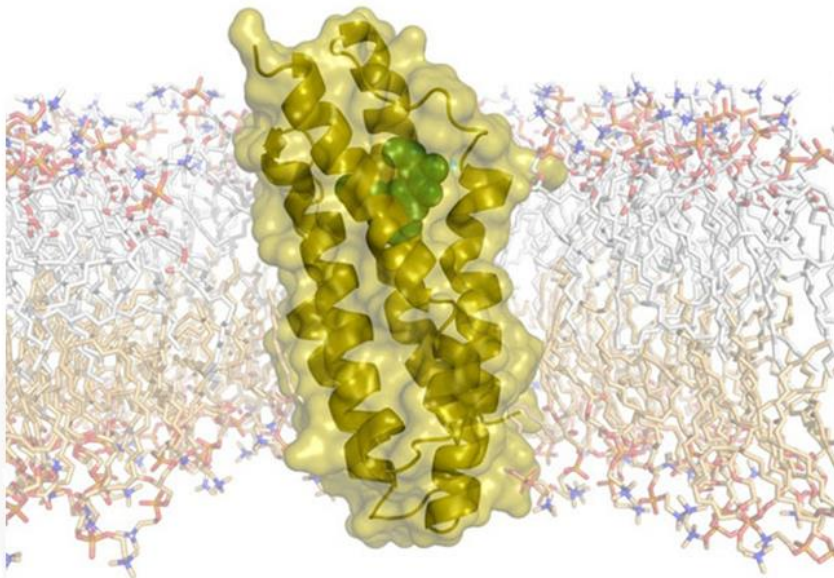


# **TRABAJO FIN DE GRADO**

## **BIOLOGÍA**

**PAPEL DE TSPO EN LA DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE  
CANCERÍGENAS**



**ADRIÁN APARICIO REY**

**DEPARTAMENTO DE MORFOLOGÍA Y BIOLOGÍA CELULAR**

**Julio 2020**



**UNIVERSIDAD DE OVIEDO  
FACULTAD DE BIOLOGÍA**



# Índice

1. Resumen/Abstract.....	2
2. Introducción .....	3
2.1 Cáncer .....	3
2.2 Células madre cancerígenas .....	5
2.3 Pluripotencia y diferenciación celular en las CSCs .....	8
2.4 Importancia de las mitocondrias en las CSCs.....	8
3. Objetivos y justificación del trabajo .....	10
4. Metodología.....	11
5. Resultados y Discusión .....	12
5.1 TSPO: historia, estructura y funciones.....	12
5.2 TSPO, células madre y diferenciación celular .....	18
5.3 TSPO y cáncer .....	20
5.4 TSPO, células madre cancerígenas y terapia de diferenciación .....	22
6. Conclusiones .....	25
7. Bibliografía .....	26

## **1. Resumen/Abstract**

**Español:** Dentro de los tumores existen subpoblaciones celulares con propiedades heterogéneas y en distintos estadios de la diferenciación. Cada vez es mayor el respaldo teórico que apoya la hipótesis de que en los tumores existe una subpoblación de células madre cancerígenas (CSCs, del inglés *cancer stem cells*) que tienen la capacidad de autorrenovarse y de diferenciarse en varios linajes celulares. Estas células son capaces de producir resistencia al tratamiento, metástasis y una posible recidiva. Por tanto, el conocimiento de las rutas metabólicas y vías de señalización alteradas en las CSCs es necesario a la hora de evaluar estrategias terapéuticas viables que permitan eliminar esta subpoblación de células, como, por ejemplo, aumentando la vulnerabilidad de estas células mediante la pérdida de la pluripotencia e induciendo la diferenciación terminal. La proteína translocadora de 18 kDa (TSPO) es una proteína mitocondrial que es conocida principalmente por su capacidad de unión a benzodiazepinas y por el transporte de colesterol al interior de la mitocondria. Otra función conocida de esta proteína es la activación de la apoptosis. Sin embargo, su presunto papel en procesos de diferenciación celular y en el mantenimiento de la pluripotencia en células madre normales y cancerígenas está poco estudiado.

**English:** Inside tumours, there are different cellular subpopulations with heterogeneous properties and in various states of differentiation. The theoretical knowledge supporting the hypothesis that there is a subpopulation of cancer stem cells (CSCs) with the capacity to self-renewal and differentiate in multiple cellular lineages is increasingly popular. These cells are capable of generating treatment resistance, metastasis and tumour recurrence. Therefore, the knowledge about altered metabolic and signalling pathways in CSCs is key to evaluate the potential of viable therapeutic strategies that allow us to eliminate these cells, like, for example, increasing CSCs vulnerability by losing pluripotency and inducing terminal differentiation. The 18kDa translocator protein (TSPO) is a mitochondrial protein known primarily by its capacity to bind to benzodiazepines and transport cholesterol inside the mitochondrial. Another known function is the activation of apoptosis. However, the suspected role of TSPO in cell differentiation and maintaining pluripotency in normal and cancer stem cells is not very studied.

## **2. Introducción**

### **2.1 Cáncer**

El cáncer podría ser definido como un conjunto de enfermedades caracterizadas por un crecimiento anormal e incontrolable de células que compromete la funcionalidad celular y del órgano en el que se presentan, y que puede extenderse a otras zonas del cuerpo mediante un proceso denominado metástasis (1).

El cáncer es uno de los mayores problemas a los que se enfrenta el campo de la biomedicina. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2018 se diagnosticaron aproximadamente 18 millones nuevos casos de cáncer a nivel global, siendo responsable de 10 millones de muertes ese mismo año (2). En 134 de los 183 países en el mundo, el cáncer supone la primera o segunda causa de muerte (3). En el caso de España, se detectan entre 250.000 y 300.000 casos nuevos cada año, siendo los tumores la segunda causa de mortalidad a nivel nacional (4).

A pesar de que la mayoría de los avances en el entendimiento y tratamiento de los tumores se han realizado recientemente, el ser humano ha tratado de entender la naturaleza del cáncer desde la antigüedad. Las primeras descripciones de enfermedades tumorales se escribieron hace aproximadamente 3000 años (1.500 A. C.) en el antiguo Egipto (5). Sin embargo, la palabra cáncer proviene del griego "*kárkinos*" (cangrejo), término acuñado por Hipócrates (460-370 A.C.). Hipócrates mismo fue de los primeros que trató de desarrollar una teoría que explicara este fenómeno, para lo que se basó en su hipótesis de que el cuerpo contenía cuatro humores. Un desbalance en el equilibrio de estos fluidos suponía la aparición de una enfermedad, por ejemplo, el cáncer.

En la modernidad se desarrollaron varias teorías que trataron de explicar su origen: teoría del blastema, teoría de la irritación crónica, teoría del trauma, teoría del parásito... Pero no fue hasta el siglo XX, cuando Watson y Crick recibieron el Premio Nobel por su descubrimiento de la estructura de la doble hélice del ADN, que se produjeron avances a pasos agigantados en la biología molecular, no solo del cáncer, si no de todas las ramas de la biología. Esto condujo al descubrimiento de oncogenes y genes supresores de tumores.

Actualmente, el desarrollo científico en el ámbito de la vida y de la salud nos han permitido ampliar nuestros conocimientos sobre la etiología, la semiología y la patocronia de las neoplasias malignas. Además, junto con otros descubrimientos médicos y técnicos, se ha permitido el desarrollo de tratamientos cada vez más específicos, eficaces y con menos efectos secundarios.

Sin embargo, la mortalidad por estas enfermedades sigue suponiendo una gran fracción de la mortalidad total. Entonces, ¿cómo se explica que el cáncer sea tan persistente, siendo una enfermedad que está constantemente en el foco de la investigación biomédica?

