina de la enfermedad de von Hippel-Lindau. Este medicamento se utiliza para el tratamiento de la hipertensión arterial, arritmias cardíacas, prevención de las migrañas, temblor esencial. Es un fármaco seguro y con muchos años de experiencia. Sin embargo, todos los medicamentos pueden producir reacciones adversas según la sensibilidad individual de cada persona, y por tanto propranolol puede producirle algún efecto adverso. **No podrá tomar este medicamento si** tiene alergia a este medicamento, o si tiene historial previo de asma bronquial o broncoespasmo, shock cardiogénico, hipotensión, acidosis metabólica, tras un ayuno prolongado, trastornos graves de la circulación arterial periférica, bloqueo cardíaco de segundo o tercer grado, síndrome del seno enfermo (con un antagonista del receptor alfa-adrenérgico), feocromocitoma no tratado, insuficiencia cardíaca no controlada y angina de Prinzmetal, o predisposición a hipoglucemia, es decir, pacientes tras un ayuno prolongado o pacientes con reservas limitadas contra-reguladoras.

Un cardiólogo va a realizarle un examen para asegurarse de que puede tomarlo. Para que conozca bien el tratamiento que ha de tomar, adjuntamos el prospecto del fármaco para que pueda leerlo con detenimiento y pueda consultar posteriormente todas las dudas que le surjan.

¿DÓNDE SE TRATARÁN Y GUARDARÁN LAS MUESTRAS DE SANGRE?

Las muestras de sangre se enviarán al CSIC, Centro Superior de Investigaciones Biológicas, laboratorio 109, cuyo responsable es la Dra. Luisa María Botella, para el estudio de biomarcadores que está llevando a cabo la Alianza VHL. Los resultados tanto de estos estudios como del estudio con propranolol serán analizados por grupos de investigadores expertos y podrán ser comunicados en reuniones, congresos médicos, publicaciones científicas, pero en ningún caso usted será identificado, manteniéndose en todo momento la confidencialidad.

¿QUÉ TENGO QUE HACER SI ACEPTO PARTICIPAR?

Si usted acepta participar, tendrá que firmar el formulario de consentimiento informado que se encuentra a continuación de esta Hoja de Información. Tómese el tiempo que necesite y no dude en preguntar si tiene alguna duda o necesita alguna aclaración adicional sobre cualquier aspecto del estudio, en

Anexo V. FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Investigador principal: Dra.
Yo (nombre y apellidos)

.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado
He podido hacer preguntas sobre el estudio
He recibido suficiente información sobre el estudio
He hablado con:

..... (Nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria
Comprendo que puedo retirarme del estudio

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del participante
Fecha:

Firma del investigador
Fecha:

**Anexo III ~ Estudio de la situación
socio sanitaria de los pacientes VHL en
España**

Encuesta de situación sociosanitaria para afectados de VHL en España

Mediante la presente encuesta se pretende recabar datos sobre su situación personal, con el fin de elaborar un estudio descriptivo sobre la situación sociosanitaria de los afectados por la enfermedad de von Hippel-Lindau en España.

Esta encuesta está diseñada para personas que padecen la enfermedad de von Hippel-Lindau. Es preferible que sea el propio afectado quien la cumplimente, pero si no fuera posible, un familiar cercano que conviva con el afectado puede hacerlo por él. Si hay más de un afectado en el núcleo familiar, rogamos se rellene una encuesta por cada afectado.

La encuesta consta de **49 preguntas**, y el tiempo que tardará en cumplimentarla será de unos 20 minutos aproximadamente. Algunas de las preguntas admiten varias respuestas, por lo que puede marcar todas aquellas que le parezcan correctas.

1. Comunidad Autónoma de residencia

2. ¿Qué edad tiene la persona afectada?

3. Sexo de la persona afectada

- Mujer
- Hombre

4. Perfil de quien rellena la encuesta:

- Persona afectada
- Cuidador (familia)
- Familiar (no cuidador)
- Cuidador (no familia)
- Otro:

5. ¿Hay más miembros con VHL en su familia?

- Sí
- No

6. ¿A qué edad aproximadamente fue diagnosticado de enfermedad de von Hippel-Lindau?

7. ¿Está recibiendo algún tipo de tratamiento o toma algún medicamento para tratar su enfermedad?

- Sí
- No

8. En caso afirmativo, díganos cuál



9. ¿Presenta algún tipo de enfermedad diferente a VHL?

- No
- Sí

10. En caso afirmativo, díganos cuál



REHABILITACIÓN Y TERAPIAS COMPLEMENTARIAS

Para muchos afectados es necesario el uso de determinadas terapias o tratamientos alternativos, complementarios a las cirugías. En este apartado analizaremos todo lo referente a rehabilitación y otras terapias.

11. ¿Necesita actualmente algún tipo de rehabilitación o terapia complementaria? Si la respuesta es "No", puede pasar directamente a la pregunta 17.

- Sí
- No, no la necesito

12. ¿Recibe alguno de estos tratamientos?

- Fisioterapia
- Logopedia
- Rehabilitación de deglución
- Hipoterapia (con caballos)
- Hidroterapia (balnearios)
- Terapia ocupacional
- Tratamiento psicológico
- Tratamiento psiquiátrico (con medicamentos)
- Yoga, tai chí
- Otro:

13. Frecuencia de la terapia

- 1 vez al mes
- 2 veces al mes
- 1 vez a la semana
- 2 veces por semana
- 3 ó más veces por semana
- Otro:

14. De las sesiones de terapia que usted recibe, ¿cuántas de ellas son realizadas en centros públicos o concertados? (es decir, usted no tiene que pagar nada)

- Todas
- Algunas
- Ninguna

15. Si tiene que pagar, ¿cuánto dinero invierte al mes en estas terapias?

16. ¿Recibe algún tipo de ayuda o prestación para financiar las sesiones de terapias complementarias?

- Sí, de entidades públicas (especificar de cuales, en el apartado "Otra")
- Sí, de entidades privadas (especificar de cuales, en el apartado "Otra")
- No, no recibo ningún tipo de ayuda o prestación
- Otro:

OTRAS PRESTACIONES

17. ¿Recibe algún tipo de prestación o prestaciones económicas?

- Pensiones contributivas
- Pensiones no contributivas
- Prestación familiar por hijo a cargo
- Prestación por ayuda de tercera persona
- Ayudas por movilidad y transporte
- Ayudas no periódicas
- Beneficios fiscales en IRPF
- Ayudas para medicamentos
- No cuento con ningún tipo de ayuda
- Otro:

18. ¿Tiene su vivienda adaptada a consecuencia de su enfermedad VHL?

- No necesito ninguna adaptación en mi vivienda
- Sí necesito adaptación, la vivienda está adaptada a mis necesidades

- Sí necesito adaptación, pero la vivienda NO está adaptada a mis necesidades
- Otro:

CUIDADORES

A continuación procederemos a abordar el tema de los cuidadores y cuidados que usted recibe.

19. Apoyos recibidos por otras personas

- Familiares residentes en el hogar
- Familiares no residentes
- Profesional especializado
- Profesional no especializado
- Allegado/a o voluntario/a
- No, no recibo apoyo alguno
- Otro:

20. ¿Necesita ayuda para realizar actividad durante el día o acompañamiento por la noche?

- Sí
- No

21. ¿Recibe ayuda de un cuidador o persona que le acompaña? Si la respuesta es "No", puede pasar directamente a la pregunta 24.

- Sí
- No

22. En cuanto al tipo de cuidador, éste es:

- Persona contratada
- Familiar
- Voluntario
- Otro:

23. ¿Cuál es el gasto que usted hace en el cuidador al mes? (indicar cifra en euros)

ASESORAMIENTO

24. ¿Quién le informa o aconseja cuando necesita algún tipo de ayuda?

- Mi familia
- Mi médico y/o enfermera
- Mis amigos

- Trabajador social de una asociación
- Trabajador social del Centro de Salud
- Trabajador social del Ayuntamiento
- Trabajador social de la Comunidad Autónoma
- Nadie
- Otro:

CERTIFICADO DE INCAPACIDAD LABORAL

25. ¿Cual es su situación laboral actual? Si la respuesta es "ocupado", pase directamente a la pregunta 28

- Ocupado
- Inactivo - Estudiante
- Inactivo - pensión de invalidez permanente
- Inactivo - incapacidad temporal
- Inactivo - jubilación
- Desempleado
- Otro:

26. ¿Tiene certificado de incapacidad laboral?

- No
- Sí

27. En caso afirmativo, ¿en qué grado?

- Incapacidad permanente parcial (50% de la base reguladora)
- Incapacidad permanente total
- Incapacidad permanente absoluta (100% de la base reguladora)
- Gran invalidez (150% de la base reguladora)

DISCAPACIDAD

28. ¿Sufre alguna discapacidad?

