



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Papel del betabloqueante Propranolol en el Sistema  
Inmune: realidad y perspectivas para la enfermedad  
de von Hippel-Lindau**

Autor: Lucía Izquierdo Garcia

Fecha: 3 Junio 2020

Tutor: Ángel Cuesta Martínez

# INDICE

1. RESUMEN.....	3
2.1. Enfermedad de von Hippel-Lindau.....	4
2.2 Papel del factor inducible por hipoxia.....	5
2.3 Propranolol.....	7
3. OBJETIVOS.....	8
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
5.1 Acción Inmunomoduladora.....	8
5.2 Actividad Antiinflamatoria.....	12
6. CONCLUSIÓN.....	15
7. BIBLIOGRAFIA.....	16

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

VHL: von Hippel-Lindau	NO : óxido nítrico
HIF: Factor inducible por hipoxia	eNOS: enzima óxido nítrico sintasa
HB : Hemangioblastoma	ROS: especies reactivas de oxígeno
VEGF: Factor de crecimiento vascular endotelial	TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa
PDGF: Factor de crecimiento de plaquetas	NK: células asesinas
TFG- $\beta$ : Factor de crecimiento tumoral $\beta$	Glut-1: transportador de glucosa
SI: Sistema Inmune	NF- $\kappa$ B: Factor nuclear Kappa beta
SNC: Sistema Nervioso Central	IFN $\gamma$ : interferon gamma
CTL: Linfocitos T citotóxicos	M2: Macrófagos activados por vía alternativa
TAMs: Macrófagos asociados a tumores	APCs: células presentadoras de antígeno

## 1.RESUMEN

La enfermedad von Hippel-Lindau (VHL), es una patología rara, de herencia autosómica dominante, de alta penetrancia, ocasionada por la mutación del gen supresor de tumores *VHL*, situado en el brazo corto del cromosoma 3 (3p25-26). De acuerdo con la hipótesis de Aldred G Knudson (Two-hits), para que se exprese el fenotipo, es necesario que primero el individuo sea portador de la mutación en uno de los alelos (mutación germinal) y que posteriormente el otro alelo sea inactivado por una mutación somática. En el 80% de los afectados, la mutación constitutiva del gen *VHL* se hereda de uno de los progenitores, en el 20% restante se trata de una mutación *de novo* (con línea parental sana).

El diagnóstico (salvo antecedentes familiares, que es genético) se basa en la sintomatología, siendo ésta de distintos tipos y grado de gravedad debido a su gran variabilidad fenotípica. Sin embargo, sí suele haber una predisposición del paciente a desarrollar tumores benignos y malignos en órganos como los riñones, la retina y el Sistema Nervioso Central.

El Propranolol, es un betabloqueante no selectivo de receptores  $\beta_1$  y  $\beta_2$  adrenérgicos que, gracias a sus diferentes propiedades hemodinámicas, vasculares y metabólicas se utiliza para tratar patologías cardíacas como la hipertensión, la angina de pecho y la arritmia. Sin embargo, este fármaco ha sido también aprobado como medicamento huérfano para el tratamiento de esta enfermedad de manera sistémica y crónica. Por ello es conveniente conocer los efectos que genera sobre el Sistema Inmune, entre otros, así como sus aplicaciones y aproximaciones terapéuticas.

**Palabras clave:** von Hippel-Lindau, tumores, Propranolol, receptores  $\beta$  adrenérgicos, Sistema Inmune, inflamación, actividad antioxidante, efecto inmunomodulador

## ABSTRACT

Von Hippel- Lindau disease (VHL) is a rare genetic disorder, caused by a mutation of the tumor suppressor gene *VHL*, located on the short arm of the chromosome 3 (3p25-26). According to the “two-hits” hypothesis of Aldred G Knudson, the individual must carry the mutation in one of the alleles (germline mutation) but in order to express the phenotype of the disease, the other allele must be inactivated by a somatic mutation. In the 80% of those affected, the mutation of *VHL* suppressor gene is inherited from one of the parents, whereas the remaining 20% might be a *de novo* mutation (with healthy parental line)

VHL syndrome presents phenotypic variability, that is why, the manifestations and symptoms can vary between patients. However, it is characterized by benign and malignant tumors in kidney, retina and the Central Nervous System.

Propranolol is a non-selective, competitive  $\beta_1$  and  $\beta_2$  adrenergic receptors antagonist. It is widely used to treat cardiovascular disorders including hypertension, angina, arrhythmias. However, this drug has been approved as orphan drug for the treatment of this disease in a systemic and chronic way. In order to this, it is convenient to study the effects it causes in the Immune System, as well as its uses, benefits and therapeutic approaches.

**Key words:** von Hippel-Lindau, tumors, Propranolol,  $\beta$  adrenergic receptors, Immune System, inflammation, antioxidant activity, immunomodulatory effect.

## 2.INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

### 2.1. Enfermedad de von Hippel-Lindau

La enfermedad de von Hippel-Lindau es una enfermedad rara hereditaria autosómica dominante (1/36.000 nacimientos), de alta penetrancia, causada por una mutación del gen *VHL* (3p25-26) que codifica para una proteína (pVHL) de 213 aminoácidos y de aproximadamente 30 kD (1).

Este gen supresor de tumores responde al modelo *two hits*, en donde un 80% de los pacientes heredan el alelo mutado de uno de los padres (mutación germinal) (*first-hit*) que predispone a desarrollar tumores de diferentes grados. Para que la enfermedad se manifieste y desarrolle, se precisa de una segunda mutación adquirida en el otro alelo (*second hit*). (2)

Las lesiones suelen manifestarse durante la segunda década de vida, siendo la penetrancia total a los 60 años. Sin embargo, pese a tratarse de un síndrome pluritumoral, no todos los pacientes desarrollan las mismas alteraciones. La sintomatología, por tanto, dependerá del tipo de tumor que se forme:

- **Hemangioblastomas**

Los hemangioblastomas (HB) son tumores vascularizados que se pueden encontrar tanto en el SNC como en la retina y se presentan en un 60-80% de los pacientes.

Los HB retinianos son los más frecuentes y marcan el debut de la enfermedad en un tercio de los casos. Estos tumores pueden ser múltiples o bilaterales y muy difíciles de visualizar en su inicio, identificarlos de manera precoz es esencial, puesto que pueden desencadenar en desprendimiento de retina, glaucoma, cataratas o ceguera. (3)(4)

Los HB de SNC están asociados a un aumento de la presión intracraneal, dolor de cabeza, vómitos y alteraciones de la marcha. Aunque suelen aparecer habitualmente en el cerebelo, también pueden surgir en la medula espinal o en el tronco cerebral.

- **Carcinoma renal de células claras, multicéntricos y bilaterales**

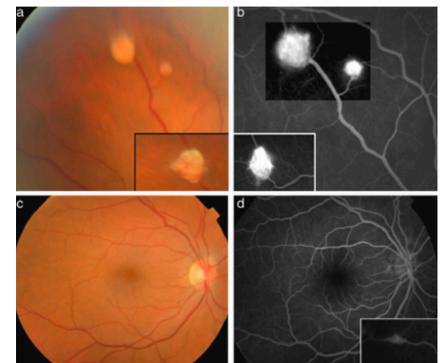
Los carcinomas renales suelen ir acompañados de quistes renales múltiples. Este tipo de tumores se presenta en el 40% de los pacientes.

- **Feocromocitomas**

Los feocromocitomas son tumores generalmente benignos, poco comunes en pacientes VHL, poco sintomáticos y cursan con hipertensión, cefaleas y palpitaciones. Producen cantidades excesivas de catecolaminas y pueden ser adrenales o extraadrenales.