Esto se debe a que la carcinogénesis es un proceso multifactorial complejo, que depende de una gran variedad de circunstancias tanto externas como internas, por lo que entender sus mecanismos y predecir su aparición tiene una elevada dificultad. Asimismo, las células tumorales adquieren una serie de propiedades moleculares, bioquímicas y celulares que permiten su supervivencia, proliferación y expansión (6): la capacidad de evitar la apoptosis, la inducción de la angiogénesis, la inestabilidad genómica, la activación de la invasión y metástasis, el mantenimiento de una señal proliferativa autosuficiente, etc. De esta manera, las células tumorales proliferan construyendo al mismo tiempo el denominado “microambiente tumoral”, constituido por la matriz extracelular (MEC), una vasculatura aberrante y células asociadas al tumor (incluyendo células no malignas). Este microambiente adquiere unas características que facilitan la progresión del tumor y dificultan la acción del sistema inmune del paciente, así como la de ciertos medicamentos y tratamientos (7).

Finalmente, la heterogeneidad del tumor juega también un papel fundamental en esta resistencia a los tratamientos modernos. No existe únicamente una heterogeneidad entre pacientes, si no que el propio tumor presenta poblaciones celulares heterogéneas, con un amplio abanico de fenotipos y tipos celulares (heterogeneidad intratumoral). Esta heterogeneidad se debe tanto a las poblaciones de células malignas como a las células no tumorales que están presentes en el microambiente tumoral: células endoteliales, células del sistema inmune, células estromales, fibroblastos asociados al cáncer... (8).

Dentro de la variedad de células malignas presentes en el tumor podemos encontrar las células madre cancerígenas (*cancer stem cells* o CSCs). Estas células podrían suponer el origen del cáncer. Una vez adquieren las mutaciones necesarias en determinados genes (oncogenes, genes supresores de tumores), son capaces de iniciar el crecimiento del tumor y continuar con su progresión (6). Debido a la importancia de esta subpoblación de células para la comprensión posterior del trabajo, en el siguiente apartado se tratará su papel en los tumores y se describirán sus características más relevantes.

## 2.2 Células madre cancerígenas

Las **células madre cancerígenas o CSCs** son una pequeña subpoblación de células presentes en los tumores, capaces de autorrenovarse, de diferenciarse y de generar un tumor (tumorigenicidad) (9). Se identificaron por primera vez en la leucemia mieloide aguda en 1997 (10), pero no fue hasta 2003 cuando se encontraron en un tumor sólido (11), concretamente en cáncer de mama. Aunque muchos autores hablan de ellas como el factor principal que inicia la aparición de tumores, hay otros autores que cuestionan la relevancia de estas células y proponen otros modelos.

Uno de los modelos que más ha prevalecido (desde hace 50 años hasta ahora) es la teoría de las mutaciones somáticas, o también conocida como modelo de evolución clonal. Esta teoría se basa en que el tumor proviene de una única célula somática que ha acumulado mutaciones en el DNA de manera continua. Por tanto, los tumores serían monoclonales, lo cual ocurre en la inmensa mayoría de casos. Esas mutaciones ocurren en genes concretos, como aquellos que controlan la proliferación y el ciclo celular (12). Estos cambios acaban alterando la señalización celular, provocando la resistencia a apoptosis y dando a la célula otras características propias de los tumores. Estos cambios son heredables somáticamente, generando clones de células malignas y, finalmente, un tumor (13). Por tanto, la heterogeneidad tumoral se explicaría por acumulación de diferentes mutaciones en distintas células descendientes de esa célula inicial.

Por otro lado, se propuso una alternativa a esta teoría, la llamada teoría del campo de la organización de tejido. Propone que la carcinogénesis se debe a un problema de organización de los tejidos y que la proliferación es el estado predeterminado de todas las células (12).

En el caso de las CSCs (**modelo jerárquico**), se ha propuesto que tanto una célula madre adulta que adquiere características malignas como una célula somática que adquiere características de célula madre podrían dar lugar a una célula madre cancerígena (14). Estas células serían las únicas en el tumor con capacidad de autorrenovarse, y las diferentes subpoblaciones celulares del tumor procederían de las CSCs, estableciéndose una jerarquía entre las células del tumor dependiendo de su estado de diferenciación (15). De esta teoría se han podido comprender fenómenos del cáncer que no se podían explicar con un modelo de evolución clonal. Por ejemplo, la acumulación de alteraciones en el DNA en las células madre explicaría la diferencia en los porcentajes de incidencia de cáncer en los diferentes rangos de edad, ya que el riesgo va aumentando con los años (15). Este aumento de la probabilidad de desarrollar un tumor con la edad implica que las células que originan el cáncer deben ser capaces de mantener y acumular esas mutaciones durante años. Sin embargo, la mayoría de los cánceres se producen en tejidos

con una alta tasa de renovación celular, en los que las células somáticas no vivirían lo suficiente como para explicar que la incidencia aumente con los años (en el caso de que las células somáticas fueran el origen, la incidencia debería ser igual para todos los rangos de edad). Solo un modelo en el que las células madre acumulan estas mutaciones y son causantes del tumor explicaría esta distribución de edades.

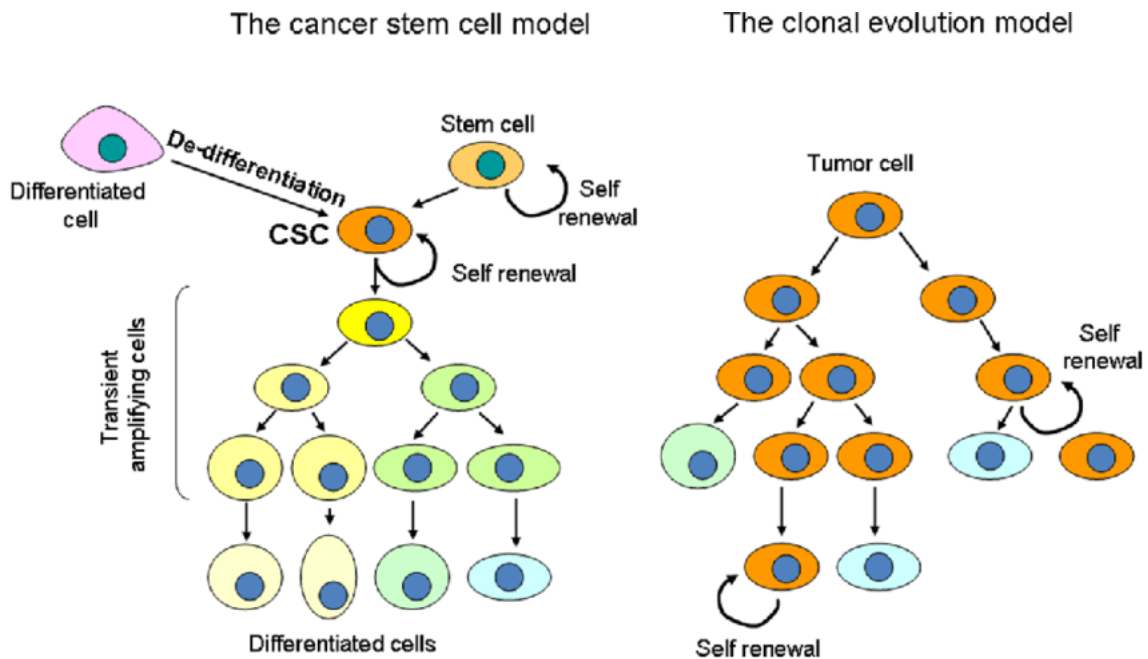


Figura 1: Representación del modelo jerárquico de las células madre cancerígenas y del modelo de evolución clonal (14).