- No
- Auditiva
- Visual
- Motora (movimiento y coordinación)
- Otro:

29. Movilidad reducida: ¿tiene problemas para desplazarse?

- No
- Tengo cierto desequilibrio, pero me manejo sin ayuda

- Utilizo bastón o apoyo en otra persona
- Utilizo silla de ruedas
- Vida cama-sillón
- Otro:

30. ¿Tiene certificado de discapacidad? esto es, ¿le han valorado en una unidad de su comunidad autónoma para certificar dicha(s) discapacidad(es), y han emitido un certificado?

- No
- Sí
- Otro:

31. En caso afirmativo, ¿qué tanto por ciento de discapacidad figura en el certificado?

- Del 0 al 33%
- Del 34 al 64%
- Del 65 al 75%
- Más del 75%

CERTIFICADO DE DEPENDENCIA

32. ¿Tiene certificado de dependencia?

- No
- Sí

33. ¿Lo ha solicitado?

- No, no lo he solicitado
- Sí, estoy a la espera del resultado
- Sí, pero no me lo han concedido
- No sabe

34. En caso de que lo tenga, ¿qué grado de discapacidad le han concedido?

- Grado I - Dependencia moderada - Nivel I
- Grado I - Dependencia moderada - Nivel II
- Grado II - Dependencia severa - Nivel I
- Grado II - Dependencia severa - Nivel II
- Grado III - Gran dependencia - Nivel I
- Grado III - Gran dependencia - Nivel II

ATENCIÓN SANITARIA Y CONSULTAS

35. Desde las primeras manifestaciones de la enfermedad en su familia o desde que usted tuvo los primeros síntomas, hasta que le dieron el diagnóstico de enfermedad de von Hippel-Lindau, ¿cuánto tiempo pasó?

- Poco, menos de un año
- Entre 1 y 2 años
- Entre 2 y 3 años
- Entre 3 y 5 años
- Más de 5 años
- Más de 10 años
- Más de 15 años
- Más de 20 años
- Otro:

36. ¿Está satisfecho con la atención médica que recibe para su enfermedad VHL?

- En general, sí
- Estoy satisfecho con la atención de mi médico de familia, pero no de los especialistas que me atienden
- Estoy satisfecho con la atención de los especialistas, pero no con mi médico de familia
- No estoy satisfecho con la atención sanitaria que recibo
- Otro:

37. Aparte de en su comunidad autónoma, ¿va a consulta o recibe tratamiento en una comunidad autónoma distinta a la suya?

- No
- Sí (en este caso, especificar en la línea siguiente la comunidad a la que va)
- Otro:

38. La consulta o seguimiento en otra comunidad autónoma es para

- Neurocirugía o Neurología (sistema nervioso)
- Oftalmología (ojos)
- Urología (riñones)
- Genética
- Seguimiento completo de la enfermedad
- Otro:

39. ¿Ha consultado alguna vez sobre su enfermedad VHL con alguno de estos médicos?

- Un médico de la sanidad privada
- Un médico en el extranjero
- Ninguno de los anteriores. Los médicos a los que he recurrido siempre han sido de la sanidad pública española

40. ¿Le han realizado el estudio genético de la enfermedad VHL?

- No

- Sí, sólo al afectado
- Sí, al afectado y a toda la familia
- No sabe

41. En caso de que se haya realizado el estudio genético, ¿quién lo solicitó?

- Me lo pidió el médico
- Yo solicité que me lo hicieran
- Otro:

42. ¿Recibieron apoyo psicológico en el momento del diagnóstico?

- Sí
- No

43. Como usted probablemente sabe, hay un protocolo de seguimiento para los afectados por la enfermedad VHL, que consiste en una serie de pruebas médicas y consultas anuales. ¿Le hacen este protocolo de seguimiento?

- Sí, me hacen todo lo recomendado
- Sí, me hacen el seguimiento, pero de forma irregular
- No, no me hacen el seguimiento. Simplemente me atienden cuando me encuentro mal y voy a la consulta

44. ¿Quién es el médico que coordina toda la atención sanitaria de su enfermedad VHL y le pide las pruebas del protocolo de seguimiento?

- Mi médico de familia
- El especialista de Medicina Interna (internista) de mi hospital
- La unidad de Consejo Genético de mi hospital
- No tengo un médico que coordine todo
- Otro:

45. ¿De quién ha recibido más información sobre la enfermedad?

- Médicos
- Enfermeros
- Buscadores de Internet
- Alianza VHL
- VHL Family Alliance (Alianza de Estados Unidos)
- Otro:

46. ¿Ha solicitado alguna vez derivación a otro centro sanitario que no le correspondiera por su lugar de residencia?

- No
- Sí, me la concedieron
- Sí, me la denegaron

- A veces me conceden la derivación y otras me la deniegan

47. ¿Para qué Servicio médico solicitó la derivación?

- Neurocirugía
- Oftalmología
- Urología
- Genética
- Reproducción asistida (para hacer DGP, Diagnóstico Genético Preimplantacional)
- Otro:

48. ¿Se ha sentido alguna vez discriminado por razón de su enfermedad VHL? Si la respuesta es "No, nunca", aquí acaba la encuesta.

49. ¿En qué ámbito se ha sentido discriminado?

- En la atención sanitaria
- En servicios especializados de apoyo
- En la escuela, colegio, ámbito escolar o formativo
- Para encontrar un empleo
- En el puesto de trabajo
- Transporte y desplazamientos
- Para acceder a edificios/ barreras de diseño
- Para acceder a Medios de comunicación y/o Internet
- Para hacer actividades de ocio, divertirme
- Para participar en actividades culturales y sociales
- Ejercer el voto (derecho de sufragio)
- Para hacer trámites en Administración pública o servicios
- En la vida cotidiana (compra, tareas domésticas, etc.)
- Otro:

SUGERENCIAS

Muchas gracias por haber dedicado su tiempo a cumplimentar esta encuesta, que nos servirá para conocer más de cerca sus necesidades y las de todos los afectados por la enfermedad de von Hippel-Lindau. Si tiene cualquier tipo de comentario o sugerencia, no dude en hacérselo llegar a través de esta encuesta. Valoraremos todas y cada una de las opiniones que nos transmitan.

Anexo IV ~ Publicaciones en relación a los estudios

(Clicando sobre las imágenes se accede la referencia de los artículos en Pubmed):

► [Endocr Relat Cancer](#). 2018 Sep;25(9):783-793. doi: 10.1530/ERC-18-0100. Epub 2018 May 10.

Preventive medicine of von Hippel–Lindau disease-associated pancreatic neuroendocrine tumors

Tobias Krauss ¹, Alfonso Massimiliano Ferrara ², Thera P Links ³, Ulrich Wellner ⁴, Irina Bancos ⁵, Andrey Kvachenyuk ⁶, Karina Villar Gómez de Las Heras ⁷, Marina Y Yukina ⁸, Roman Petrov ⁹, Garrett Bullivant ¹⁰, Laura von Duecker ¹¹, Swati Jadhav ¹², Ursula Ploeckinger ¹³, Staffan Welin ¹⁴, Camilla Schalin-Jääntti ¹⁵, Oliver Gimm ¹⁶, Marija Pfeifer ¹⁷, Joanne Ngeow ¹⁸, Kornelia Hasse-Lazar ¹⁹, Gabriela Sansó ²⁰, Xiaoping Qi ²¹, M Umit Ugurlu ²², Rene E Diaz ²³, Nelson Wohlk ²⁴, Mariola Peczkowska ²⁵, Jens Aberle ²⁶, Delmar M Lourenço Jr ²⁷, Maria A A Pereira ²⁸, Maria C B V Fragoso ²⁷, Ana O Hoff ²⁷, Madson Q Almeida ²⁷, Alice H D Violante ²⁹, Ana R P Quidute ³⁰, Zhewei Zhang ³¹, Mònica Recasens ³², Luis Robles Díaz ³³, Tada Kunavisarut ³⁴, Taweesak Wannachalee ³⁴, Sirinart Sirinvaravong ³⁴, Eric Jonasch ³⁵, Simona Grozinsky-Glasberg ³⁶, Merav Fraenkel ³⁶, Dmitry Beltsevich ⁸, Viacheslav I Egorov ⁹, Dirk Bausch ⁴, Matthias Schott ³⁷, Nikolaus Tiling ¹³, Gianmaria Pennelli ³⁸, Stefan Zschiedrich ¹¹, Roland Därr ¹¹ ³⁹, Juri Ruf ⁴⁰, Timm Denecke ⁴¹, Karl-Heinrich Link ⁴², Stefania Zovato ², Ernst von Dobschuetz ⁴³, Svetlana Yaremchuk ⁶, Holger Amthauer ⁴⁴, Özer Makay ⁴⁵, Attila Patocs ⁴⁶, Martin K Walz ⁴⁷, Tobias B Huber ²⁶, Jochen Seufert ⁴⁸, Per Hellman ⁴⁹, Raymond H Kim ⁵⁰, Ekaterina Kuchinskaya ⁵¹, Francesca Schiavi ², Angelica Malinoc ¹¹, Nicole Reisch ⁵², Barbara Jarzab ¹⁹, Marta Barontini ²⁰, Andrzej Januszewicz ²⁵, Nalini Shah ¹², William F Young Jr ⁵, Giuseppe Opocher ⁵³, Charis Eng ⁵⁴, Hartmut P H Neumann ⁵⁵, Birke Bausch ⁵⁶