Otras manifestaciones de la enfermedad son: quistes pancreáticos, hepáticos, cistoadenoma del epididimo o tumores del saco endolinfático. (1)(3)

Numerosos fármacos han sido investigados en ensayos clínicos y testados en pacientes con un diagnóstico confirmado de von Hippel-Lindau. Entre ellos destaca, el Ranibizumab, anticuerpo monoclonal con afinidad por el Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (VEGF), Divitinib y Sunitinib inhibidores de amplio espectro de receptores tirosin kinasa así como el Propranolol,



**Fig. 1- a y c) HB capilar retiniano múltiples superiores e inferiores b y d) Angiografía donde se aprecia la hiperfluorescencia de los hemangiomas superiores e inferiores. (4)**

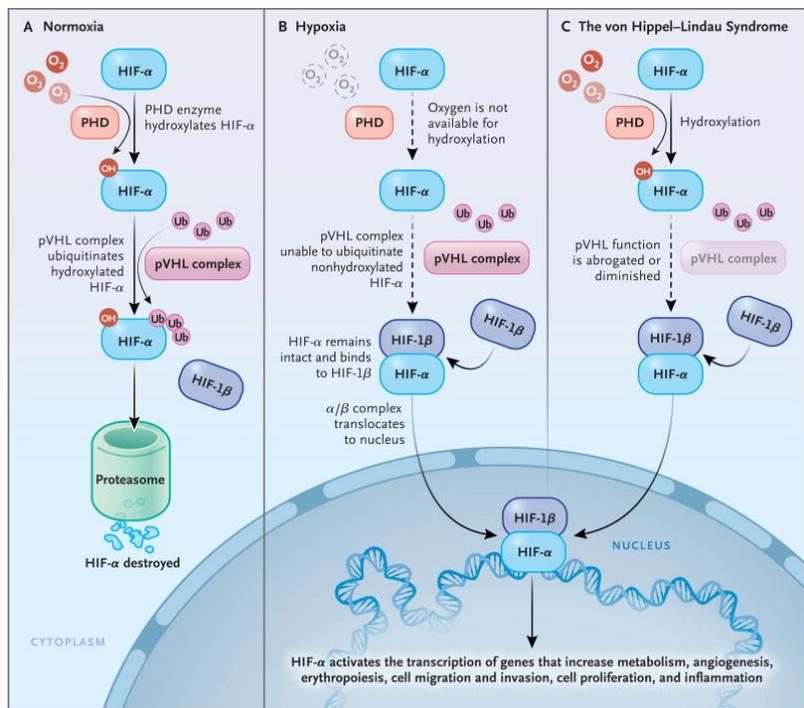
el fármaco sobre el que se basa la presente investigación. Este último, forma parte de los betabloqueantes no selectivos, y de entre sus múltiples y diversas funciones, se ha descubierto recientemente una notable capacidad terapéutica en tumores retinianos y procesos inflamatorios en pacientes VHL. Es por esto, por lo que ha sido aprobado como medicamento huérfano en pacientes VHL (EU/3/17/1841). (5)(6)

## 2.2 Papel del factor inducible por hipoxia

La proteína multifuncional pVHL forma parte del complejo proteico E3 ubiquitin ligasa, cuya función, entre otras, es la de ubiquitinar el factor inducible por hipoxia (HIF), regulando así la homeostasis celular dependiente de la presión de oxígeno presente. (7)

En presiones de oxígeno normales (normoxia) como indica la figura 2, el residuo de prolina de HIF-alfa es hidroxilado por las Prolil hidroxilasas (PDHs), siendo reconocido por pVHL y ubiquitinizado para poder ser degradado por el proteasoma.

Sin embargo, en bajas presiones de oxígeno (hipoxia), las enzimas PHDs se inactivan, por lo que el factor HIF- $\alpha$  no es hidroxilado. La proteína VHL entonces no reconoce HIF, haciendo que no sea degradado, se establece y pueda dimerizar con HIF- $\beta$ , para translocarse al núcleo y actuar como un factor de transcripción. Entre los genes que regula, se encuentran: transportador de glucosa (Glut-1), eritropoyetina (EPO), el Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (VEGF), el Factor de Crecimiento de Fibroblastos (bFGF), metaloproteasas (MMPs), endoglina, así como las citoquinas TNF- $\alpha$  y TGF- $\beta$ .(8)El receptor CXC citoquinas 4 y su ligando stromal cell derived



factor (SDF)-1 han sido identificados como otra posible diana del factor HIF que contribuye al proceso de tumorigénesis.(9)

En los tejidos tumorales, VEGF es el responsable de la activación de células endoteliales, de macromoléculas que conducen a la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis), del aumento de la permeabilidad vascular y de la extravasación de proteínas plasmáticas, así como de otras. En estudios *in vitro*, se ha demostrado que la sobreexpresión de VEGF está regulada por altas concentraciones de HIF-1 además de por macrófagos, plaquetas y otras células. (9)

El factor HIF tiene, además, un importante papel en el SI, ya que participa en la activación de receptores de superficie de citoquinas, linfocitos, moléculas de adhesión, macrófagos siendo estas células necesarias para iniciar y coordinar una respuesta inmunitaria. El SI, a través de la inmunidad innata activa mecanismos de defensa como fagocitosis, inflamación, así como mecanismos de defensa inespecíficos que activan ciertas respuestas del hospedador a través de

la expresión de interferones y activación de células asesinas (NKs). Cuando los mecanismos de la respuesta innata no han sido suficientes para mantener al organismo protegido, nuevas células (linfocitos B y T) se encargan de reconocer, activarse y diferenciarse en células efectoras para desarrollar una respuesta específica conocida como respuesta adaptativa. Adicionalmente, las células presentadoras de antígenos (APCs), macrófagos y citoquinas que intervienen en la respuesta innata también actúan en la respuesta adaptativa demostrando así la importancia de la coordinación entre ambas respuestas. (10)

Por otro lado, la conexión entre la mutación VHL y la consiguiente sobreexpresión del HIF, permite la participación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido nítrico (NO) que contribuyen e intervienen en procesos inflamatorios y proliferativos; además estas pueden provocar cambios genéticos en células precancerosas mediante la inducción de ROS o inactivación de enzimas reparadoras. (7)

La expresión de HIF es esencial para regular e inducir la respuesta proinflamatoria Th17 a partir de células T-CD4 y permitir que éstas puedan diferenciarse a Th17 o T reguladores. Sin embargo, la citoquina IL-17 juega un doble rol contradictorio sobre la inmunidad antitumoral, facilitando o impidiendo la progresión de varios tumores según el ambiente de citoquinas. (7) De acuerdo con lo anterior, en un estudio *in vivo* se observó que ratones con menor número de células Th17 resultaron protegidos de desarrollar enfermedades autoinmunes y sepsis. Por el contrario, en ratones modificados genéticamente para el silenciamiento de la expresión *vhl* en el epitelio renal (VHL-KO), se acentuaba la respuesta inflamatoria y el proceso de tumorigénesis, desarrollando fibrosis renal y carcinoma renal.(11)(12)

En cambio, otros autores como Benchetrit, *et al.* han observado que el aumento de la actividad citotóxica estimulada por la IL-17 tiene una posible actividad antitumoral en mastocitomas o plasmocitomas. (13)(14)

La sobreexpresión de HIF, conlleva un aumento de otras citoquinas como IL-4 e IL-10 que favorecen la activación alternativa de macrófagos (M2) los cuáles inhiben la producción de IFN- $\gamma$ , antagonizan respuestas inmunes de tipo Th1 y por tanto conducen la respuesta hacia Th2. Estas células colaboradoras Th provienen de la activación de linfocitos T CD4+ que se diferencian en linfocitos efectoras (Th1, Th2 o Th17) según las citoquinas presentes en la sinapsis inmunitaria. Se denominó Th1 a los linfocitos secretores de IFN  $\gamma$  e IL-2, Th2 a los linfocitos que segregan IL-4 y colaboran en la activación de linfocitos B y Th17 a los linfocitos que segregan IL-17 y IL-22. Estas células efectoras median mecanismos de protección contra diferentes patógenos y además están involucradas en diferentes enfermedades como VHL.