Aunque haya numerosas teorías que expliquen la carcinogénesis, algunas de ellas no son excluyentes entre sí, y se están empezando a plantear modelos mixtos. Por ejemplo, uno de ellos se basa en que en las CSCs hay también mutaciones estocásticas. Esto explicaría que la mayoría de los tumores surjan en tejidos que se renuevan con mayor frecuencia, como en los epitelios (cáncer de colon). Un mayor número de divisiones implicaría mayor frecuencia de replicación, y por tanto un aumento en el número de mutaciones por unidad de tiempo.

Comprender el mecanismo por el cual se generan las células madre cancerígenas y mantienen el estado de indiferenciación podría romper las barreras que nos impiden entender y tratar ciertos casos concretos de cáncer. Como, por ejemplo, aquellos en los que parece que un agente no mutágeno está relacionado con la aparición de tumores. Se sabe que aproximadamente el 5,8% de las muertes por cáncer están asociadas al consumo de alcohol (16), siendo mayor la posibilidad de desarrollar diversos cánceres (como oral y de faringe) en bebedores crónicos. Esto se debe a que el alcohol produce una mayor cantidad de muerte celular en los epitelios del

aparato digestivo y las células madre deben dividirse con mayor frecuencia, lo cual, como se ha visto anteriormente, está relacionado con una mayor velocidad de adquisición de mutaciones.

Además de estar asociadas a la carcinogénesis, las células madre cancerígenas también tienen implicaciones importantes en la terapia del cáncer.

Un método tradicional de tratar tumores es la radioterapia. Consiste en producir daño en el DNA generando radicales libres mediante la aplicación de radiación ionizante de manera localizada y dosificada. Cuando los niveles de radiación superan la capacidad de los mecanismos de las células de reparar el DNA, se produce la muerte celular. Las células poseen mecanismos para protegerse de estos radicales libres y de los daños que producen en condiciones fisiológicas, pero ante las altas cantidades de radiación administradas en la radioterapia, no son capaces de mantener la homeostasis y se produce la muerte celular. No obstante, se han observado evidencias de que las CSCs activan mecanismos que permitirían a las células sobrevivir a estas radiaciones, generando de nuevo el tumor una vez ha cesado el tratamiento (17).

La quimioterapia es otro de los métodos más comunes a la hora de tratar ciertos cánceres. El agente químico usado es capaz de inducir la muerte de células tumorales y, en muchos casos, acabar con el tumor. Sin embargo, en algunos pacientes este tratamiento no ha sido suficiente para acabar con el tumor y han experimentado una recidiva a pesar del tratamiento. Recientemente, se ha estudiado el papel que podrían tener las CSCs en este aspecto. Se han descubierto numerosos mecanismos y vías de señalización relacionadas con la quimiorresistencia debida a CSCs (18).

Debido a estos inconvenientes de las terapias convencionales, las CSCs se han convertido en una nueva diana de las terapias contra el cáncer. Por ejemplo, se han hecho experimentos con ratones modelo del cáncer de colon humano, en los cuales se administraba un anticuerpo contra DLL4 (*Delta Like 4 Ligand*, un elemento de la vía de señalización Notch, presente en las CSCs), lo cual provocaba un descenso en la proliferación de células tumorales (19). También se han desarrollado terapias génicas contra estas células, como las de RNA de interferencia (RNAi), que silencian la expresión de genes concretos que son claves para la supervivencia o función de las CSCs (20). Además, si aplicamos de manera sinérgica la quimioterapia o la radioterapia con estos tratamientos, conseguimos reducir aún más la función de las CSCs.

Podemos concluir que las CSCs no solo tienen un papel importante en la carcinogénesis y en una posible prevención de esta, sino también a la hora de aplicar un tratamiento adecuado y de evitar futuras recidivas.



## 2.3 Pluripotencia y diferenciación celular en las CSCs

Las propiedades que definen a las células madre son su capacidad de autorrenovarse y de generar una variedad de células diferenciadas que constituirán los tejidos de un organismo (pluripotencia o *stemness*). Existen diferentes tipos de células madre (embrionarias, adultas, inducidas...) con diferentes grados de pluripotencia. En los tejidos adultos, la función principal de las células madre es la de mantener la homeostasis mediante un balance de divisiones asimétricas y simétricas que conserven un número constante de células en el tejido. Esto se realiza mediante la correcta regulación de vías de señalización (21), presencia de factores de transcripción que reprimen la diferenciación (Oct4, Sox2, Nanog...) (22), expresión de microRNAs (23), influencia del microambiente (14) y otras vías de regulación.

De manera similar a las células madre adultas, las CSCs poseen las mismas vías de señalización y regulación para mantener su pluripotencia y capacidad de diferenciarse (24). Sin embargo, la desregulación de estas vías por mutaciones y cambios epigenéticos conlleva, en determinadas circunstancias, a la adquisición de características malignas por parte de las células madre, las cuales se piensa que aumentan el ratio de división simétrica en relación con la asimétrica (25). Esto confiere a las CSCs la capacidad de generar y mantener la población tumoral.

Por tanto, el conocimiento de las alteraciones que se producen en estas rutas nos permitiría desarrollar tratamientos que pudieran inhibir o revertir ese estado anormal de pluripotencia de las CSCs. Por ejemplo, se ha considerado como estrategia viable la **terapia de diferenciación**, en la que se induce a que las CSCs se transformen en células terminalmente diferenciadas. Esta diferenciación provoca la supresión de la proliferación activa y de la quimiorresistencia de las células cancerosas, lo que conlleva una disminución de la agresividad del tumor y un aumento de la susceptibilidad a las terapias convencionales (24).

Por ejemplo, se sabe que el ácido retinoico es capaz de inducir la diferenciación y la proliferación de células madre y de CSCs en algunos tipos de cánceres. Se comprobó que la leucemia mieloide aguda se trataba de uno de estos cánceres, por lo que se desarrolló un producto farmacéutico basado en este ácido para tratar a los pacientes con esta clase de enfermedad (26).

## 2.4 Importancia de las mitocondrias en las CSCs

La mitocondria es un orgánulo celular con doble membrana que tiene diversas funciones en la célula, como la producción de energía, la participación en la señalización celular, la regulación de la homeostasis del calcio, la inducción de la apoptosis, etc.

Asimismo, tienen funciones importantes en la detección de estrés, permitiendo la adaptación celular al ambiente. De hecho, las mitocondrias confieren a las células tumorales la capacidad de sobrevivir en un microambiente hostil, con poca concentración de nutrientes y oxígeno, así como resistir algunos tratamientos (27). También se ha visto que las mitocondrias en células cancerosas presentan un desbalance en los procesos de fusión y fisión, lo que provoca un aumento en la fragmentación de las mitocondrias en la célula. Esto conlleva una disminución de la actividad del complejo I de la cadena de transporte de electrones, favoreciendo la glucólisis, limitando la acumulación de reactivas del oxígeno (ROS) y disminuyendo la respuesta a terapias citotóxicas (28). Aunque las funciones de la mitocondria varíen entre tumores dependiendo de factores génicos, factores ambientales y del origen tisular, está claro que comprender la biología de la mitocondria en el cáncer es fundamental para entender la patología de esta enfermedad.

Además de su importancia en el cáncer, estudios recientes sugieren que la mitocondria tiene un papel crucial en las células madre para el mantenimiento de la pluripotencia, para llevar a cabo la diferenciación celular y para la reprogramación de células somáticas en células madre inducidas (29).