Affiliations + expand

PMID: 29748190 DOI: [10.1530/ERC-18-0100](#)

Abstract

Pancreatic neuroendocrine tumors (PanNETs) are rare in von Hippel-Lindau disease (VHL) but cause serious morbidity and mortality. Management guidelines for VHL-PanNETs continue to be based on limited evidence, and survival data to guide surgical management are lacking. We established the European-American-Asian-VHL-PanNET-Registry to assess data for risks for metastases, survival and long-term outcomes to provide best management recommendations. Of 2330 VHL patients, 273 had a total of 484 PanNETs. Median age at diagnosis of PanNET was 35 years (range 10-75). Fifty-five (20%) patients had metastatic PanNETs. Metastatic PanNETs were significantly larger (median size 5 vs 2 cm; $P < 0.001$) and tumor volume doubling time (TVDT) was faster (22 vs 126 months; $P = 0.001$). All metastatic tumors were ≥ 2.8 cm. Codons 161 and 167 were hotspots for VHL germline mutations with enhanced risk for metastatic PanNETs. Multivariate prediction modeling disclosed maximum tumor diameter and TVDT as significant predictors for metastatic disease (positive and negative predictive values of 51% and 100% for diameter cut-off ≥ 2.8 cm, 44% and 91% for TVDT cut-off of ≤ 24 months). In 117 of 273 patients, PanNETs > 1.5 cm in diameter were operated. Ten-year survival was significantly longer in operated vs non-operated patients, in particular for PanNETs < 2.8 cm vs ≥ 2.8 cm (94% vs 85% by 10 years; $P = 0.020$; 80% vs 50% at 10 years; $P = 0.030$). This study demonstrates that patients with PanNET approaching the cut-off diameter of 2.8 cm should be operated. Mutations in exon 3, especially of codons 161/167 are at enhanced risk for metastatic PanNETs. Survival is significantly longer in operated non-metastatic VHL-PanNETs.

Keywords: PanNET; management recommendations; survival; von Hippel–Lindau disease.

> Orphanet J Rare Dis. 2015 Sep 22;10:118. doi: 10.1186/s13023-015-0343-5.

Propranolol reduces viability and induces apoptosis in hemangioblastoma cells from von Hippel–Lindau patients

Virginia Albiñana¹, Karina Villar Gómez de Las Heras², Gemma Serrano-Heras³, Tomás Segura⁴, Ana Belén Perona-Moratalla⁵, Mercedes Mota-Pérez⁶, José María de Campos⁷, Luisa María Botella^{8,9}

Affiliations + expand

PMID: 26394686 PMCID: PMC4579575 DOI: 10.1186/s13023-015-0343-5

[Free PMC article](#)

Abstract

Background: Von Hippel-Lindau (VHL) disease is a rare oncological disease with an incidence of 1:36,000, and is characterized by the growth of different types of tumors: hemangioblastomas in the central nervous system (CNS) and retina, renal carcinoma, pheochromocytomas, pancreatic serous cystadenoma, and endolymphatic sac tumors. These tumors do not express VHL protein (pVHL). pVHL ubiquitinates hypoxia inducible factor (HIF) protein for degradation by the proteasome; in the absence of VHL, HIF translocates to the nucleus to activate the expression of its target genes. Targeting VHL-derived tumors with drugs that have reduced side effects is urgent to avoid repeat CNS surgeries. Recent reports have shown that propranolol, a β -blocker used for the treatment of hypertension and other cardiac and neurological diseases, is the best option for infantile hemangioma (IH). Propranolol could be an efficient treatment to control hemangioblastoma growth in VHL disease because of its antiangiogenic effects demonstrated in IH and the hypothetical impact on HIF levels.

Methods: HeLa 9X (HRE) hypoxia responsive element cell line and primary hemangioblastoma-derived cells were subjected to propranolol treatment and cell viability and apoptosis were evaluated. HIF1- α and Hif-2 α expression after propranolol treatment was analyzed by western blotting. Quantitative PCR was performed to study the mRNA expression of HIF target genes. Vascular endothelial growth factor (VEGF) was measured in culture supernatants by immunoassay.

Results: Propranolol downregulated HIF-dependent transcription in HeLa 9XHRE cells. Under hypoxic conditions, propranolol decreased the expression of HIF target genes in hemangioblastoma cells, which stopped proliferating and died following long-term treatment. These results suggests that propranolol treatment promoted reduced HIF protein expression and corresponding downregulation of HIF target genes, and inhibited cell proliferation in parallel with induction of cell death by apoptosis.

Conclusions: Our results suggest that propranolol could reduce the growth of HIF-dependent tumors and may thus be a promising treatment to delay surgery in VHL patients.

> [Orphanet J Rare Dis.](#) 2017 Jun 29;12(1):122. doi: 10.1186/s13023-017-0664-7.

Repurposing propranolol as a drug for the treatment of retinal haemangioblastomas in von Hippel–Lindau disease

Virginia Albiñana ^{1 2}, Rosa María Jiménez Escribano ³, Isabel Soler ³, Luis Rodríguez Padial ³,
Lucía Recio-Poveda ¹, Karina Villar Gómez de Las Heras ⁴, Luisa María Botella ^{5 6}

Affiliations + expand

PMID: 28662711 PMID: [PMC5492903](#) DOI: [10.1186/s13023-017-0664-7](#)

[Free PMC article](#)

Abstract

Background: Von Hippel-Lindau (VHL) disease is a rare oncological disease with an incidence of 1:36,000, and is characterized by the growth of different types of tumours. Haemangioblastomas in the central nervous system (CNS) and retina, renal carcinoma and pheochromocytomas are the most common tumours. The absence of treatment for VHL leads to the need of repeated surgeries as the only option for these patients. Targeting VHL-derived tumours with drugs with reduced side effects is urgent to avoid repeated CNS surgeries. Recent reports have demonstrated that propranolol, a β -blocker used for the treatment of hypertension and other cardiac and neurological diseases, is the best option for infantile hemangioma (IH). Propranolol could be an efficient treatment to control haemangioblastoma growth in VHL disease given its antiangiogenic effects that were recently demonstrated by us. The main objective of the present study was the assessment of the efficacy and safety of propranolol on retinal haemangioblastoma in von Hippel-Lindau disease (VHL).

Methods: 7 VHL patients, from different regions of Spain, affected from juxtapapillary or peripheral haemangioblastomas were administered 120 mg propranolol daily. Patients were evaluated every 3 months for 12 months, at Virgen de la Salud Hospital (Toledo). The patients had juxtapapillary or peripheral haemangioblastomas but had refused standard treatments.

Results: Propranolol was initiated with a progressive increase up to a final dose of 120 mg daily. All tumours remained stable, and no new tumours appeared. The reabsorption of retinal exudation was noted in the two patients having exudates. No adverse effects were recorded. VEGF and miRNA 210 levels were monitored in the plasma of patients as possible biomarkers of VHL. These levels decreased in all cases from the first month of treatment.

Conclusions: Although more studies are necessary, the results of this work suggest that propranolol is a drug to be considered in the treatment of VHL patients with retinal haemangioblastomas. VEGF and miRNA 210 could be used as biomarkers of the VHL disease activity.

Trial registration: The study has a clinical trial design and was registered at EU Clinical Trials Register and Spanish Clinical Studies Registry, EudraCT Number: 2014-003671-30 . Registered 2 September 2014.

Keywords: Beta-blockers; Hypoxia inducible factor; Juxtapapillary and peripheral haemangioblastoma; Propranolol; Retinal haemangioblastoma; pVHL; von Hippel-Lindau disease (VHL).

> [BMJ Open Ophthalmol.](#) 2019 May 28;4(1):e000203. doi: 10.1136/bmjophth-2018-000203. eCollection 2019.