Los macrófagos asociados a tumores (TAMs) de tipo M2 participan en este ambiente inflamatorio secretando citoquinas TNF $\alpha$  y TGF-  $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, CTLA-4, IL-10 que junto con la síntesis de granzimas y NO, amplifican las respuestas inflamatoria y quimiotáctica.(15) Algunas de estas citoquinas favorecen la inducción de enzimas oxidantes como la NADPH oxidasa o la Xantina oxidasa, presentes en fagocitos y en células endoteliales que producen anión superóxido, así como estimulan a la familia enzimática de NOS (Óxido nítrico) para producir NO a partir de arginina a través de dos reacciones de mono oxidación.(17)

La transferencia de electrones en eNOs (enzima óxido nítrico sintasa), es un proceso muy regulado, pero sin embargo puede verse afectado por desacoplamientos de eNOS o por desactivación de enzimas por cambios en sus sustratos o cofactores. Cuando esto sucede, la transferencia de electrones es conducida hacia el oxígeno molecular en lugar de hacia la arginina, aumentando la producción de superperóxidos y la activación de enzimas oxidantes. Además, varias moléculas oxidantes producidas en tejidos inflamados también reaccionan entre

ellas (Peróxinitrilo y NO) con oxígeno y ROS, pudiendo inducir mutaciones en el ADN de las células del SI. (18)

En condiciones fisiológicas, ROS son producidas por diferentes células de forma controlada, actuando como segundos mensajeros y regulando funciones endoteliales. Sin embargo, cuando existe una sobreproducción de éstas, contribuyen al desarrollo de lesiones vasculares y generación de tumores.(14)

Establecer el papel que tienen las ROS sobre el SI en la enfermedad VHL es comprometido. A pesar de ello, nuevos modelos genéticos han demostrado que, en condiciones de hipoxia, la cadena de transporte de electrones de la mitocondria regula la estabilidad de HIF- $\alpha$  a través de la producción de ROS (19)(20). Se han descrito diferentes mecanismos por los que ROS mitocondrial inactiva PHD2 a través de modificaciones postraduccionales o cambios en la estructura de la enzima permitiendo así la estabilización del factor inducible de hipoxia y su actividad transcripcional.(19)

## 2.3 Propranolol

Propranolol, es el fármaco prototipo de los antagonistas  $\beta$ -adrenérgicos. Es un antagonista competitivo no selectivo de la noradrenalina y adrenalina endógenas, con lo que se impide la activación de la adenilil ciclasa y la síntesis de AMP cíclico, así como la activación de los canales de calcio dependientes de voltaje en la membrana.

Los efectos más importantes ocurren sobre el aparato cardiovascular pues el Propranolol ejerce una acción cronotrópica negativa que provoca una reducción de la frecuencia cardíaca, así como una acción ionotrópica negativa que disminuye la fuerza contráctil y reduce la velocidad a la que aumenta la tensión en el corazón. Además, este fármaco bloquea receptores  $\beta$  localizados en la superficie de las células juxtaglomerulares, reduciendo así la secreción de renina, la cual está implicada en el sistema renina-angiotensina-aldosterona que controla la presión arterial. (21)

El Propranolol está indicado para el tratamiento de la hipertensión, de la angina de pecho, control de arritmias, taquicardias por ansiedad, manejo del glaucoma y otras patologías. Es usualmente bien tolerado, sin embargo,

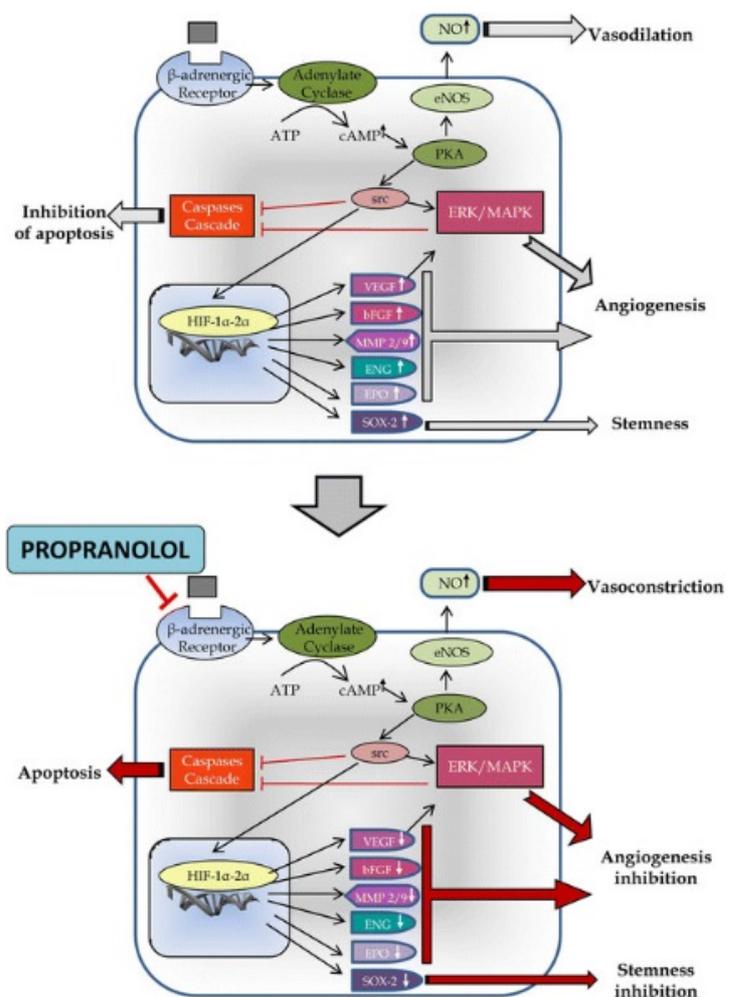


Figura. 3- Mecanismo de acción del Propranolol (5)

se pueden presentar efectos adversos como: bradicardia, hipotensión postural, confusión, mareo, deterioro de la insuficiencia cardiaca. (21)

Hoy en día desde el 2008, Propranolol juega un papel de importante en el tratamiento de hemangiomas infantiles y además ha sido aprobado como medicamento huérfano en pacientes VHL. (22)(5)

Propranolol también se emplea de manera experimental en ensayos *in vitro* e *in vivo* sobre diferente tipos de tumores, así como se investiga su acción inmunomoduladora y antiinflamatoria que podría tener ventajas sobre diferentes patologías, entre ellas, en el síndrome de VHL.

### **3. OBJETIVOS**

La presente investigación tiene como objetivo recopilar la información a cerca de los efectos de Propranolol sobre el SI en ensayos *in vitro* e *in vivo*, para poder así evaluar las potenciales aplicaciones terapéuticas que este medicamento pueda tener en la enfermedad de VHL.

### **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

Se ha realizado una revisión bibliográfica de artículos científicos publicados en revistas, a partir de distintas bases de datos como PubMed, Scandidos Publications, The journal of Immunology, o Clinical Trials con la búsqueda “VHL”, “Propranolol AND immunity” limitando el número de estudios a los últimos 10 años.

Además, se han utilizado estudios que aparecían citados en los artículos científicos como referencias bibliográficas que, aunque son anteriores a hace diez años, ofrecen una información lo suficientemente interesante y pertinente como para ampliar y detallar más la presente revisión.

Por otro lado, se han consultado revistas especializadas y las fichas técnicas de las moléculas comercializadas y mencionadas en dicha revisión, recopiladas a partir de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) y de la European Medicines Agency (EMA).