Si comparamos una célula somática adulta con una célula madre pluripotente, esta última presenta una producción de energía cimentada en la glucólisis anaerobia, mientras que la fosforilación oxidativa juega un rol menor. Esto en parte se debe a que, aun siendo menos eficiente, la glucólisis anaerobia produce energía más rápidamente con menor generación de las ROS, lo cual es importante para mantener la pluripotencia bajo condiciones hipóxicas. Las células indiferenciadas también presentan características morfológicas propias: forma globular, crestas poco desarrolladas y localización perinuclear (29,30).

Por otro lado, la diferenciación celular requiere de mayores cantidades de energía para llevar a cabo funciones concretas, mientras que se reduce la capacidad de proliferación. Por tanto, la mitocondria sufre cambios significativos durante la diferenciación: aumentan las copias de DNA mitocondrial, las crestas presentan una morfología compleja y se reduce la importancia de la glucólisis anaerobia en la generación de energía.

Todas estas diferencias sugieren que los cambios moleculares y metabólicos dentro de la mitocondria podrían determinar las características propias de las células madre y, como se ha visto previamente, también del cáncer. De esta conclusión podemos deducir que las mitocondrias también podrían tener un papel relevante en las CSCs. De hecho, algunos estudios ya destacan el rol de estos orgánulos en el mantenimiento de la pluripotencia y en la diferenciación de CSCs, así como su posible utilidad como diana terapéutica.

En uno de estos estudios (31), se compararon las características de las mitocondrias entre una línea de células madre de carcinoma embrionario de ratón, también llamadas células P19, y estas mismas células en un estado diferenciado. El perfil metabólico y fisiológico de las mitocondrias de estas CSCs presentaban diferencias considerables en la morfología mitocondrial, la importancia de la glucólisis, el consumo basal de oxígeno, los componentes de la cadena de electrones, la permeabilidad, etc. Estos resultados demuestran el importante papel de las mitocondrias y su metabolismo en el mantenimiento de la pluripotencia y en la diferenciación de las CSCs, que son funciones clave para asegurar la supervivencia del tumor.

Hay muchas proteínas mitocondriales, siendo una de ellas la proteína translocadora mitocondrial de 18kDa (TSPO), de la cual se conocen numerosas funciones. Esta proteína está relacionada con procesos metabólicos y con respuestas celulares como la de muerte celular programada, cuya alteración puede contribuir a patologías como el cáncer (32). De hecho, se han encontrado altos niveles de TSPO en varios tejidos cancerosos y, además, se sabe TSPO interacciona con otras proteínas inhibiendo procesos de apoptosis (propiedad característica de células cancerígenas), lo que hace que el conocimiento sobre esta proteína sea potencialmente útil para el desarrollo de futuros medicamentos contra el cáncer (30). También es conocido que la unión de distintos ligandos a TSPO puede cambiar la expresión de genes presentes en el material genético nuclear que están implicados en procesos de diferenciación, proliferación, etc (33). Sin embargo, a pesar de las funciones de esta proteína en el metabolismo mitocondrial, en la expresión de genes nucleares, en los procesos de células cancerosas y de su potencial terapéutico, el conocimiento de su papel en las CSCs es poco conocido.

### **3. Objetivos y justificación del trabajo**

Como se ha expuesto anteriormente, el cáncer es una de las patologías con mayor prevalencia a nivel mundial. Por desgracia, los procesos por los cuales un tumor aparece, se mantiene y se dispersa por el cuerpo son variados y complejos. En los últimos años, cada vez más científicos apoyan la teoría de las CSCs como factor imprescindible en la carcinogénesis y en la tumorigenicidad. Por tanto, constituyen un foco de gran importancia biomédica.

La mitocondria es necesaria para el sustento de las funciones que confieren a las CSCs sus propiedades cancerosas: mantenimiento de un estado de pluripotencia, capacidad de metástasis, capacidad de autorrenovarse, inhibición de la apoptosis, capacidad de diferenciación, habilidad para adaptarse a un ambiente poco favorecedor, resistencia a tratamientos, etc.

Aunque la proteína mitocondrial TSPO se ha estudiado en varios procesos fisiológicos (como la apoptosis y la diferenciación) y patológicos (como el cáncer), su relevancia en las CSCs es aún desconocida.

Por tanto, en este trabajo se realizará un análisis bibliográfico para tratar de cumplir los siguientes objetivos:

1. Describir las funciones fisiológicas de la proteína mitocondrial TSPO.
2. Estudiar su función en células madre.
3. Analizar el papel de TSPO en el cáncer.
4. Integrar los conocimientos anteriores con el estudio de TSPO en CSCs, con el fin de evaluar su importancia en el mantenimiento de las funciones de estas células y su potencial como diana terapéutica contra tumores, centrado especialmente en la diferenciación celular de CSCs.

## **4. Metodología**

La búsqueda de la información bibliográfica utilizada en el trabajo se ha realizado mediante diversas plataformas web centradas en la búsqueda y recopilación de artículos científicos como PubMed, Google Scholar, la Biblioteca de la Universidad de Oviedo (BUO), Web of Science (WOS), Scopus y Plos One.

Con el fin de realizar una búsqueda eficaz, se han utilizado operadores booleanos con palabras clave en inglés que hacían referencia al tema sobre el que se necesitaba información, creando ecuaciones de búsqueda. Además, en casos en los que fuera pertinente profundizar en la materia, se buscó la bibliografía más relevante de algunos artículos (búsqueda inversa).

Después de la búsqueda, se eligieron los artículos más apropiados en base a los siguientes criterios de selección:

- Acceso abierto.
- Idioma: español o inglés.
- Relación con el tema tratado.
- Fecha de publicación reciente (salvo aquellos artículos con alta relevancia en la comprensión del tema).

La búsqueda y selección de información se resume en la siguiente tabla:

Tabla 1: resumen de la metodología de búsqueda usada.

Términos de búsqueda	Encontrados (acceso abierto)	Seleccionados	Búsqueda inversa
TSPO [review]	94	9	
TSPO AND cholesterol	109	5	
TSPO AND ROS	35	4	
TSPO AND mitochondrial metabolism	188	5	
TSPO AND knockout	37	2	
TSPO AND VDAC	18	3	
TSPO AND apoptosis	68	3	
TSPO AND stem cells	12	4	
TSPO AND cell differentiation	27	6	
cell differentiation AND metabolism [review]	12.343	6	
TSPO AND cancer	119	8	
cancer stem cells [review]	7.125	7	
cancer stem cells AND metabolism [review]	3.257	6	
cancer stem cells AND differentiation therapy [review]	1.232	5	
TSPO AND cancer stem cells	3	2	
<b>TOTAL SELECCIONADOS</b>		<b>75</b>	<b>21</b>

Como software de gestión bibliográfica se ha utilizado Zotero, con estilo de cita Vancouver.

## 5. Resultados y Discusión

### 5.1 TSPO: historia, estructura y funciones

La proteína translocadora (TSPO) es una proteína de 18kDa descubierta en 1977, la cual fue conocida inicialmente como receptor periférico de benzodiazepinas (PBR), ya que es capaz de unirse a estos químicos usados como medicamentos psicotrópicos (34). En el año 2006, se propuso un cambio de la nomenclatura de esta proteína a su actual nombre debido a un estudio más extensivo de su estructura y función dentro de la célula (35).