Evaluation of the safety and effectiveness of oral propranolol in patients with von Hippel–Lindau disease and retinal hemangioblastomas: phase III clinical trial

Beatriz González-Rodríguez ¹, Karina Villar Gómez de Las Heras ^{2 3}, Daniel T Aguirre ⁴, Luis Rodríguez-Padial ⁵, Virginia Albiñana ^{6 7}, Lucía Recio-Poveda ⁶, Angel M Cuesta ^{6 7}, Luisa M^a Botella ^{6 7}, Rosa María Jiménez-Escribano ¹

Affiliations + expand

PMID: 31245608 PMID: [PMC6557078](#) DOI: [10.1136/bmjophth-2018-000203](#)

[Free PMC article](#)

Abstract

Background: von Hippel-Lindau disease (VHL) is a multisystem cancer syndrome caused by mutations in the *VHL* gene. Retinal hemangioblastoma is one of the most common tumours, and when it appears near the optic nerve, its treatment is challenging and risky. To date, no treatment has proven effective in changing the course of the disease. This study was designed to evaluate the safety and effectiveness of propranolol in controlling these tumours.

Methods: Seven patients were included. All patients took a daily dose of 120 mg of propranolol for 1 year. Clinical variables were assessed at baseline, and at 1, 3, 6, 9 and 12 months. The primary endpoint of the study was the number and size of retinal hemangioblastomas. On every visit, retinal outcomes and blood biomarkers (such as vascular endothelial growth factor (VEGF) and miR210) were analysed.

Results: Number and size of retinal hemangioblastomas remained stable in all patients. All of them had initially increased levels of VEGF and miR210. There was a gradual reabsorption of retinal exudation in two patients, correlating with a progressive decrease of both biomarkers. The only adverse effect reported was hypotension in one patient.

Conclusions: Propranolol could be used to treat retinal hemangioblastomas in VHL patients, although more studies are needed to determine the ideal dose and long-term effect. VEGF and miR210 should be explored as biomarkers of disease activity. As far as we know, these are the first biomarkers proposed to monitor the VHL disease activity.

Trial registration number: 2014-003671-30.

Keywords: hemangioblastoma; hypoxia-inducible factors; propranolol; retina; von Hippel-Lindau.

Bibliografía

1. Huntoon K, Oldfield EH, Lonser RR. Dr. Arvid Lindau and discovery of von Hippel-Lindau disease. *J Neurosurg.* 2015;123:1093-1097. doi:10.3171/2015.1.JNS131963
2. Maher ER, Yates JRW, Harries R, et al. Clinical Features and Natural History of von Hippel-Lindau Disease. *Q J Med.* 1990;(283):1151-1163.
3. *Genetics Home Reference Your Guide to Understanding Genetic Conditions.*; 2018. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/VHL#>.
4. Kim WY, Kaelin WG. Role of VHL gene mutation in human cancer. *J Clin Oncol.* 2004;22(24):4991-5004. doi:10.1200/JCO.2004.05.061
5. Hes FJ, Höppener JWM, Van Der Luijt RB, Lips CJM. Von Hippel-Lindau Disease. *Hered Cancer Clin Pract Dutch J Oncol Tijdschr voor Oncol Ned Tijdschr Oncol.* 2005;3(23):171-178.
6. Yang H, Kaelin J. Molecular pathogenesis of the von Hippel-Lindau hereditary cancer syndrome: Implications for oxygen sensing. *Cell Growth Differ.* 2001;12(9):447-455. doi:10.1042/bj3570447
7. Binderup MLM, Galanakis M, Budtz-Jørgensen E, Kosteljanetz M, Luise Bisgaard M. Prevalence, birth incidence, and penetrance of von Hippel-Lindau disease (vHL) in Denmark. *Eur J Hum Genet.* 2017;25(3):301-307. doi:10.1038/ejhg.2016.173
8. Chittiboina P, Lonser RR. Von Hippel-Lindau disease. *Handb Clin Neurol.* 2015;132:139-156. doi:10.1016/B978-0-444-62702-5.00010-X
9. Schmid S, Gillissen S, Binet I, et al. Management of von Hippel-Lindau disease: An interdisciplinary review. *Oncol Res Treat.* 2014;37(12):761-771. doi:10.1159/000369362
10. Nordstrom-O'Brien M, Van Der Luijt RB, Van Rooijen E, et al. Genetic analysis of von Hippel-Lindau disease. *Hum Mutat.* 2010;31(5):521-537. doi:10.1002/humu.21219
11. The UMD- VHL mutations database. <http://www.umd.be/VHL/>. Accessed June 11, 2019.
12. Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1971;68(4):820-823. doi:10.1073/pnas.68.4.820
13. Maher ER, Neumann HP, Richard S. von Hippel-Lindau disease: A clinical and scientific review. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(6):617-623. doi:10.1038/ejhg.2010.175
14. Shanbhogue KP, Hoch M, Fatterpaker G, Chandarana H. Von Hippel-Lindau Disease: Review of Genetics and Imaging. *Radiol Clin North Am.* 2016;54(3):409-422. doi:10.1016/j.rcl.2015.12.004
15. Vortmeyer AO, Choo D, Pack S, et al. VHL gene inactivation in an endolymphatic sac tumor associated with von Hippel-Lindau disease. *Neurology.* 1999;53(1):208-210. doi:10.1212/wnl.55.3.460
16. Murgia A, Martella M, Vinanzi C, Polli R, Perilongo G OG, Murgia A, Martella M, et al. Somatic mosaicism in von Hippel-Lindau Disease. *Hum Mutat.* 2000;15(1):114. doi:10.1002/(SICI)1098-1004(200001)15:1<114::AID-HUMU20>3.0.CO;2-7
17. Sgambati MT, Stolle C, Choyke PL, et al. Mosaicism in von Hippel-Lindau Disease: Lessons from Kindreds with Germline Mutations Identified in Offspring

- with Mosaic Parents. *Am J Hum Genet.* 2000;66:84-91. doi:10.1086/302726
18. Wu P, Zhang N, Wang X, et al. Mosaicism in von Hippel-Lindau disease with severe renal manifestations. *Clin Genet.* 2013;84(6):581-584. doi:10.1111/cge.12092
 19. Coppin L, Grutzmacher C, Crépin M, et al. VHL mosaicism can be detected by clinical next-generation sequencing and is not restricted to patients with a mild phenotype. *Eur J Hum Genet.* 2014;22(9):1149-1152. doi:10.1038/ejhg.2013.279
 20. Alianza Española de Familias de von Hippel-Lindau. *Registro de Pacientes.*; 2018.
 21. Gascón A, Escobar B, Montero-Conde C, et al. Loss of the actin regulator HSPC300 results in clear cell renal cell carcinoma protection in Von Hippel-Lindau patients. *Hum Mutat.* 2007;28(6):613-621. doi:10.1002/humu
 22. McNeill A, Rattenberry E, Barber R, Killick P, MacDonald F, Maher ER. Genotype-phenotype correlations in VHL exon deletions. *Am J Med Genet Part A.* 2009;149(10):2147-2151. doi:10.1002/ajmg.a.33023
 23. Maranchie JK, Afonso A, Albert PS, et al. Solid Renal Tumor Severity in von Hippel Lindau Disease is Related to Germline Deletion Length and Location. *Hum Mutat.* 2004;23(1):40-46. doi:10.1002/humu.10302
 24. Consejería de Sanidad de Castilla-La Mancha D de E e I, ed. *Registro Del Conjunto Mínimo Básico de Datos (CMBD) de Castilla-La Mancha.* Toledo; 2002. <http://pagina.jccm.es/sanidad/salud/cmbd/manualcmbd07.pdf>.
 25. Santarpia L, Sarlis NJ, Santarpia M, Sherman SI, Trimarchi F, Benvenega S. Mosaicism in von Hippel-Lindau disease: An event important to recognize: 'molecular Diagnosis'. *J Cell Mol Med.* 2007;11(6):1408-1415. doi:10.1111/j.1582-4934.2007.00122.x
 26. Latif F, Tory K, Gnarr J, et al. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Science (80-).* 1993;260:1317-1320. doi:10.1126/science.8493574
 27. Iliopoulos O, Ohh M, Kaelin WG. pVHL19 is a biologically active product of the von Hippel-Lindau gene arising from internal translation initiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(20):11661-11666. doi:10.1073/pnas.95.20.11661
 28. Hes FJ, Perason PL, Lips CJM. *Von Hippel-Lindau Disease: Clinical and Genetic Investigations in the Netherlands.*; 2000.
 29. Liu J, Nussinov R. Allosteric effects in the marginally stable von Hippel-Lindau tumor suppressor protein and allostery-based rescue mutant design. *Proc Natl Acad Sci.* 2008;105(3):901 LP - 906. doi:10.1073/pnas.0707401105
 30. Semenza GL. Hif-1 and human disease: One highly involved factor. *Genes Dev.* 2000;14(16):1983-1991.
 31. Kaelin WG. The Von Hippel-Lindau Tumor Suppressor Gene and Kidney Cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10(18). doi:10.1158/1078-0432.CCR-sup-040025
 32. Vortmeyer AO, Falke EA, Gläsker S, Li J, Oldfield EH. Nervous system involvement in von Hippel-Lindau disease: Pathology and mechanisms. *Acta Neuropathol.* 2013;125(3):333-350. doi:10.1007/s00401-013-1091-z
 33. Groulx I, Lee S. Oxygen-Dependent Ubiquitination and Degradation of Hypoxia-Inducible Factor Requires Nuclear-Cytoplasmic Trafficking of the von Hippel-Lindau Tumor Suppressor Protein. *Mol Cell Biol.* 2002;22(15):5319-5336.