### **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados de la investigación bibliográfica se han clasificado según la acción inmunomoduladora y antiinflamatoria del Propranolol sobre el SI.

#### **5.1 Acción Inmunomoduladora**

I. J. Elenkov, *et al.* afirman que existe una interacción neuroendocrina entre el SI y el sistema simpático, por lo que el Propranolol, podría suponer una ventaja para muchas enfermedades mediadas por una disbiosis del SI. (23)(24)

El efecto estimulador del Propranolol se debe a su acción sobre la inmunidad innata, que promueve posteriormente la inmunidad adaptativa a través de la expresión de citoquinas junto con otras células inmunitarias.(25) Esta acción inmunomoduladora, ha sido estudiada en numerosos experimentos *in vitro* e *in vivo*, que demuestran cómo este fármaco influye en la

expresión de las citoquinas IL-10, IL-12 e IL-17 ya que las células del SI (neutrófilos, macrófagos y linfocitos) que secretan estas, presentan receptores  $\beta$  adrenérgicos. Así pues, el bloqueo de estos receptores por la acción del Propranolol induce un cambio en la expresión y ambiente de citoquinas.

A continuación, se describe la importancia y modificación de estas:

#### ▪ La citoquina IL-10

IL-10 es una potente citoquina Th2, con actividad antiinflamatoria e inmunosupresora que inhibe la síntesis de citoquinas proinflamatorias por los linfocitos T y los macrófagos. Sin embargo, la acción que desencadena la citoquina IL-10 sobre el SI nunca ha estado clara, tanto es así que incluso se ha llegado a descubrimientos opuestos al medirse los niveles de IL-10 en diferentes muestras tumorales. (26)

Hay estudios realizados en macrófagos peritoneales murinos que sugieren que esta citoquina promueve procesos de angiogénesis en la retina en un ambiente de hipoxia (27) debido a un cambio fenotípico hacia macrófagos activados (M2). Éstos, en presencia de IL-10, IL-4, IL-13 producen mayor cantidad de esta citoquina y de otras proinflamatorias como IL-6 y TNF-alfa.(15)

López Ps y Alonso FV, en un estudio realizado en 2009, han puesto de manifiesto la relevancia de la citoquina IL-10 en carcinomas renales típicos de esta enfermedad (28) y afirman que el aumento de ésta, se corresponde con un mal pronóstico del tumor, por la participación de más de 30 genes pro-angiogénicos, el aumento de TAMs y citoquinas implicadas en el proceso de tumorigénesis.

Sin embargo, el estudio enfocado en la acción del Propranolol sobre IL-10 en ratones con carcinoma de ascitis de Ehrlich se aparta radicalmente de las ideas anteriores (29). Tras administrar Propranolol 5mg/kg y 10 mg/kg intraperitonealmente, se detectó que el aumento de IL-10 tenía una acción positiva sobre la supresión de la angiogénesis directa e indirecta a través de diferentes mecanismos del SI: modulación de mecanismos apoptóticos, inhibición de citoquinas IL-6 y disminución de las concentraciones de NO. Este estudio se basó en el estudio de la concentración de proteínas de choque térmico Hsp70, Visfatina, la actividad óxido nítrico sintasa, la expresión de IL-10 y del receptor tipo Toll (TLR-2) tras la administración del betabloqueante. No solo la citoquina IL-10 impedía el crecimiento del tumor, sino que el receptor TLR2 presentaba también actividad anti-tumorigénica, ya que estimulaba la vía de señalización “MyD88” en APCs y la consiguiente activación de citoquinas que mejoraban la competencia inmunitaria.

Según el tipo de tumor y el microambiente de citoquinas existente, IL-10 puede reducir la capacidad presentadora de antígenos de células dendríticas, la expresión de moléculas coestimuladoras CD8, MHC II, en definitiva, la reducción de células T. Como consecuencia, se inhibe la respuesta inmune del hospedador y por consiguiente los macrófagos obtenidos de los tejidos tumorales serán mas susceptibles al efecto inmunosupresor provocado por la inhibición de la proliferación de células Th1 y menos sensibles a la acción inmunomoduladora por parte de los linfocitos T reguladores y las NK para lograr ese efecto antitumoral.(30)

### ▪ **Citoquina IL-12 Y IL-2**

La estimulación de los receptores  $\beta$  adrenérgicos conduce al SI hacia respuestas Th2, cuyos protagonistas son los macrófagos activados por vías alternativas (M2), que expresan una disminución de IL-12 y IFN- $\gamma$ , así como un aumento de citoquinas de IL-10, TNF-alfa, IL-6 y de la quimiocina CCL1 que participa en el reclutamiento de células T reguladoras. (15) Por ello, tras la administración de Propranolol y el consiguiente bloqueo de los receptores betadrenérgicos, la citoquina IL-12 secretada por macrófagos y células dendríticas participa de forma activa en la diferenciación de los linfocitos T CD4+ hacia linfocitos efector Th1 que inhiben selectivamente la actividad de los Th2. (25) Esta población de linfocitos T helper 1 incrementa la expresión de IL-2, IFN- $\gamma$  para así estimular de forma rápida la respuesta innata (mayor atracción de neutrófilos y activación de macrófagos).

La citoquina IL-12 ha demostrado tener un potente efecto antitumoral en una amplia variedad de tumores en modelos murinos. (30) Aunque estos mecanismos empleados por el SI no se conocen completamente, las NK y los linfocitos Th1 sí se ven implicados. IL-12 activa también células T citotóxicas y promueve la secreción de IFN- $\gamma$  a través de células T, que, a su vez, inhiben la proliferación de células tumorales. Esta actividad antitumoral, mediada por NKs, ha sido demostrada en diferentes tumores en ratones (colon, riñón, pulmón), aunque no todos los tumores han sido susceptibles a este tipo de citotoxicidad mediada por NKs. Éstas NKs (31) son capaces de destruir células tumorales o infectadas por algún virus reconociendo los anticuerpos que las recubre o alteraciones en las células producidas por la respuesta innata. Cuando las NKs se activan, liberan sustancias conocidas como perforinas y granzimas, que atacan las membranas de estas células alteradas e inducen su muerte. Además, las células NKs al activarse segregan otras citoquinas como el TNF- $\alpha$  y el IFN- $\gamma$  que ayudan a destruir a estas células tumorales.

Se han realizado también ensayos clínicos en voluntarios sanos para intentar dar respuesta a la pregunta de cómo afecta el Propranolol a los parámetros de la inmunidad humana (32). Catorce voluntarios sin historia de diabetes, hipertensión, o enfermedad tiroidea fueron tratados durante 7 días con 3 dosis diarias de 40 mg de Propranolol para estimar cómo se modificaba la proliferación de linfocitos, la secreción de citoquina IL-12 y la actividad de las NK. Como resultado del dicho estudio, se observó un incremento de la citoquina IL-2 y de los receptores de ésta, además de la elevación en el número de linfocitos circulantes y leucocitos. Aunque no existió un aumento en el número de NKs, si se vio potenciada la actividad lítica de estas, en concreto, en 10 de los 12 sujetos que participaban.

### ▪ **Citoquina IL-17**

La citoquina IL-17 tiene una importante función en la activación de linfocitos T citotóxicos (CTL), además de en la estimulación la secreción de IL-12 que promueve esa respuesta Th1, con el fin de activar más CTL contra los antígenos tumorales.(14)

Ratones tratados con Propranolol, presentan un aumento de interleuquina IL-17 con el consiguiente aumento de CTLs que junto con las células NK producen más IFN- $\gamma$ . Este IFN- $\gamma$  promueve la sobreexpresión del complejo de histocompatibilidad de tipo 1 (MHC-1) para así facilitar el reconocimiento del tumor. (14) Sin embargo, el rol de esta citoquina no está del todo bien definido, por lo que puede resultar contradictorio según el tipo de tumor, ya que la células Th-17 promueven la secreción de citoquinas pro-inflamatorias como IL-17A, IL-6, TNF-alfa, TGF- $\beta$  que alteran la vigilancia inmunitaria reclutando células mieloides supresoras y permitiendo a ciertos tumores crecer más.(33) También se ha identificado su propiedad

inmunosupresora través de dos posibles mecanismos: las células Th se transforman en células T-reguladoras o bien, el TGF- $\beta$  estimula a células Th-17 a expresar ectonucleotidasas y liberar adenosina inmunosupresora.