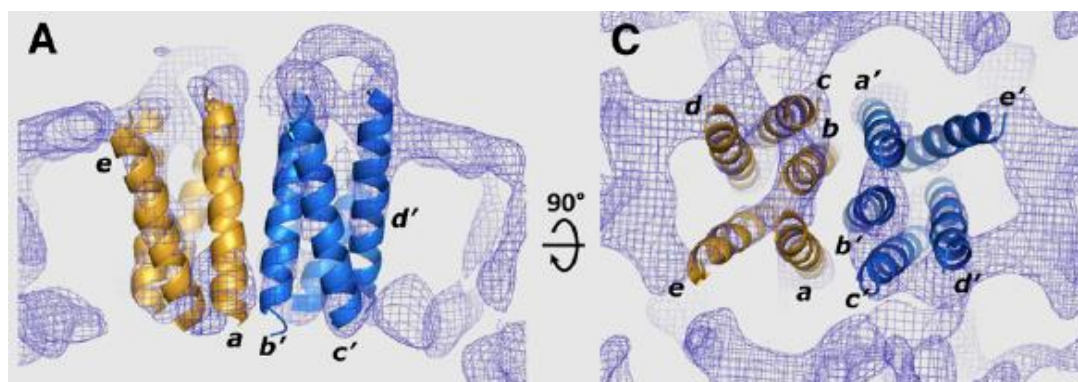


Figura 2: (A) Vista perpendicular al plano de la membrana mitocondrial de TSPO dimerica (monómeros en distinto color). (C) Vista perpendicular girada en un ángulo de 90°. Se pueden distinguir los cinco dominios con estructura helicoidal (letras minúsculas) (36).

La proteína TSPO ha estado muy conservada durante la evolución, desde las bacterias hasta los humanos (37). TSPO se encuentra principalmente en la membrana mitocondrial externa (MME) (38,39), aunque también podemos encontrarla en la membrana plasmática y en el núcleo de

algunas células (40). Se puede encontrar en forma de monómero, dímero y polímero, aunque hay estudios que sugieren que la forma dimérica sería la funcional (32,38). Cada monómero tiene cinco dominios transmembrana con forma de hélice (Figura 2) (36).

El colesterol forma parte de la ruta de síntesis de todas las hormonas esteroideas. Este colesterol sufre una reacción mediada por el enzima *P450 side-chain cleavage* o P450scc, enzima que reside en la membrana mitocondrial interna, dando como producto pregnenolona (41). Este primer paso en la esteroidogénesis ocurre en la membrana mitocondrial interna (MMI), y dado que esta es pobre en colesterol (41), se deduce que se necesita una manera de transportarlo a la MMI, especialmente teniendo en cuenta la naturaleza hidrofóbica de este compuesto.

En 1989, se observó por primera vez que la unión de ligandos a TSPO podía estimular la **biosíntesis de esteroides** en células de tumor adrenal (42). Tras este descubrimiento, surgieron una gran cantidad de estudios que apoyaban la teoría de que TSPO formaba parte de un complejo multiproteico encargado del transporte de colesterol del citoplasma al espacio intermembranoso mitocondrial (43–45). Además de los sitios de unión a sus ligandos, TSPO posee un sitio de unión independiente para el colesterol (45). En este sitio fue identificado un motivo de aminoácidos consenso para la unión a colesterol (o motivo CRAC) (46), así como otro motivo que favorecía esta unión (motivo LAF) (47). Asimismo, podemos correlacionar la distribución de TSPO en los tejidos de organismo con su función esteroidogénica, ya que encontramos altos niveles de TSPO tanto en la corteza de las glándulas adrenales como en las células de Leydig de los testículos, tejidos con una alta tasa de síntesis de esteroides (35,43,48). Del mismo modo, estudios de *knockdown* y *knockout* de TSPO han apoyado su rol en esta función, al observarse en estos modelos una disminución de la síntesis de pregnenolona y sus derivados esteroideos (41,43,49). Sin embargo, han surgido voces que discrepan con esta hipótesis clásica, sugiriendo que TSPO no tiene un papel esencial en la síntesis de esteroides (41,50). Ya hay autores que han respondido a estas críticas, reclamando la baja reproductibilidad y fiabilidad de la metodología utilizada en estos estudios (43).

Además de su función en la translocación de colesterol, se han observado múltiples mecanismos mitocondriales y celulares en los que podría intervenir. También se han estudiado los efectos que provocan sus **ligandos**, tanto endógenos como sintéticos, entre los cuales incluimos las protoporfirinas, benzodiazepinas (Ro5-4864), derivados de las isoquinolinas carboxamidas (PK11195), derivados de quinazolininas (2-Cl-MGV-1), etc. (33,51). Cada ligando puede provocar efectos diferentes dependiendo de su estructura, concentración y el tipo celular en el que ocurre la unión a TSPO (52,53). Por ejemplo, una concentración de 200µM de PK11195 es capaz de

producir efectos proapoptóticos en timocitos, mientras que una concentración de 100 $\mu$ M en este mismo tipo celular no produce ningún efecto en la apoptosis (53). Sin embargo, PK11195 a 100 $\mu$ M produce efectos antiapoptóticos en otras líneas celulares, como en células de ovario de hámster chino (53).

Otro de sus papeles es la **generación y modulación de las especies reactivas del oxígeno (ROS)** (32,54–57). Uno de los mecanismos conocidos a través del cual TSPO es capaz de modular la generación de ROS y que está relacionado con procesos de apoptosis es a través de la disfunción de la F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> ATP sintasa por activadores específicos de TSPO, la cual se cree que se produce por la regulación de la fosforilación de la subunidad c de este complejo por parte de TSPO (32). Esta disfunción provoca una alteración del gradiente mitocondrial de protones, que acaba produciendo un aumento de la generación de las ROS (32). En un estudio en células de la microglía, ligandos como PK11195 y Ro5-4864 estimularon la producción de las ROS en comparación con células no tratadas (55,57). Otros ligandos sintéticos más novedosos, como la imidazoquinazolinona, redujeron la lesión oxidativa producida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediante el descenso de la producción de las ROS, deduciéndose que el efecto no siempre es positivo (54). También en microglía se ha descubierto una aparente asociación de TSPO y la NADPH oxidasa (NOX2), la cual implica la activación de vías de señalización dependientes de las ROS que inducen a Nrf2 (factor de transcripción) a estimular la expresión de genes cuyos productos son antioxidantes, y que ayudan a mantener el equilibrio redox y a prolongar la vida media de estas células (56). Asimismo, TSPO y el canal iónico dependiente de voltaje (VDAC) parecen asociarse para contribuir a la homeostasis mitocondrial incrementando los niveles de las ROS. Mediante esta modulación de las ROS, TSPO es capaz de bloquear la ubiquitinación y evitar procesos de mitofagia (58).

La **homeostasis de calcio** también se ve influenciada por TSPO. Como consecuencia de la fosforilación de VDAC por parte de la protein quinasa A (PKA), TSPO inhibe la entrada de calcio a la mitocondria (58). Esto aumenta la concentración de calcio en el citoplasma, lo que a su vez está relacionado con el equilibrio redox, ya que este calcio activa NOX, incrementando la producción de ROS (58). También se ha visto que el tratamiento con Ro5-4864 en ratas hipercolesterolémicas aumentaba la retención de calcio en la célula, y que PK11195 era capaz de reducir el flujo celular de calcio (54).