- doi:10.1128/mcb.22.15.5319-5336.2002
34. Bader HL, Hsu T. Systemic VHL gene functions and the VHL disease. *FEBS Lett.* 2012;586(11):1562-1569. doi:10.1016/j.febslet.2012.04.032
 35. Ning XH, Zhang N, Li T, et al. Telomere shortening is associated with genetic anticipation in Chinese Von Hippel-Lindau disease families. *Cancer Res.* 2014;74(14). doi:10.1158/0008-5472.CAN-14-0024
 36. Aronoff L, Malkin D, van Engelen K, et al. Evidence for genetic anticipation in vonHippel-Lindau syndrome. *J Med Genet.* 2018;55(6). doi:10.1136/jmedgenet-2017-104882
 37. Wang JY, Peng SH, Ning XH, et al. Shorter telomere length increases age-related tumor risks in von Hippel-Lindau disease patients. *Cancer Med.* 2017;6(9):2131-2141. doi:10.1002/cam4.1134
 38. Lonser RR, Glenn GM, Walther M, et al. Von Hippel-Lindau disease. In: *Lancet.* Vol 361. ; 2003:2059-2067. doi:10.1016/S0140-6736(03)13643-4
 39. Villar K. *Enfermedad de von Hippel-Lindau. Guía Básica Para Profesionales de La Salud.* 1st ed. (Alianza Española de Familias de VHL, ed.). Toledo: Toledo; 2011. <http://www.alianzavhl.org/archivos/guia-vhl-medicos.pdf>.
 40. Richard S, Gardie B, Couvè S, Gad S. Von Hippel-Lindau: How a rare disease illuminates cancer biology. *Semin Cancer Biol.* 2013;23(1):26-37. doi:10.1016/j.semcancer.2012.05.005
 41. Neumann BPH, Hufeland CW. *Von Hippel-Lindau Disease: A Model Project Prevention and Preventive Intervention in a Hereditary Tumor Syndrome.*; 1998. http://www.alianzavhl.org/archivos/Neumann_prevention.pdf. Accessed March 25, 2017.
 42. Melmon KL, Rosen SW. Lindau's disease. *Am J Med.* 1964;36(4):595-617. doi:10.1016/0002-9343(64)90107-X
 43. Sobottka SB, Frank S, Hampl M, Schackert HK, Schackert G. Multiple intracerebral haemangioblastomas in identical twins with von Hippel-Lindau disease--a clinical and molecular study. *Acta Neurochir (Wien).* 1998;140(3):281-285. doi:10.1007/s007010050096
 44. Wessels T, Kemeny S, Block F. Von Hippel-Lindau syndrome with spinal, cerebellar, and retinal hemangioblastoma in identical twins. *Nervenarzt.* 2002;73(12):1195-1198. doi:10.1007/s00115-002-1428-7
 45. Wesolowski DP, Ellwood RA, Schwab RE, Farah J. Hippel-Lindau syndrome in identical twins. *Br J Radiol.* 1981;54(647):982-986. doi:10.1259/0007-1285-54-647-982
 46. Iida K, Okimura Y, Takahashi K, et al. A variety of phenotype with R161Q germline mutation of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in Japanese kindred. *Int J Mol Med.* 2004;13(3):401-404. doi:10.3892/ijmm.13.3.401
 47. Nielsen SM, Rhodes L, Blanco I, et al. Von Hippel-Lindau disease: Genetics and role of genetic counseling in a multiple neoplasia syndrome. *J Clin Oncol.* 2016;34(18):2172-2181. doi:10.1200/JCO.2015.65.6140
 48. Kano H, Shuto T, Iwai Y, et al. Stereotactic radiosurgery for intracranial hemangioblastomas: a retrospective international outcome study. *J Neurosurg.* 2015;122:1466-1468. doi:10.3171/2014.10.JNS131602
 49. Wanebo JE, Lonser RR, Glenn GM, Oldfield EH. The natural history of hemangioblastomas of the central nervous system in patients with von Hippel-Lindau disease. *J Neurosurg.* 2003;98(1):82-94. doi:10.3171/jns.2003.98.1.0082

50. Bosch J, Vilalta J, Tintore M, Ortega A, Montalban X, Codina A. [Parkinsonian hemi-syndrome as the initial manifestation of supratentorial cystic hemangioblastoma in a patient with Von Hippel- Lindau disease]. *Rev Neurol*. 1998;26(March):221-223.
51. Elguezabal A, Díaz ML, Landeyro J, Gené M, Boutayeb L, Sirvent MEJJ. Solid-cystic supratentorial hemangioblastoma affecting the falx cerebri. Report of a case. *Neurocirugia*. 2010;21:401-404. doi:10.4321/s1130-14732010000500006
52. Lonser RR, Butman JA, Huntoon K, et al. Prospective natural history study of central nervous system hemangioblastomas in von Hippel-Lindau disease. *J Neurosurg*. 2014;120(5):1055-1062. doi:10.3171/2014.1.JNS131431
53. Alshafai N, Maduri R, Shail M, Chirchiglia D, Meyronet D, Signorelli F. Surgical approach for suprasellar hemangioblastomas preserving the pituitary stalk: Review of the literature and report of a further case. *Clin Neurol Neurosurg*. 2018. doi:10.1016/j.clineuro.2018.03.010
54. Wizigmann-Voos S, Plate KH, Plate KH. *Pathology, Genetics and Cell Biology of Hemangioblastomas*. Vol 11.; 1996:1049-1061.
55. Koda M, Mannoji C, Itabashi T, et al. Intramedullary hemorrhage caused by spinal cord hemangioblastoma: A case report. *BMC Res Notes*. 2014;7(1):7-9. doi:10.1186/1756-0500-7-823
56. Görmeli C, K S, Özdemir Z, et al. Sudden-onset paraplegia during pregnancy caused by haemorrhage in a spinal cord haemangioblastoma: A case report. *J Pak Med Assoc*. 2016;66(9):1182-1184.
57. Marvin E, Akhter AS, Coppens JR. Recurrent hemorrhage in hemangioblastoma involving the posterior fossa: Case report. *Surg Neurol Int*. 2017;8(122). doi:10.4103/sni.sni_91_17
58. Hussein MR. Central nervous system capillary haemangioblastoma: The pathologist's viewpoint. *Int J Exp Pathol*. 2007;88(5):311-324. doi:10.1111/j.1365-2613.2007.00535.x
59. Asthagiri AR, Mehta GU, Zach L, et al. Prospective evaluation of radiosurgery for hemangioblastomas in von Hippel-Lindau disease. *Neuro Oncol*. 2010;12(1):80-86. doi:10.1093/neuonc/nop018
60. Ammerman JM, Lonser RR, Dambrosia J, Butman JA, Oldfield EH. Long-term natural history of hemangioblastomas in patients with von Hippel-Lindau disease: implications for treatment. *J Neurosurg*. 2006;105(2):248-255. doi:10.3171/jns.2006.105.2.248
61. Oldfield EH. Editorial: Management of hemangioblastomas in patients with von Hippel-Lindau disease: stereotactic radiosurgery compared to surgical excision. *J Neurosurg*. 2015;122(6):1466-1468. doi:10.3171/2015.2.JNS15252
62. Niemelä M, Lim YJ, Söderman M, Jääskeläinen J, Lindquist C. Gamma knife radiosurgery in 11 hemangioblastomas. *J Neurosurg*. 1996;85(4):591-596. doi:10.3171/jns.1996.85.4.0591
63. Kondziolka D. Current and novel practice of stereotactic radiosurgery. *J Neurosurg*. 2019;1306(6):1789-1798. doi:10.3171/2019.2.JNS181712
64. Chew EY. Ocular manifestations of von Hippel-Lindau disease: clinical and genetic investigations. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 2005;103:495-511.
65. Chan CC, Collins ABD CE. MOLECULAR PATHOLOGY OF EYES WITH VON HIPPEL-LINDAU (VHL) DISEASE A Review. *Retina*. 2007;27(1):1-7. doi:10.1097/01.iae.0000244659.62202.ee