Esta actual interpretación sobre las citoquinas ha sido respaldada por un estudio reciente publicado en el 2008 (34), en el cual se administró Propranolol como adyuvante junto con una vacuna formada por células mamarias del tumor lisado a un total de 64 ratones. De forma aleatoria, se dividieron los animales en cuatro grupos, de modo que el primer grupo fue inmunizado con Propranolol y el tumor lisado, el segundo grupo se trató solo con tumor lisado y con PBS, el tercer grupo recibió Propranolol en combinación con PBS y al cuarto grupo se le administró únicamente PBS. Tras utilizar la técnica de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), se observó que los ratones del primer grupo inmunizados con Pro/ Vac secretaban más IL-12, IL-17. Con este ensayo se manifiesta la potente acción inmoduladora del Propranolol y su capacidad de inducir una respuesta inmune celular para así reducir la progresión de tumores de mama. (35)

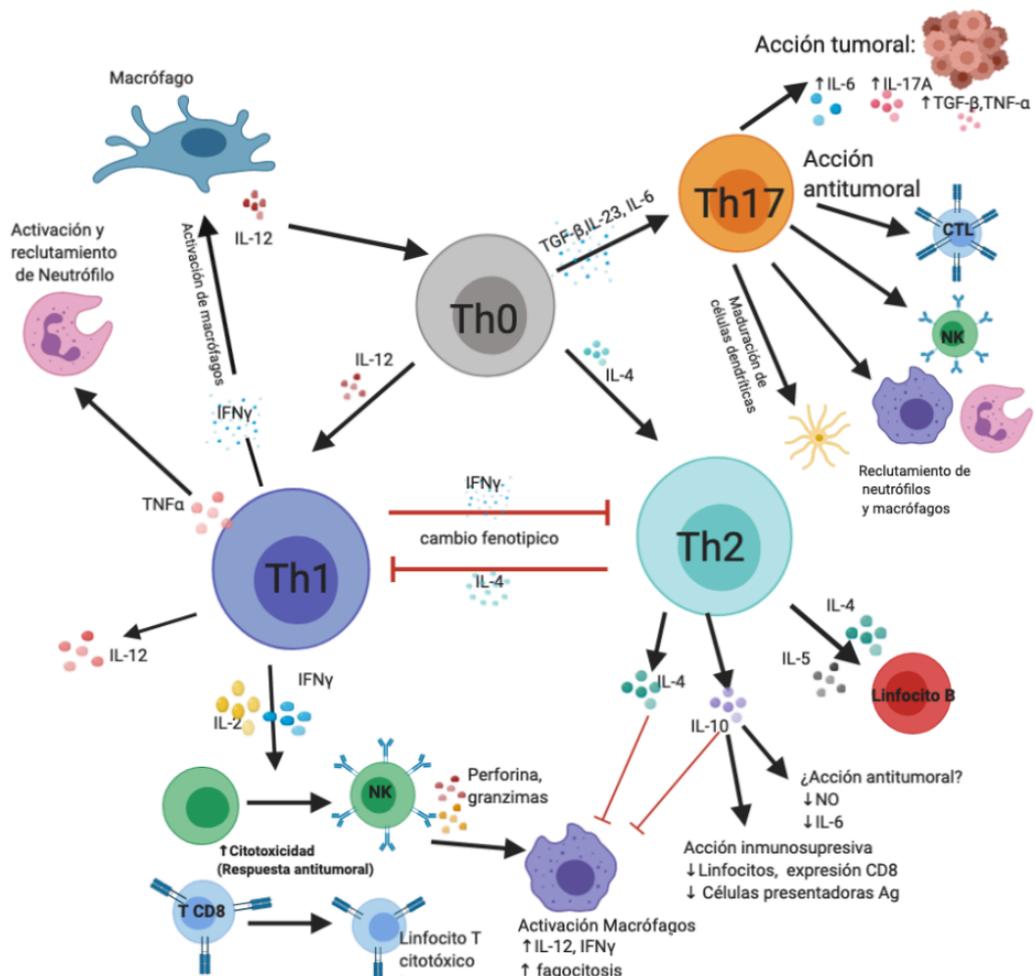


Figura. 4- Funciones efectoras de los linfocitos Th1, Th2 y Th17.

## 5.2 Actividad Antiinflamatoria

La inflamación es la primera línea de defensa beneficiosa contra patógenos. Sin embargo, una respuesta inflamatoria exagerada y desregulada puede también contribuir al proceso de tumorigénesis desde la fase de iniciación hasta la fase de metástasis.

El estudio genético realizado a varias familias portadoras de la inactivación del gen *VHL*, muestra que esta guarda relación con el desarrollo de tumores renales. (36) Existen suficientes evidencias que afirman que son tumores inmunogénicos, donde células inflamatorias e inmunes, acentúan el crecimiento tumoral. Estas células permiten al tumor escapar de los mecanismos protectores del SI, mediante la expresión de citoquinas como IL-6, IL-18, TGF- $\beta$  y TNF- $\alpha$  secretadas por estas células renales tras la exposición a la situación de hipoxia o por la activación de otras vías de señalización.(36)

De entre estas citoquinas, cabe destacar que el TNF- $\alpha$  tiene diferentes efectos sobre células tumorales dependiendo del receptor al que se unan TNFR1 o TNFR2. (37)

1. Si el TNF- $\alpha$  se une al receptor TNFR1 (expresado en células endoteliales del riñón), se activan cascadas de señalización intracelular que conducen a mecanismos apoptóticos (NF- $\kappa$ B).
2. Si el TNF- $\alpha$  se une a TNFR2, se activa la proteína tirosin kinasa que estimula la transcripción de proteínas antiapoptóticas y promueve su entrada al ciclo células para que actúen como factores autocrinos de crecimiento en carcinoma de células renales de células claras (ccRCC).

Se han encontrado altos niveles de TNFR2 en plasma y en tejidos de células de carcinoma renal, por lo que cabe destacar que TNF- $\alpha$  juega un papel importante en los procesos apoptóticos e inflamatorios mediados por la interacción entre citoquinas, quimioquinas y por la activación de rutas de señalización. Este TNF- $\alpha$  junto con otros marcadores inflamatorios (CXCR4, IL-6, IL-1 $\beta$ ) facilitan el desarrollo y transformación de células cancerosas, así como mecanismos de evasión y metástasis. Los efectos proinflamatorios del TNF- $\alpha$  se deben principalmente a la activación de NF- $\kappa$ B, que activa la expresión de genes inflamatorios (ciclooxigenasa 2, lipoxigenasa 2, moléculas adhesivas, citoquinas proinflamatorias) y junto con otras citoquinas como IL-17, IL-1 $\beta$  reclutan neutrófilos en los sitios de inflamación. (38) (14)

El TNF- $\alpha$  no es el único que interviene en los procesos inflamatorias, sino que el factor de crecimiento tumoral acompañado de otras citoquinas aumenta el reclutamiento de neutrófilos e inducen inflamación crónica en tumores pancreáticos entre muchos otros. Sin embargo, el tratamiento con Propranolol aplicado sobre un modelo murino que presentaba cáncer pancreático, ha demostrado ser eficaz en reducir el volumen tumoral y las citoquinas inflamatorias lo que puede suponer una ventaja en pacientes VHL. (39)

Un estudio realizado por Albiñana *et al.* (40) sobre tres tipos de cultivos *in vitro* diferentes como la línea células humana HMEC-1 (human microvascular endothel cell line), el cultivo primario HUVECs (primary human umbilical vein endothel cell) y la línea murina EOMA (mouse hemangioendothelioma endothel cell), demostró que el Propranolol inhibía la actividad transcripcional de endoglin y genes ELK que codifican para los receptores de la familia TGF- $\beta$ . Esto conllevó a una disminución de la concentración TNF- $\alpha$  con un potente efecto antiinflamatorio, así como el efecto antiproliferativo.