Otra función de TSPO es la **regulación del ATP y de procesos respiratorios**. Durante procesos de apoptosis mediados por TSPO, hemos visto que, gracias a activadores concretos, TSPO puede interactuar con la F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> ATP sintasa, provocando que no funcione correctamente y bajando la

producción de ATP (32). Sin embargo, en células no apoptóticas, varios estudios confirman el papel de TSPO en la regulación positiva de la síntesis de ATP (59,60), aumentando la producción de ATP mitocondrial, así como un incremento de la presencia de componentes de la cadena de transporte de electrones. En un experimento de *knockout* de TSPO en *Drosophila melanogaster* se observó una disminución de la fosforilación oxidativa, un aumento del estrés oxidativo y una reducción de los procesos respiratorios mitocondriales (54). También se observó una disminución de la respiración mitocondrial basal y máxima en células de microglía tras el silenciamiento de TSPO mediante CRISPR-Cas9 (49). Además, TSPO regula otros procesos relacionados con el ATP, como su liberación no lítica de los eritrocitos mediante la asociación a la proteína VDAC gracias a ligandos de TSPO (61).

Dada la capacidad de TSPO de unir tetrapirroles como la **protoporfirina IX (PPIX)** y participar en su transporte, TSPO tendría un papel en el metabolismo de derivados de la PPIX, como el grupo hemo, el citocromo c, clorofilas... Esta unión se ha demostrado tanto *in vitro* como *in vivo* (51). La unión puede provocar la reducción de la masa mitocondrial y de la cantidad de ATP, indicadores de una reducción en el metabolismo, y el colapso del potencial de membrana (52). Este resultado podría tener implicaciones importantes en patologías como la porfiria.

Como hemos visto anteriormente, TSPO es capaz de asociarse a VDAC y corregular varios mecanismos celulares (54,58,61). De hecho, la expresión de VDAC disminuye cuando se silencia la expresión de TSPO (49). La actividad de VDAC determina la **permeabilidad** de las membranas mitocondriales, por tanto, TSPO influye también en este proceso. Algunos científicos indican que la transición de permeabilidad mitocondrial (mPT), proceso por el cual aumenta la permeabilidad de la MMI, está regulada por la MME (enriquecida de TSPO). TSPO tendría un papel importante en esta modulación de dos maneras: en la regulación de la permeabilidad mediante sus ligandos y en el transporte de componentes activadores de la mPT como porfirinas (62). En un experimento se demostró que aplicación de ligandos de TSPO como PPIX y PK11195 aceleran la apertura de los poros de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP), formados por unas proteínas (incluida VDAC y el translocador de nucleótidos de adenina o ANT) que permiten el paso de moléculas de un peso menor a 1,5 kDa (incluidos protones), y que, debido a este flujo de moléculas, pueden cambiar el potencial de la membrana mitocondrial e inducir la muerte celular (63). En este mismo estudio, se observó que disminuyendo la cantidad de PK11195 o con anticuerpos anti-TSPO ocurría lo contrario, los poros se cerraban. Además, se cree que el calcio, cuya homeostasis está influida por TSPO, tiene un papel clave en la apertura y cierre del mPTP (64). Sin embargo, hay autores que cuestionan este papel de TSPO. Señalan que TSPO no afecta de ninguna manera a la formación del mPTP y que la acción de sus ligandos



en la permeabilidad no se lleva a cabo mediante la interacción con TSPO (65). Aunque existen controversias, la mayoría de los autores que estudian la proteína translocadora admiten su importancia en la permeabilidad mitocondrial y en el potencial de membrana.

Dada la variedad de procesos en los que interviene TSPO, este también puede provocar diversas respuestas celulares.

La ganancia funcional de TSPO mediante transfección del gen que lo codifica parece aumentar **la proliferación y la motilidad celular**, procesos relacionados con el aumento de la generación de bioenergía (60).

Por otro lado, modelos de *knockout* para TSPO en células de glioblastoma presentaban un aumento de la **fragmentación de las mitocondrias** y de la cantidad de proteínas que favorecen la fisión mitocondrial, así como un **aumento de la glucólisis**, una **disminución de la fosforilación oxidativa** y una inducción a la **angiogénesis** (66).

Ya se ha indicado que TSPO es capaz de activar mecanismos de **apoptosis**. Esto ocurre mediante la generación de ROS, el colapso del potencial de membrana, la oxidación de cardiolipina y la reducción en la producción de ATP (32). Otro factor relacionado con TSPO y que favorece la apoptosis es la apertura del mPTP. La apertura de estos canales junto con la disfunción de la  $F_0F_1$  ATP sintasa colapsa el potencial de membrana y activa la ruta mitocondrial de apoptosis (67). Por otro lado, el incremento de la generación de ROS por la disfunción de la  $F_0F_1$  ATP sintasa aumenta la velocidad de la reacción de peroxidación de la cardiolipina, lo que libera el citocromo c de la MMI, y provoca la activación de VDAC, facilitando que este medie la liberación de citocromo c de la mitocondria al citosol (32,67). Asimismo, la dimerización de las proteínas Bax y Bak formando poros contribuye a la liberación del citocromo c al citoplasma (32). Este citocromo c activa caspasas citoplasmáticas, induciendo la muerte celular por apoptosis (32,67). Además, TSPO también es capaz de regular el flujo mitocondrial de colesterol, el cual produce cambios en la fluidez de la membrana mitocondrial y puede contribuir a la peroxidación de cardiolipinas (32). Los ligandos de TSPO, como PK11195 y Ro5-4864, son capaces de producir efectos antiapoptóticos similares a los producidos por el *knockdown* de TSPO, así como efectos proapoptóticos, dependiendo del tipo celular y otros factores (32,53). También se sabe que TSPO es requerido para la inducción de la apoptosis mediante ErPC3 (68), un compuesto utilizado por sus capacidades citotóxicas contra células cancerígenas (como en la leucemia mieloide aguda) (69).

Otra respuesta en la que TSPO parece intervenir es en la **respuesta inmune**, concretamente en la **neuroinflamación**. TSPO se expresa en grandes cantidades en células de la glía, células

endoteliales y ciertas poblaciones neuronales (70). La proteína translocadora parece ser un indicador de procesos pro-inflamatorios y daño en el sistema nervioso (32,54). De hecho, sus ligandos se han utilizado para estimar los niveles de neuroinflamación y de la activación de la microglía. También se han reportado los efectos terapéuticos de estos ligandos, como por ejemplo su potencial ansiolítico (70).

Recientemente, se ha sugerido que TSPO tiene un papel en la señalización mitocondria-núcleo para la **regulación de la expresión génica** (33). El *knockdown* de TSPO en células de glioma cerebral humano modificó la expresión génica de varios componentes del sistema de señalización por glutamato (importante en la sinapsis), así como la expresión de genes relacionados con el **metabolismo celular, el estrés oxidativo, la inflamación y la respuesta inmune** (71). Además, la ganancia funcional de TSPO en linfocitos T provocaba una regulación positiva de genes implicados en la **respiración mitocondrial** y en la **producción de ATP** (60). En otro estudio en células de glioblastoma (33), el tratamiento con ligandos de TSPO tanto clásicos (PK11195) como novedosos (2-Cl-MGV-1) provocó cambios en la expresión génica a lo largo del tiempo. Los genes regulados estaban implicados en procesos de **diferenciación, viabilidad, proliferación, adhesión, migración, tumorigénesis y angiogénesis**. Se cree que esta señalización mitocondria-núcleo podría llevarse a cabo mediante la generación mitocondrial de ROS y la pérdida del potencial de membrana, lo cual provoca un cambio en los niveles de ATP y NADH, así como la liberación de calcio. Como se ha descrito antes, TSPO puede regular todos estos procesos. Estos cambios activarían proteínas como calmodulinas y calcineurinas, lo cual lleva a la activación de genes tempranos y factores de transcripción.