66. Ministerio de Sanidad y Política Social. Real Decreto 1015/2009, de 19 de junio, por el que se regula la disponibilidad de medicamentos en situaciones especiales. *BOE*. 2009;174(12002):60904-60913.
67. Capitanio JF, Mazza E, Motta M, Mortini P, Reni M. Mechanisms, indications and results of salvage systemic therapy for sporadic and von Hippel-Lindau related hemangioblastomas of the central nervous system. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;86(1):69-84. doi:10.1016/j.critrevonc.2012.10.001
68. Neumann HPH, Bender BU, Berger DP, et al. Prevalence, morphology and biology of renal cell carcinoma in von Hippel-Lindau disease compared to sporadic renal cell carcinoma. *J Urol*. 1998;160(4):1248-1254. doi:10.1016/S0022-5347(01)62509-6
69. Neumann H, Dinkel E, Brambs H, Wimmer B, Friedburg H. Pancreatic lesions in the von Hippel-Lindau syndrome. *Gastroenterology*. 1991;101:465-471.
70. Hammel PR, Vilgrain V, Terris B, et al. Pancreatic involvement in Von Hippel-Lindau disease. *Gastroenterology*. 2000;119:1087-1095. doi:10.1053/gast.2000.18143
71. Blansfield JA, Choyke L, Morita SY, et al. Clinical, genetic and radiographic analysis of 108 patients with von Hippel-Lindau disease (VHL) manifested by pancreatic neuroendocrine neoplasms (PNETs). *Surgery*. 2007;142(6):814-818. doi:10.1016/j.surg.2007.09.012
72. Krauss T, Ferrara A, Links T, et al. Preventive medicine of von Hippel-Lindau disease-associated pancreatic neuroendocrine tumors. *Endocr Relat Cancer*. 2018;25(9):783-793. doi:10.1530/ERC-18-0100. Epub 2018 May 10.
73. Lenders JWM, Duh Q-Y, Eisenhofer G, et al. Pheochromocytoma and Paraganglioma: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(June):1915-1942. doi:10.1210/jc.2014-1498
74. Poulsen MLM, Gimsing S, Kosteljanetz M, et al. von Hippel-Lindau disease: surveillance strategy for endolymphatic sac tumors. *Genet Med*. 2011;13(12):1032-1041. doi:10.1097/GIM.0b013e31822beab1
75. Manski TJ, Heffner DK, Glenn GM. Endolymphatic sac tumors. A source of morbid hearing loss in von Hippel-Lindau disease. *JAMA*. 1997;277(18):1461-1466.
76. De Minteguiaga C, García Ibáñez L, Tran Ba Huy P. Tumor del saco endolinfático y enfermedad de von hippel-lindau. Revisión de la literatura. *Acta Otorrinolaringológica Española*. 2013;53(7):515-520. doi:10.1016/s0001-6519(02)78344-1
77. Wick CC, Manzoor NF, Semaan MT, Megerian CA. Endolymphatic sac tumors. *Otolaryngol Clin North Am*. 2015;48(2):317-330. doi:10.1016/j.otc.2014.12.006
78. Acueductos vestibulares dilatados y la pérdida de audición en los niños. National Institute of Deafness and Other Communication Disorders. <https://www.nidcd.nih.gov/es/espanol/acueductos-vestibulares-dilatados-y-la-perdida-de-audicion-en-los-ninos>. Published 2012. Accessed November 17, 2019.
79. Choyke PL, Glenn GM, Walther MM, Patronas NJ, Linehan WM, Zbal B. Von Hippel-Lindau Disease: Genetic, Clinical, and Imaging Features. *Radiology*. 1995;194:629-642.
80. Gläsker S, Tran MGB, Shively SB, et al. Epididymal cystadenomas and epithelial tumourlets: Effects of VHL deficiency on the human epididymis. *J Pathol*. 2006;210(1):32-41. doi:10.1002/path.2029

81. Odrzywolski K, Mukhopadhyay S. Papillary cystadenoma of the epididymis. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134:630-633. doi:10.5858/134.4.630
82. Varshney N, Kebede AA, Owusu-Dapaah H, Lather J, Kaushik M, Bhullar JS. A Review of Von Hippel-Lindau Syndrome. *J Kidney Cancer VHL.* 2017;4(3):20-29. doi:10.15586/jkcvhl.2017.88
83. Klein J, Zhuang Z, Lubensky I, Colby T V, Martinez F, Leslie KO. Multifocal microcysts and papillary cystadenoma of the lung in von Hippel-Lindau disease. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(8):1292-1296. doi:10.1097/PAS.0b013e3180377aaf
84. Lu L, Drew PA, Yachnis AT. Hemangioblastoma in the Lung: Metastatic or Primary Lesions? *Case Rep Pathol.* 2014;2014:1-5. doi:10.1155/2014/468671
85. Hayasaka K, Tanaka Y, Satoh T, Mutoh H. Hepatic hemangioblastoma: An unusual presentation of von Hippel-Lindau disease. *J Comput Assist Tomogr.* 1999;23(4):565-566. doi:10.1097/00004728-199907000-00016
86. Rojjani AM, Owen DA, Berry K, et al. Hepatic hemangioblastoma: An unusual presentation in a patient with von Hippel-Lindau disease. *Am J Surg Pathol.* 1991;15(1):81-86. doi:10.1097/0000478-199101000-00010
87. Friedrich CA. Genotype – phenotype correlation in von Hippel-Lindau syndrome. *Hum Mol Genet.* 2001;10(7):763-768. doi:10.1093/hmg/10.7.763
88. Wilding A, Ingham SL, Lalloo F, et al. Life expectancy in hereditary cancer predisposing diseases: an observational study. *J Med Genet.* 2012;49(4):264-269. doi:10.1136/jmedgenet-2011-100562
89. Binderup MMLM, Jensen AM, Budtz-Jørgensen E, et al. Survival and causes of death in patients with von Hippel-Lindau disease. *J Med Genet.* 2016;54:11-18. doi:10.1136/jmedgenet-2016-104058
90. Priesemann M, Davies KM, Perry LA, et al. Benefits of screening in von Hippel-Lindau disease - Comparison of morbidity associated with initial tumours in affected parents and children. *Horm Res.* 2006;66(1):1-5. doi:10.1159/000093008
91. Food and Drugs Administration. *Welireg - Technical Data Sheet.*; 2021. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2021/215383s000lbl.pdf.
92. Jonasch E, Donskov F, Iliopoulos O, et al. Belzutifan for Renal Cell Carcinoma in von Hippel-Lindau Disease. *N Engl J Med.* 2021;385(22):2036-2046. doi:10.1056/nejmoa2103425
93. Ensayos clínicos en marcha con belzutifan. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=belzutifan&cntry=&state=&city=&dist=>. Accessed June 24, 2022.
94. Albiñana V, Recio-Poveda L, González-Peramato P, Martínez-Piñeiro L, Botella LM, Cuesta AM. Blockade of β 2-Adrenergic Receptor Reduces Inflammation and Oxidative Stress in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3). doi:10.3390/ijms23031325
95. Shmueli MD, Schnaider L, Herzog G, Gazit E, Segal D. Computational and experimental characterization of dVHL establish a Drosophila model of VHL syndrome. *PLoS One.* 2014;9(10). doi:10.1371/journal.pone.0109864
96. van Rooijen E, Santhakumar K, Logister I, et al. A Zebrafish Model for VHL and Hypoxia Signaling. *Methods Cell Biol.* 2011;105:163-190. doi:10.1016/B978-0-12-381320-6.00007-2
97. Kim HR, Greenald D, Vettori A, et al. Zebrafish as a model for von Hippel Lindau and hypoxia-inducible factor signaling. *Methods Cell Biol.* 2017.