Otros ensayos clínicos realizados en pacientes de 6 meses de edad siguen esta misma línea y sugieren que el Propranolol tiene un efecto curativo sobre los hemangiomas infantiles que parece estar asociado a una disminución de las concentraciones de TGF- $\beta$  y de la eNOS.(41)

Aunque se trata de tumores benignos diferentes a los HB retinianos, destacar esos marcadores puede ser significativo para extrapolarlo a VHL ya que son tumores vasculares que presentan similitudes histológicas y patofisiológicas con los de esta enfermedad. Otros ensayos clínicos han demostrado la eficacia del Propranolol sobre HB retinianos por su efecto antiangiogénico y antiinflamatorio reduciendo tumores y exudados en retina. (42)

El posible efecto antiinflamatorio del Propranolol, se trata en diferentes estudios sobre tumores renales causados por inactivación de genes supresores de VHL, así como en patologías cardíacas, sepsis y asma.

Se ha demostrado el impacto de los betabloqueantes sobre la inflamación y la coagulación en ratas con coagulopatía traumático agudo (ATC). Tras ser inyectadas con Propranolol, se concluyó que este podía aliviar la hiperreactividad simpática que ocurre en ATC, así como presentar efectos protectores frente a la inflamación mediante la inactivación y regulación decreciente de la actividad NF- $\kappa$ B, puesto que este factor de transcripción maneja la expresión de citoquinas inflamatorias como (IL-6 y TNF- $\alpha$ ) (36)

En contrapartida, existen pocos datos sobre el efecto inmunomodulador del Propranolol en procesos inflamatorios sistémicos como ocurre en el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica o sepsis. Se ha propuesto la idea de que algunos betabloqueantes como Esmolol puede inducir una reducción en las concentraciones de TNF- $\alpha$  siendo este, el factor principal del fallo multiorgánico durante sepsis. Sin embargo, en otro estudio con pacientes sépticos, las concentraciones de TNF- $\alpha$  se reducen en un 34% tras la administración de una beta agonista. (43)

Haciendo referencia a la literatura existente, se ha investigado sobre el impacto de los  $\beta$ -bloqueantes sobre las funciones celulares y la supervivencia en un modelo murino de sepsis (43). Tras administrar Propranolol a estos ratones sépticos, se incrementó la tasa de apoptosis, se redujo la capacidad de proliferación de estos y la expresión de citoquinas (IL-6, IFN- $\gamma$ ). Además, estos efectos fueron acompañados de un aumento de la letalidad inducida por sepsis y del empeoramiento de la situación clínica de los ratones.(43) Nuevos estudios deben realizarse para tener claro si pudiera tener un efecto beneficioso o en cambio afectar negativamente a la clínica de estos pacientes.

No obstante, el Propranolol sí ha tenido resultados beneficiosos en modelos murinos que presentaban shock hemorrágico. Este betabloqueante disminuyó el número de linfocitos citotóxicos, atenuó la movilización de células NK, disminuyó la tasa de apoptosis y a pesar de que no se vieron afectadas las concentraciones de TNF- $\alpha$ , otras citoquinas proinflamatorias sí se vieron disminuidas (44).

El posible efecto antiinflamatorio que pudiera explicar el Propranolol se ha investigado también en pacientes asmáticos crónicos. Se han realizado ensayos clínicos y numerosos ensayos sobre murinos, que demuestran que la administración crónica de betabloqueantes reduce la hiperreactividad asmática, puesto que disminuye los infiltrados de células inflamatorias (eosinófilos y linfocitos), citoquinas inflamatorias como IL-13, IL-10, IL-5, TGF- $\beta$  y la producción de mucina en los epitelios. (45) A pesar de que supone un gran avance en el tratamiento del asma, todavía hay preguntas a cerca de los diferentes betabloqueantes, las dosis y tiempo que tardan en reducir la hiperreactividad, así como el efecto inotrópico negativo u otros efectos agudos que se podrían desencadenar.

Entre otras muchas aplicaciones que se están estudiando, el tratamiento con betabloqueantes reduce la inflamación sistémica en pacientes que presentan fallo hepático y cirrosis y se ha observado que resulta beneficioso porque reduce el posible daño oxidativo del SNC producido

tras una lesión cerebral. (46) Sin embargo, pocos estudios han sido capaces de resaltar esta propiedad antioxidante de los betabloqueantes para actuar como estabilizadores o reguladores de especies reactivas. Esto es conocido como la actividad “scavenger” que reduce la formación de ROS durante el estallido respiratorio y evita la alteración del balance redox que se origina en procesos inflamatorios.

Un trabajo reciente de Gomes *et al.* (47) compara *in vitro* la actividad antioxidante de distintos betabloqueantes, mediante la medición de su actividad “scavenging”, sobre radicales superóxidos, peróxido de hidrógeno, radicales hidroxilos, ácido hipoclorito, peroxinitrito y óxido nítrico.

Basándonos principalmente en los resultados de este estudio, el Propranolol inhibe la producción peróxidos, hidróxidos, hipocloritos que son producidos por la enzima mieloperoxidasa presente en neutrófilos actividades. Además, inhibe la producción de óxido nítrico (NO scavenging activity), importante de destacar puesto que el NO juega un papel como vasodilatador, además de participar en la respuesta inflamatoria.(47) Esta aplicación de los betabloqueantes es prometedora y podría ser eficaz en el tratamiento de tumores de von Hippel-Lindau, ya que se ha señalado una clara relación entre la sobreexpresión del factor inducible de hipoxia y la producción de ROS.

La asociación entre estrés e inflamación cada vez recobra más sentido. El estrés está implicado en el desarrollo de fenotipos inflamatorios, produce un aumento de marcadores inflamatorios, aumento de interleuquina 6 plasmática, activación de macrófagos y aumento de NKs. Este incremento de los niveles de inflamación aumenta el riesgo de progresión de enfermedades crónicas o el desarrollo de nuevas. La activación del sistema nervioso simpático es el principal mecanismo que traduce el aumento de estrés en un incremento de los niveles de inflamación. Por ello, el Propranolol se usa como tratamiento para el trastorno del estrés, debido al bloqueo de estos receptores. Sin embargo, todavía hay pocos estudios (Benschop et al., 1994) (48) que hayan investigado sobre si el Propranolol reduce la activación del SI inducida por estrés. Los resultados de otros ensayos clínicos (placebo vs Propranolol) han demostrado cómo el Propranolol disminuye las respuesta inflamatoria (disminución de IL-6 y NK) y psicológica tras exponerse a estímulos estresores. (49)

Molécula	Efecto	Tipo de estudio	Efecto global	Tumor	Referencia
IL-10	Aumenta	In vivo (modelo murino)	Antitumoral y Inmunomodulador Antiangiogénica  Inmunosupresión (por supresión de Inmunidad adaptativa según el microambiente)	Tumor maligno en glándula mamaria	29, 30, 34
	Disminuye	In vivo: (murino)	Antiinflamatorio	-	45