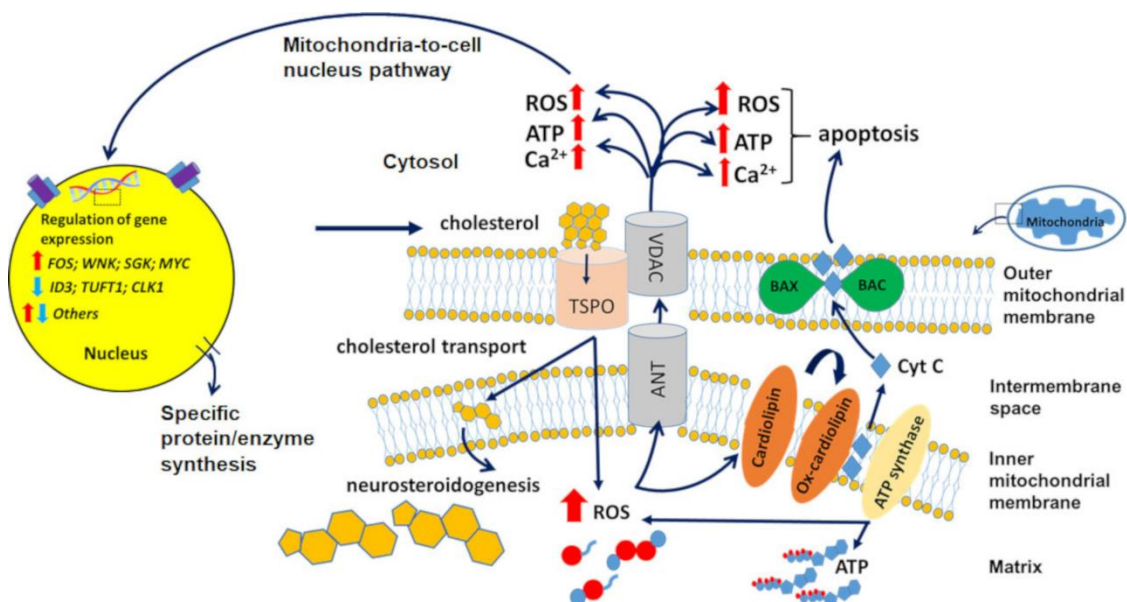


Figura 3: resumen de las principales funciones de TSPO e interacción con otras proteínas mitocondriales (72).

## 5.2 TSPO, células madre y diferenciación celular

En la sección introductoria se explicó que, en comparación con las células diferenciadas, las células madre presentan mitocondrias con características particulares. Los procesos mitocondriales son capaces de regular el estado de pluripotencia y la diferenciación en las células madre (29,73). Por tanto, no es de extrañar que TSPO, dado que participa en múltiples mecanismos en la mitocondria, pueda influir en el mantenimiento de las células madre y en su diferenciación. De hecho, ya hay estudios que evidencian esta suposición.

En uno de estos estudios se describió que TSPO está presente en células madre de neuroectodermo y en precursores neuronales, pero la capacidad de producir TSPO se pierde durante el proceso de maduración neuronal (74). Dadas las implicaciones de TSPO en procesos apoptóticos, esto podría suceder para que las neuronas adquieran resistencia a la apoptosis y que, de este modo, puedan aumentar su esperanza de vida. Sin embargo, un estudio más reciente (75) sugiere que TSPO presenta una función de más directa en la diferenciación de células madre. Los experimentos se realizaron con células madre germinales, tanto de ratón como humanas. Los gonocitos con los que se realizó el estudio presentaban mayores niveles de TSPO que las espermatogonias resultantes de la diferenciación de estas células. El silenciamiento de la expresión de TSPO en gonocitos aumentó la presencia de marcadores de la diferenciación como *Strat8*. Además, la inducción de la diferenciación de los gonocitos con ácido retinoico redujo la cantidad de TSPO, así como de su mRNA. Estos resultados sugieren que TSPO tendría una función represora de la diferenciación en células madre. Por el contrario, en otro estudio en células de eritroleucemia de ratón, se vio un aumento de los niveles de mRNA de TSPO tras la inducción de la diferenciación, sugiriendo el efecto contrario (52). También se ha observado el incremento de la expresión de TSPO tras la diferenciación en células de melanoma, células de la piel y del epitelio glandular (76).

Asimismo, se ha descrito en varias ocasiones el efecto de ligandos de TSPO en la diferenciación celular. Por ejemplo, en células de melanoma B16, los ligandos PK11195 y Ro5-4864 indujeron la adquisición de alteraciones fenotípicas típicas de la diferenciación de estas células (77). Además, en células PC12 de tumor de la médula suprarrenal también se observó una adquisición de un fenotipo propio de la diferenciación neuronal cuando se trataban con PK11195 (33).

Aunque se ha descrito previamente la capacidad de TSPO de regular la expresión de genes nucleares relacionados con procesos de diferenciación (33), su función en este acontecimiento celular y en el mantenimiento de la pluripotencia aún no está clara. Sin embargo, hay numerosos factores que influyen en estos procesos y que están regulados por TSPO.

TSPO no solo influye en el transporte de colesterol del citoplasma al interior de la mitocondria. También se ha descubierto que sus ligandos son capaces de incrementar el flujo extracelular de colesterol, aumentar la expresión de genes que regulan la homeostasis del colesterol y reducir su síntesis (78). En estudios en células madre como las células madre hematopoyéticas (HSCs), cada vez hay más evidencias de que la homeostasis del colesterol es un factor importante en la proliferación y movilización de las HSCs (79), así como su destino celular (80). No obstante, aún no se han estudiado como podría influir TSPO en estas poblaciones celulares.

Además, hemos visto que TSPO puede regular la producción de ATP y la cantidad de componentes de la cadena de transporte de electrones. Existe una relación entre el proceso de diferenciación de las células madre y la localización perinuclear de las mitocondrias, un bajo contenido de ATP en la célula y un aumento del consumo de oxígeno (81). Las células madre tienden a tener un perfil metabólico glucolítico cuando mantienen su pluripotencia (29,73). Por el contrario, cuando estas se diferencian, aumenta la producción de ATP por la vía de la fosforilación oxidativa (82). De hecho, si se inhibe la fosforilación oxidativa durante la diferenciación celular de células madre pluripotentes se produce un defecto en la diferenciación y se tiende a mantener la pluripotencia (73). Aunque esto ocurre en la mayoría de las células madre, se ha observado que esto no siempre es así, y que el perfil metabólico varía según el tipo de célula madre y el ambiente (73). Incluso hay experimentos (83) que demuestran que las células madre embrionarias (ESCs) humanas cultivadas *in vitro* producen alrededor del 77% del ATP mediante la fosforilación oxidativa, y que esta actividad declina cuando se produce la diferenciación a células madre neuronales (mientras que *in vivo* mantienen un perfil metabólico principalmente glucolítico) (73).

En estudios recientes se señala la importancia del perfil metabólico celular, y en concreto el mitocondrial, en la regulación del estado de la cromatina mediante la interacción de metabolitos con vías de señalización citoplasmáticas (84). Es decir, en el control epigenético y en la respuesta al ambiente. También se piensa que las ROS podrían intervenir en este mecanismo (82). Esto es importante para regular la plasticidad y la pluripotencia de células madre, así como en la aparición de cáncer (84).

TSPO puede contribuir en el mantenimiento de la homeostasis de las ROS. Las células indiferenciadas tienen una mayor susceptibilidad al daño oxidativo, por lo que minimizar el daño oxidativo producido por las ROS en las células madre es fundamental para su mantenimiento a lo largo de la vida del organismo (29). En células madre, las mitocondrias tienen una morfología inmadura, asociado a una baja producción de ROS (85). Además, los procesos de diferenciación

y proliferación generalmente están asociados a un incremento de ROS (86). Por ejemplo, las ROS puede regular la diferenciación de células madre mesenquimales (MSCs) a adipocitos, condrocitos, osteocitos y células neuronales (81). Uno de los factores que favorecen esta diferenciación y que está regulando por las ROS es la expresión de miRNA-210, el cual silencia la expresión de genes a nivel de mRNA (87). Las ROS también tienen un papel en la diferenciación de ESCs, tal como la señalización mediante H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inducida por NOX4, que provoca la diferenciación en células del linaje cardíaco (85).