- doi:10.1016/bs.mcb.2016.07.001
98. Park S, Chan CC. Von Hippel-Lindau Disease (VHL): A need for a murine model with retinal hemangioblastoma. *Histol Histopathol.* 2012;27(8):975-984. doi:10.14670/HH-27.975
 99. Wang H, Shepard MJ, Zhang C, et al. Deletion of the von Hippel-Lindau gene in hemangioblasts causes Hemangioblastoma-like Lesions in Murine Retina. *Cancer Res.* 2018;78(5):1266-1274. doi:10.1158/0008-5472.CAN-17-1718
 100. Gnarr JR, Ward JM, Porter FD, et al. Defective placental vasculogenesis causes embryonic lethality in VHL-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(17):9102-9107. doi:10.1073/pnas.94.17.9102
 101. Tang N, Mack F, Haase VH, Simon MC, Johnson RS. pVHL Function Is Essential for Endothelial Extracellular Matrix Deposition. *Mol Cell Biol.* 2006;26(7):2519-2530. doi:10.1128/mcb.26.7.2519-2530.2006
 102. Iliopoulos O, Kibel A, Gray S, Kaelin WG. Tumour suppression by the human von hippel-lindau gene product. *Nat Med.* 1995. doi:10.1038/nm0895-822
 103. Sauer B, Henderson N. Site-specific DNA recombination in mammalian cells by the Cre recombinase of bacteriophage P1 (genome rearrangement/herpesviruses/Cre-lox/metallothionein). *Proc Nail Acad Sci USA.* 1988. doi:10.1073/pnas.85.14.5166
 104. Vortmeyer AO, Kalamarides M. *Creation of Genetically Engineered Mouse Model of Hemangioblastoma.*; 2015.
 105. Albiñana V, Villar Gómez de Las Heras K, Serrano-Heras G, et al. Propranolol reduces viability and induces apoptosis in hemangioblastoma cells from von Hippel-Lindau patients. *Orphanet J Rare Dis.* 2015;10(1):118. doi:10.1186/s13023-015-0343-5
 106. Albiñana V, Escribano RMJ, Soler I, et al. Repurposing propranolol as a drug for the treatment of retinal haemangioblastomas in von Hippel-Lindau disease. *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12(1). doi:10.1186/s13023-017-0664-7
 107. EMA. Public summary of opinion on orphan designation. Propranolol hydrochloride for the treatment of von Hippel-Lindau disease. 2017;000(March). www.ema.europa.eu/contact%0Ahttp://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2017/03/WC500224883.pdf.
 108. Botella Cubells LM, Albiñana Díaz V, Villar Gómez de las Heras K. Compounds for treating von Hippel-Lindau disease. Patent. 2018. <https://register.epo.org/application?number=EP18752134>.
 109. Sánchez-Puelles González-Carvajal JM, Botella Cubells LM, Aguado Sánchez T, Cuesta Martínez Á, Albiñana Díaz V, Villar Gómez de las Heras K. Treatment and prevention of glioblastoma. Patent. 2019. <https://register.epo.org/application?number=EP18382917>.
 110. Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea. REGLAMENTO (CE) No 1394/2007 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 13 de noviembre de 2007 sobre medicamentos de terapia avanzada y por el que se modifican la Directiva 2001/83/CE y el Reglamento (CE) nº 726/2004. 10122007. 2007:17. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32007R1394&from=ES>.
 111. Keutgen XM, Hammel P, Choyke PL, Libutti SK, Jonasch E, Kebebew E. Evaluation and management of pancreatic lesions in patients with von Hippel-Lindau disease. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016;13(9):537-549. doi:10.1038/nrclinonc.2016.37

112. Ozkurt H, Degirmenci H, Yenice G, Karatag O, Basak M. Huge pancreas helps diagnosis in von Hippel-Lindau disease. *Indian J Gastroenterol*. 2006;25:90-91.
113. Kapur V, Brower ST. *Cystic Replacement of Pancreas in Patient with von Hippel-Lindau Syndrome*. *Gastrointestinal Cancer Research* 6, 25-26 (2013).
114. Maeda S, Motoi F, Oana S, et al. Pancreatic neuroendocrine tumor with complete replacement of the pancreas by serous cystic neoplasms in a patient with von Hippel-Lindau disease: a case report. *Surg Case Reports*. 2017;3(1):105. doi:10.1186/s40792-017-0381-4
115. Peris Tomás N, Domingo del Pozo C, Garrigós Ortega G, Vázquez Tarragón A, Blanes Masson F. Pancreatic involvement in Von Hippel-Lindau disease. *Gastroenterol Hepatol*. 2013;36(8):513-516. doi:10.1016/j.gastrohep.2013.03.002
116. Weisbrod AB, Liewehr DJ, Steinberg SM, et al. Association of type O blood with pancreatic neuroendocrine tumors in Von Hippel-Lindau syndrome. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(6):2054-2059. doi:10.1245/s10434-012-2276-8
117. Chu LC, Singhi AD, Haroun RR, Hruban RH, Fishman EK. The many faces of pancreatic serous cystadenoma: Radiologic and pathologic correlation. *Diagn Interv Imaging*. 2017;98(3):191-202. doi:10.1016/j.diii.2016.08.005
118. Weisbrod AB, Kitano M, Thomas F, et al. Assessment of tumor growth in pancreatic neuroendocrine tumors in von Hippel Lindau syndrome. *J Am Coll Surg*. 2014;218(2):163-169. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2013.10.025
119. Crona J, Skogseid B. Genetics of neuroendocrine tumors. *Eur J Endocrinol*. 2016;174(6):R275-R290. doi:10.1530/EJE-15-0972
120. Diets IJ, Nagtegaal ID, Loeffen J, et al. Childhood neuroendocrine tumours: A descriptive study revealing clues for genetic predisposition. *Br J Cancer*. 2017;116(2):163-168. doi:10.1038/bjc.2016.408
121. Wang YH, Yang QC, Lin Y, Xue L, Chen MH, Chen J. Chromogranin a as a marker for diagnosis, treatment, and survival in patients with gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm. *Med (United States)*. 2014;93(27):1-7. doi:10.1097/MD.0000000000000247
122. Laks S, van Leeuwaarde R, Patel D, et al. Management recommendations for pancreatic manifestations of von Hippel–Lindau disease. *Cancer*. 2022;128(3):435-446. doi:10.1002/cncr.33978
123. Soczomski P, Jurecka-Lubieniecka B, Krzywon A, et al. A Direct Comparison of Patients With Hereditary and Sporadic Pancreatic Neuroendocrine Tumors: Evaluation of Clinical Course, Prognostic Factors and Genotype–Phenotype Correlations. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12(May):1-14. doi:10.3389/fendo.2021.681013
124. Lubensky IA, Pack S, Ault D, et al. Multiple neuroendocrine tumors of the pancreas in von Hippel-Lindau disease patients: Histopathological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol*. 1998;153(1):223-231. doi:10.1016/S0002-9440(10)65563-0
125. Marcos HB, Libutti SK, Alexander HR, et al. Neuroendocrine tumors of the pancreas in von Hippel-Lindau disease: spectrum of appearances at CT and MR imaging with histopathologic comparison. *Radiology*. 2002;225(3):751-758. doi:10.1148/radiol.2253011297
126. Binkovitz1 LLA, Johnson CD, Stephens DH. Islet Cell Tumors in von Hippel-Lindau Disease: Increased Prevalence and Relationship to the Multiple Endocrine Neoplasias. *AJR*. 1990;155:501-505. doi:10.2214/ajr.155.3.1974734

127. Yoo C, Oh CR, Kim ST, et al. Systemic Treatment of Advanced Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors in Korea: Literature Review and Expert Opinion. *Cancer Res Treat.* 2021;53(2):291-300. doi:10.4143/CRT.2020.1233
128. Mestier L De, Gaujoux S, Cros J, et al. Long-term Prognosis of Resected Pancreatic Neuroendocrine Tumors in von Hippel-Lindau Disease Is Favorable and Not Influenced by Small Tumors Left in Place. *Ann Surg.* 2015;262(2):384-388. doi:10.1097/SLA.0000000000000856
129. Sainz Esteban A. Aportación del SPECT/CT a la gammagrafía convencional con In-111 pentetreótida en el diagnóstico de los tumores neuroendocrinos. 2012.
130. Andreasi V, Partelli S, Muffatti F, Manzoni MF, Capurso G, Falconi M. Update on gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Dig Liver Dis.* 2021;53(2):171-182. doi:10.1016/j.dld.2020.08.031
131. Lee, Lingaku1. Lee, L., Ito, T. & Jensen, R. T. Expert Review of Anticancer Therapy Imaging of pancreatic neuroendocrine tumors : recent advances , current status , and controversies. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 18 837–860 (2018)., Ito T, Jensen RT. Expert Review of Anticancer Therapy Imaging of pancreatic neuroendocrine tumors : recent advances , current status , and controversies. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2018;18(9):837-860. doi:10.1080/14737140.2018.1496822
132. Hammel P, Hentic O, Neuzillet C, Faivre S, Raymond E, Ruszniewski P. New treatment options with cytotoxic agents in neuroendocrine tumours. *Target Oncol.* 2012;7(3):169-172. doi:10.1007/s11523-012-0228-7
133. Lafuente-Sanchis A, Cuevas JM, Alemany P, Cremades A, Zúñiga Á. Análisis genético en una familia con síndrome de Von Hippel-Lindau. *Rev Española Patol.* 2017;50(1):64-67. doi:10.1016/j.patol.2015.12.004
134. Berton Zbar J, Kishida T, Chen F, et al. Germline Mutations in the von Hippel-Lindau Disease (VHL) Gene in Families From North America, Europe, and Japan. *Hum Mutat.* 1996;8:348-3573. doi:10.1002/(SICI)1098-1004(1996)8:4<348::AID-HUMU8>3.0.CO;2-3
135. Gascón A, Escobar B, Montero-Conde C, et al. Loss of the actin regulator HSPC300 results in clear cell renal cell carcinoma protection in Von Hippel-Lindau patients. *Hum Mutat.* 2007;28(6):613-621. doi:10.1002/humu.20496
136. Léauté-Labrèze C, Dumas de la Roque E, Hubiche T, et al. Propranolol for Severe Hemangiomas of Infancy. *N Engl J Med.* 2008;358(24):2649-2651. doi:10.1056/NEJMc0708819
137. García-Sevilla J, Barturen F. Fármacos que modifican la actividad simpática. In: *Farmacología Humana.* 3rd ed. Barcelona: Masson; 1997:275-276. https://medicinaupv.files.wordpress.com/2011/04/farmacologia_humana_-_florez_spa.pdf.
138. Limited CE. Thalidomide Celgene®, Anexo I Ficha técnica o Resumen de las características del producto. 2018:41.
139. Piribauer M, Czech T, Dieckmann K, et al. Stabilization of a progressive hemangioblastoma under treatment with thalidomide. *J Neurooncol.* 2004;66(3):295-299. doi:10.1023/B:NEON.0000014493.88402.dc
140. Sardi I, Sanzo M, Giordano F, et al. Monotherapy with thalidomide for treatment of spinal cord hemangioblastomas in a patient with von Hippel-Lindau disease. *Pediatr Blood Cancer.* 2009;53(3):464-467. doi:10.1002/pbc.22065
141. Kumar S, Rajkumar SV. Thalidomide and dexamethasone: therapy for multiple