IL-12	Aumenta	In vivo: (modelo murino)	Inmunomodulador y antitumoral	Tumor maligno en glándula mamaria	30, 34
		In vivo: Ensayo clínico	Inmunomodulador Antiangiogénica		31
IL-17	Aumenta	In vivo (modelo murino)	Antitumoral	Tumor maligno en glándula mamaria	34, 35
TGF- $\beta$	Disminuye	In vivo: (Ensayo Clínico)	Antiinflamatorio Antitumoral	Tumor en células del páncreas y en hemangioma infantil	39, 40, 41
TNF- $\alpha$	Disminuye	In vitro In vivo	Antiinflamatorio Antitumoral	HB	40 46 , 43, 45
NO	Disminuye	In vitro	Antiinflamatoria y antioxidante	HB retiniano	47
		In vivo	Antitumoral (vasoconstricción)	Hemangioma infantil	42, 46

**Figura. 5- Efecto del Propranolol sobre las distintas citoquinas implicadas en procesos tumorales e inflamatorios.**

## 6. CONCLUSIÓN

Desde el descubrimiento del Propranolol como tratamiento de primera línea en el hemangioma infantil, se han realizado estudios *in vitro* e *in vivo* que aprueban la actividad antitumoral y anti-metastásico en tumores malignos comunes.

Los estudios *in vitro* e *in vivo* presentados hasta ahora proporcionan evidencia de que el Propranolol y su efecto inmunomodulador ha demostrado crear un mecanismo inmune protector a través de la producción de citoquinas, IL-12, IL-17 e IL-10, reduciendo así la progresión tumoral en colon, glándula mamaria, páncreas y tumores hematopoyéticos.

Sin embargo, el papel que juegan estas citoquinas en los distintos tumores y en VHL dependerá del tipo de tumor y del microambiente de citoquinas, ya que por ejemplo la acción antitumoral Th17 es dependiente de IFN- $\gamma$  y en cambio las citoquinas IL-6 y TGF- $\beta$  inducen una respuesta Th17 tumorogénica.

La inflamación crónica es un estimulante de progresión y un factor decisivo en el microambiente tumoral y puesto que los tumores VHL son inmunogénicos y caracterizados por

un ambiente inflamatorio, se han realizado ensayos clínicos que afirman que el Propranolol reduce el volumen tumoral en pacientes con cáncer de páncreas debido a la disminución de citoquinas inflamatorias.

La actividad antiinflamatoria del betabloqueante se ha puesto de manifiesto en estudios *in vivo* de diferentes patologías como (coagulopatías, sepsis, asma, tumores) presentando una reducción de los niveles de TNF- $\alpha$  necrosis tumoral y de otras citoquinas inflamatorias como IL-6, TGF- $\beta$ . Además, otros estudios han resaltado la capacidad antioxidativa que podría tener el Propranolol en reducir la formación de ROS de oxígeno que alteran el balance redox en procesos inflamatorios.

Sin duda, esta actividad farmacológica podría resultar muy positiva en pacientes VHL, ya que existe una relación entre la sobreexpresión del factor inducible de hipoxia y la producción de ROS (trigger inflamatorio).

Además de los mecanismos moleculares típicos de la enfermedad, el estrés que sufren los pacientes de VHL podría estar implicado en el desarrollo de fenotipos inflamatorios que favorecen la progresión tumoral y según esto el Propranolol podría reducir la activación del sistema nervioso simpático y minimizar el estrés que provoca un aumento de moléculas inflamatorias, citoquinas y ROS.

Por tanto, el Propranolol se presenta como un fármaco prometedor, con un buen perfil de seguridad para el tratamiento de este síndrome por su posible acción inmunomoduladora y antiinflamatoria.

## 7.BIBLIOGRAFIA

- (1) Salinas Vert I, Oriola Ambros J. La enfermedad de Von Hippel-Lindau. *Endocrinol y Nutr* [Internet]. 1999;46(2):68. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-endocrinologia-nutricion-12-articulo-la-enfermedad-von-hippel-lindau-8573> ER
- (2) Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971;68(4):820–3.
- (3) Villar Gómez de las Heras K.. Descripción de la enfermedad de von Hippel-Lindau en tres familias españolas. *An. Med. Interna (Madrid)* [Internet]. 2002 Jul [citado 2020 Abr 16] ; 19( 7 ): 34-38.  
Disponible en:[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-71992002000700005&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992002000700005&lng=es).
- (4) González Escobar A.B., Morillo Sánchez M.J., García-Campos J.M.. Enfermedad de Von Hippel Lindau: estudio familiar. *Arch Soc Esp Oftalmol* [Internet]. 2012 Nov [citado 2020 Abr 23] ; 87( 11 ): 368-372. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oftal.2011.10.005>.
- (5) Albiñana V; Escribano RMJ; Soler I; Padiá LR; Recio Poveda L; Villar Gómez de las Heras K; Botella ML. “Repurposing Propranolol as a drug for the treatment of retinal haemangioblastomas in Von Hippel-Lindau disease”. *Orphanet Journal of Rare Disease*, 2017. 12 (1): 122.

- (6) Wong WT, Liang KJ, Hammel K, Coleman HR, Chew EY. Intravitreal ranibizumab therapy for retinal capillary HB related to von Hippel-Lindau disease. *Ophthalmology*. 2008;115(11):1957–1964. doi:10.1016/j.ophtha.2008.04.033
- (7) 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
- (8) Lucólis Ylag, Las En, Umorales Cet. El factor inducido por la hipoxia-1 (HIF-1) y la glucólisis en las células Tumorales. *Rev Educ Bioquímica*. 2009;28(2):42–51.
- (9) Bhatt RS, Zurita AJ, O'Neill A, et al. Increased mobilisation of circulating endothelial progenitors in von Hippel-Lindau disease and renal cell carcinoma. *Br J Cancer*. 2011;105(1):112–117. doi:10.1038/bjc.2011.186
- (10) Yang E V, Sood AK, Chen M, Li Y, Eubank TD, Marsh CB, et al. Norepinephrine up-regulates the expression of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase (MMP)-2, and MMP-9 in nasopharyngeal carcinoma tumor cells. *Cancer Res*. 2006;66(21):10357–64.
- (11) Imtiyaz HZ, Williams EP, Hickey MM, et al. Hypoxia-inducible factor 2alpha regulates macrophage function in mouse models of acute and tumor inflammation. *J Clin Invest*. 2010;120(8):2699–2714. doi:10.1172/JCI39506
- (12) Kimura K, Iwano M, Higgins Df, et al. Stable expression of HIF-1alpha in tubular epithelial cells promotes interstitial fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;295(4):F1023–F1029. doi:10.1152/ajprenal.90209.2008
- (13) Benchetrit F, Ciree A, Vives V, et al. Interleukin-17 inhibits tumor cell growth by means of a T-cell-dependent mechanism. *Blood*. 2002;99(6):2114–2121. doi:10.1182/blood.v99.6.2114
- (14) Murugaiyan G, Saha B. Protumor vs Antitumor Functions of IL-17. *J Immunol*. 2009;183(7):4169–75.
- (15) Duque Correa MA, Rojas López M. Activación alternativa del macrófago: La diversidad en las respuestas de una célula de la inmunidad innata ante la complejidad de los eventos de su ambiente. *Inmunología*. 2007;26(2):73–86.
- (16) Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(7):1126–1167. doi:10.1089/ars.2012.5149
- (17) Tripathi P. Nitric oxide and immune response. *Indian J Biochem Biophys*. 2007;44(5):310–9.