- myeloma. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2005;5(5):759-766.
doi:10.1586/14737140.5.5.759
142. Chen LX, Wu M, Yang LL. Preparation , characterization , in vitro and in vivo anti-tumor effect of thalidomide nanoparticles on lung cancer. *Int J Nanomedicine.* 2018;13:2463-2476. doi:10.2147/IJN.S159327
 143. Huang YT, Cheng CC, Chiu TH, Lai PC. Therapeutic potential of thalidomide for gemcitabine-resistant bladder cancer. *Int J Oncol.* 2015;47(5):1711-1724. doi:10.3892/ijo.2015.3155
 144. Shi S, Wang M, Niu Z, Tang X, Liu Q. Phase II trial of capecitabine combined with thalidomide in second-line treatment of advanced pancreatic cancer. *Pancreatology.* 2012;12(6):475-479. doi:10.1016/J.PAN.2012.09.007
 145. Yang W, Wang D, Huang L, et al. Thalidomide Combined with Transcatheter Arterial Chemoembolization (TACE) for Intermediate or Advanced Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review and GRADE Approach. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018;19(8):2043-2055. doi:10.22034/APJCP.2018.19.8.2043
 146. Luczkowska K, Litwinska Z, Paczkowska E, Machalinski B. Pathophysiology of drug-induced peripheral neuropathy in patients with multiple myeloma. *J Physiol Pharmacol.* 2018;69(2):165-172. doi:10.26402/jpp.2018.2.02
 147. Jonasch E, McCutcheon IE, Gombos DS, et al. Pazopanib in patients with von Hippel-Lindau disease: a single-arm, single-centre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2018;19:1351-1359. doi:10.1016/S1470-2045(18)30487-X
 148. González del Alba Baamonde A, Lázaro Quintela M. Cáncer renal. SEOM, Sociedad Española de Oncología Médica. <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/renal>. Published 2017.
 149. Taylor DG, Ilyas A, Mehta GU, et al. Variable response of CNS hemangioblastomas to Pazopanib in a single patient with von Hippel-Lindau disease: Case report. *J Clin Neurosci.* 2018;50:154-156. doi:10.1016/j.jocn.2018.01.040
 150. Ferrara N, Davis-Smyth T. *The Biology of Vascular Endothelial Growth Factor.*; 1997. doi:10.1210/edrv.18.1.0287
 151. MINISTERIO DE SANIDAD POLÍTICA SOCIAL E IGUALDAD. Ficha Técnica Propranolol. *Agencia española Medicam y Prod Sanit.* 2012:1-12.
 152. EMA - European Medicines Agency. Anexo I: Ficha técnica o resumen de las características del producto 1. *Agencia Eur Medicam.* 2014:1-33. doi:10.1158/0008-5472.SABCS12-S5-3
 153. Sans V, de la Roque ED, Berge J, et al. Propranolol for Severe Infantile Hemangiomas: Follow-Up Report. *Pediatrics.* 2009;124(3):e423-e431. doi:10.1542/peds.2008-3458
 154. Storch CH, Hoeger PH. Propranolol for infantile haemangiomas: Insights into the molecular mechanisms of action. *Br J Dermatol.* 2010;163(2):269-274. doi:10.1111/j.1365-2133.2010.09848.x
 155. Pasquier E, Ciccolini J, Carre M, et al. Propranolol potentiates the anti-angiogenic effects and anti-tumor efficacy of chemotherapy agents: implication in breast cancer treatment. *Oncotarget.* 2011;2(10):797-809. doi:10.18632/oncotarget.343
 156. De Giorgi V, Grazzini M, Benemei S, et al. Propranolol for Off-Label Treatment of Patients With Melanoma. *JAMA Oncol.* 2017. doi:10.1001/jamaoncol.2017.2908

157. Díaz-Castellanos M-A, Villar Gómez De Las Heras K, Díaz-Redondo T, González-Flores E, Albiñana V, Botella L-M. Case Report: Propranolol increases the therapeutic response to temozolomide in a patient with metastatic paraganglioma [version 1; referees: awaiting peer review]. *F1000Research*. 2017. doi:10.12688/f1000research.13185.1
158. Galván DC, Ayyappan AP, Bryan BA. Regression of primary cardiac angiosarcoma and metastatic nodules following propranolol as a single agent treatment. *Oncoscience*. 2018;5(September):262. doi:10.18632/oncoscience.472
159. Arevalo J, Arias J, Serrano M. Oral propranolol for exudative retinal detachment in diffuse choroidal hemangioma. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(10):1373-1375. doi:10.1001/archophthalmol.2011.294
160. Albiñana V, Escribano RMJ, Soler I, et al. Repurposing propranolol as a drug for the treatment of retinal haemangioblastomas in von Hippel-Lindau disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2017. doi:10.1186/s13023-017-0664-7
161. González-Rodríguez B, Villar Gómez de las Heras K, Aguirre DT, et al. Evaluation of the safety and effectiveness of oral propranolol in patients with von Hippel-Lindau disease and retinal hemangioblastomas: phase III clinical trial. *BMJ Open Ophthalmol*. 2019;4(1):e000203. doi:10.1136/bmjophth-2018-000203
162. Ma X, Zhao T, Ouyang T, Xin S, Ma Y, Chang M. Propranolol enhanced adipogenesis instead of induction of apoptosis of hemangiomas stem cells. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(7):3809-3817.
163. Trabajo M de. Orden de 15 de abril de 1969 por la que se establecen normas para la aplicación y desarrollo de las prestaciones por invalidez en el Régimen General de la Seguridad Social. TEXTO CONSOLIDADO. *BOE nº 110, 8 mayo 1969*. 2013;1966:1-20.
164. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. Real Decreto 1971/1999, de 23 de diciembre, de procedimiento para el reconocimiento, declaración y calificación del grado de minusvalía. *BOE número 22 26/1/2000*. 2000;22(26/1/2000):3317-3410.
165. Vincent HH, Man AJ, Boomsma F, et al. Is beta 1-antagonism essential for the antihypertensive action of beta-blockers? *Hypertension*. 1987;9(2):198-203. doi:10.1161/01.hyp.9.2.198
166. Jefferson D, Wharrad HJ, Birmingham AT, Patrick JM. The comparative effects of ICI 118551 and propranolol on essential tremor. *Br J Clin Pharmacol*. 1987;24(6):729-734. doi:10.1111/j.1365-2125.1987.tb03238.x
167. Cuesta AM, Albiñana V, Gallardo-Vara E, et al. The β_2 -adrenergic receptor antagonist ICI-118,551 blocks the constitutively activated HIF signalling in hemangioblastomas from von Hippel-Lindau disease. *Sci Rep*. 2019;9(1):10062. doi:10.1038/s41598-019-46448-6
168. Albiñana V, Gallardo-Vara E, de Rojas-P I, et al. Targeting β_2 -Adrenergic Receptors Shows Therapeutical Benefits in Clear Cell Renal Cell Carcinoma from Von Hippel-Lindau Disease. *J Clin Med*. 2020;9(9):2740. doi:10.3390/jcm9092740