- (18) Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(7):1126–1167. doi:10.1089/ars.2012.5149
- (19) Cash TP, Pan Y, Simon MC. Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free Radic Biol Med*. 2007;43(9):1219–25.
- (20) Mansfield KD, Guzy RD, Pan Y, Young RM, Cash TP, Schumacker PT, et al. Mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome c impairs cellular oxygen sensing and hypoxic HIF- $\alpha$  activation. *Cell Metab*. 2005;1(6):393–9.
- (21) [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/77174/FichaTecnica\\_77174.html](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/77174/FichaTecnica_77174.html), 2018.
- (22) Drolet, BA; Frommelt, PC; Chamlin, SL; Haggstrom, A; Bauman, NM; Chiu, YE; Chun, RH; Garzon, MC; et al. “Initiation and use of Propranolol for infantile hemangioma: report of a consensus conference”. *Pediatrics*, 2013. 131 (1): 128-40.
- (23) Downing, J.E.G.; Miyan, J.A. Neuronal immunoregulation: emerging roles for nerves in immune homeostasis and disease. *Immunol. Today*, 2000, 21(6), 281-9
- (24) I. J. Elenkov, R. L. Wilder, G. P. Chrousos, E. S. Vizi, E. The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev*. 2000 Dec; 52(4): 595–638.
- (25) Minaei S, Shahabi S, Seyyedi S, Ziaali N, Mohammadzadeh Hajipirloo H. Propranolol efficacy as a novel adjuvant for immunization against *Toxoplasma gondii* tachyzoites. *Exp Parasitol*. 2018 Nov 1;194:60–6.
- (26) Dace DS, Khan AA, Kelly J, Apte RS. Interleukin-10 promotes pathological angiogenesis by regulating macrophage response to hypoxia during development. *PLoS One*. 2008;3(10):e3381. doi:10.1371/journal.pone.0003381
- (27) Acosta-Iborra B, Elorza A, Olazabal IM, Martín-Cofreces NB, Martín-Puig S, Miró M, et al. Macrophage Oxygen Sensing Modulates Antigen Presentation and Phagocytic Functions Involving IFN- $\gamma$  Production through the HIF-1 $\alpha$  Transcription Factor. *J Immunol*. 2009;182(5):3155–64.
- (28) López PS, Alonso FV, Romero JM, Carretero R, Buñuel MT, Cabello FR, et al. Polimorfismos en genes de respuesta inflamatoria en cáncer renal metastásico. *Actas Urol Esp*. 2009;33(5):474–81.
- (29) Abdin AA, Soliman NA, Saied EM. Effect of Propranolol on IL-10, visfatin, Hsp70, iNOS, TLR2, and survivin in amelioration of tumor progression and survival in Solid Ehrlich Carcinoma-bearing mice. *Pharmacol Reports [Internet]*. 2014;66(6):1114–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharep.2014.07.010>

- (30) Smyth MJ, Taniguchi M, Street SEA. The Anti-Tumor Activity of IL-12: Mechanisms of Innate Immunity That Are Model and Dose Dependent. *J Immunol.* 2000;165(5):2665–70
- (31) Bailey SR, Nelson MH, Himes RA, Li Z, Mehrotra S, Paulos CM. Th17 cells in cancer: the ultimate identity crisis. *Front Immunol.* 2014;5:276. Published 2014 Jun 17. doi:10.3389/fimmu.2014.00276
- (32) Maisel AS, Murray D, Lotz M, Rearden A, Irwin M, Michel MC. Propranolol treatment affects parameters of human immunity. *Immunopharmacology.* 1991;22(3):157–64.
- (33) S, Gautamethi, Bokyung Sung BBA. [Frontiers in Bioscience 5094-5107, May 1, 2008] TNF: A master switch for inflammation to cancer Gautam Sethi, Bokyung Sung, Bharat B. Aggarwal. *Front Biosci.* 2008;5094–107.
- (34) Ashrafi S, Shapouri R, Shirkhani A, Mahdavi M. Anti-tumor effects of Propranolol: Adjuvant activity on a transplanted murine breast cancer model. *Biomed Pharmacother.* 2018;104(April):45–51.
- (35) Kryczek I, Wei S, Szeliga W, Vatan L, Zou W. Endogenous IL-17 contributes to reduced tumor growth and metastasis. *Blood.* 2009;114(2):357–359. doi:10.1182/blood-2008-09-177360
- (36) Xu L, Yu WK, Lin ZL, et al. Impact of  $\beta$ -adrenoceptor blockade on systemic inflammation and coagulation disturbances in rats with acute traumatic coagulopathy. *Med Sci Monit.* 2015;21:468–476. Published 2015 Feb 12. doi:10.12659/MSM.893544
- (37) Truscott TG, Sinclair RS. *Advances in experimental medicine and biology.* Vol. 44, International Journal of Radiation Biology. 1983. 413–413 p.
- (38) Oberbeck R, Kobbe P. Beta-Adrenergic Antagonists: Indications and Potential Immunomodulatory Side Effects in the Critically Ill”, *Current Medicinal Chemistry* (2009) 16: 1082. <https://doi.org/10.2174/092986709787581770>
- (39) Partecke LI, Speerforck S, Käding A, et al. Chronic stress increases experimental pancreatic cancer growth, reduces survival and can be antagonised by beta-adrenergic receptor blockade. *Pancreatology.* 2016;16(3):423–433. doi:10.1016/j.pan.2016.03.005
- (40) Albiñana V, Recio-Poveda L, Zarrabeitia R, Bernabéu C, Botella LM. Propranolol as antiangiogenic candidate for the therapy of hereditary haemorrhagic telangiectasia. *Thromb Haemost.* 2012;108(1):41–53
- (41) Yuan WL, Jin ZL, Wei JJ, Liu ZY, Xue L, Wang XK. Propranolol given orally for proliferating infantile haemangiomas: Analysis of efficacy and serological changes in vascular endothelial growth factor and endothelial nitric oxide synthase in 35 patients.

Br J Oral Maxillofac Surg [Internet]. 2013;51(7):656–61. Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjoms.2012.12.003>

- (42) González-rodríguez B, Villar K, De G, Aguirre DT, Rodríguez-padial L, Albiñana V, Recio-Poveda L, Cuesta AM. et al. Evaluation of the safety and effectiveness of oral Propranolol in patients with von Hippel-Lindau disease and retinal HBs : phase III clinical trial. 2019;16
- (43)  $\beta$ -Adrenergic blockade during systemic inflammation: Impact on cellular immune functions and survival in a murine model of sepsis Schmitz D., Wilsenack K., Lendemans S., Schedlowski M., Oberbeck R. (2007) *Resuscitation*, 72 (2) , pp. 286-294.
- (44) Larson BE, Stockwell DW, Boas S, et al. Cardiac reactive oxygen species after traumatic brain injury. *J Surg Res*. 2012;173(2):e73–e81. doi:10.1016/j.jss.2011.09.056
- (45) Nguyen LP, Omoluabi O, Parra S, Frieske JM, Clement C, Ammar-Aouchiche Z, et al. Chronic exposure to beta-blockers attenuates inflammation and mucin content in a murine asthma model. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2008;38(3):256–62.
- (46) Hajjaj A, van Overdam KA, Oldenburg RA, Koopmans AE, van den Ouweland AMW, de Klein A, et al. Retinal haemangioblastomas in von Hippel–Lindau germline mutation carriers: progression, complications and treatment outcome. *Acta Ophthalmol*. 2020;(Chew 2005):1–8.
- (47) Gomes A, Costa D, Lima JLFC, Fernandes E. Antioxidant activity of  $\beta$ -blockers: An effect mediated by scavenging reactive oxygen and nitrogen species? *Bioorganic Med Chem*. 2006;14(13):4568–77.
- (48) Benschop et al. Effects of Beta-Adrenergic Blockade on Immunologic and Cardiovascular Changes Induced by Mental Stress Circulation.1994; (89), 762-769
- (49) A Muscatell K. Does Propranolol Attenuate Inflammatory Responses to a Psychological Stressor ? 2016.  
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02972554?term=Propranolol+inflammation&draw=2&rank=2>