El calcio mitocondrial, regulado también por TSPO, estimula la producción de ATP por la fosforilación oxidativa, interviene en mecanismos de regulación de ROS y en grandes cantidades pueden abrir el mPTP (84). Se sabe que el calcio intracelular es crucial para el mantenimiento de la pluripotencia y la diferenciación de células madre pluripotentes y células madre adultas (como las MSCs) (88). Sin embargo, la importancia concreta del calcio mitocondrial en la regulación de estos procesos está poco investigada (84).

Por último, aunque sea un efecto indirecto debido al papel fundamental de TSPO en la esteroidogénesis gracias al transporte de colesterol, las hormonas esteroideas (glucocorticoides, andrógenos, estrógenos, etc.) son capaces de unirse a los receptores presentes en determinadas células, como las MSCs y células progenitoras endoteliales, activando rutas de señalización que aumentan la expresión de genes implicados en la proliferación y diferenciación de estas células (89,90). También se ha visto que la producción de neuroesteroides es estimulada por la unión de ligandos a TSPO independientemente de la señalización hormonal (91). Los intermediarios esteroideos producidos durante la síntesis de neuroesteroides son capaces de inducir la diferenciación en células madre neuronales a células con un fenotipo parecido a neuronas y a astrocitos (92).

### **5.3 TSPO y cáncer**

Entender el papel que juegan las proteínas mitocondriales en el cáncer, especialmente aquellas cuya expresión cambia en la patología, es fundamental para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas (93). Varios estudios han demostrado que los niveles de TSPO varían en cánceres orales, de próstata, cerebro, estómago, colon, hígado, pulmón, ovario, mama y riñón (76,94,95). De hecho, la progresión de algunos cánceres puede estar correlacionada con el nivel de expresión de TSPO, ya sea positivamente (cánceres orales, de cerebro, colon y mama) o negativamente (gliomas, melanomas y recto) (76). Por ejemplo, se ha demostrado que la sobreexpresión de TSPO en células de carcinoma oral de células escamosas se relaciona

significativamente con un menor ratio de supervivencia del paciente (96). También en cáncer de mama se ha observado una relación entre los niveles de TSPO y el fenotipo agresivo de células de cáncer de mama humano, e incluso se ha establecido una fuerte relación entre la proliferación de estas células y la capacidad de TSPO de regular el transporte de colesterol al núcleo celular (97). Por el contrario, en un estudio *in vitro* de células de cáncer colorrectal se silenció TSPO, produciendo una disminución de la apoptosis y un incremento de la proliferación, es decir, provocando un fenotipo con mayor malignidad (98). Asimismo, el *knockout* de TSPO en células de glioblastoma resultó en un cambio de la expresión génica de genes involucrados en la regulación de la muerte celular, especialmente en genes relacionados con vías de señalización del glutamato y su metabolismo, reduciendo el ratio de apoptosis (71). Por lo tanto, a diferencia de lo que cabría esperar, el incremento en los niveles de TSPO puede no ser siempre un marcador de malignidad, dado que supone una diana clave para inducir la muerte de la célula tumoral y contener, así, la agresividad del tumor. De acuerdo con esta idea, la reducción *in vitro* de los niveles de TSPO por RNA de interferencia en células humanas U118MG de glioblastoma no solo reduce la sensibilidad de las mismas a la inducción de la apoptosis por diferentes agentes tóxicos y antineoplásicos que operan a través de la activación de TSPO (CoCl<sub>2</sub>, glutamato, SNP, ErPc3), sino que también se incrementan las características tumorigénicas de esta línea celular, entre ellas, la capacidad de migración, angiogénesis y proliferación, junto con una reducción en su adhesividad celular (Figura 4) (32,99,100).

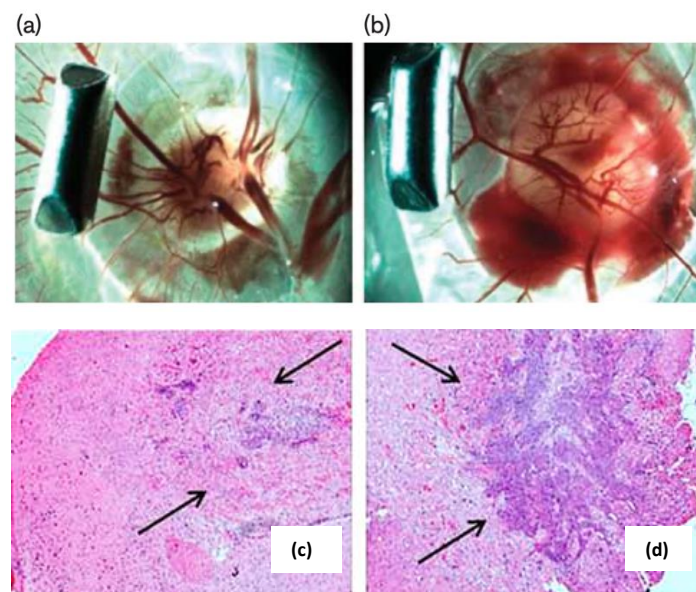


Figura 4: a y c control; b y d U118MG con tratamiento de siRNA para TSPO. La reducción de los niveles de TSPO por RNA de interferencia en células U118MG incrementa la formación de tumores y la angiogénesis en membranas corioalantoideas en embriones de pollo (a y b). Asimismo, la implantación de estas células con niveles reducidos de TSPO en el neocórtex de ratón siguiendo un modelo xenográfico produce una mayor tumorigenicidad (c y d) (99).

Debido a su expresión diferencial en tejidos tumorales, se ha estudiado la posibilidad de usar TSPO como biomarcador para detectar ciertos cánceres (76). Medir el nivel de mRNA de TSPO es uno de los métodos usados para medir su expresión, lo cual se ha constatado que es útil para identificar y diferenciar ciertos tipos de cánceres (76,94). Sin embargo, se ha demostrado recientemente que los ligandos de TSPO marcados radioactivamente tienen una sensibilidad mucho más alta en comparación con el uso de RT-PCR, permitiendo el diagnóstico y el establecimiento de un pronóstico (76).

De hecho, la tomografía por emisión de positrones o PET, técnica que detecta la radiación emitida por radioisótopos *in vivo* y genera una imagen estructural del tejido, puede medir los niveles de TSPO en un tejido, por lo que se ha usado como biomarcador de patologías como la neuroinflamación, la neurodegeneración y el cáncer (por ejemplo, en tumores de próstata y cerebro) (101–103).

Incluso sus ligandos juegan un papel en los tumores y en su tratamiento. Por ejemplo, concentraciones bajas de ligandos como benzodiazepinas e isoquinolinas aumentaron la proliferación celular y la síntesis de DNA en células de cáncer de mama, mientras que concentraciones más altas provocaron el efecto contrario (104). También en cáncer de próstata los ligandos de TSPO demostraron su capacidad para inhibir la proliferación tanto *in vivo* como *in vitro*, observándose una reducción de la masa tumoral (104). Además, en células de neuroblastoma, PK11195 ha demostrado su habilidad no solo de inhibir el crecimiento celular e inducir la apoptosis, sino también de sensibilizar estas células a los agentes citotóxicos usado en quimioterapia (105).

## **5.4 TSPO, células madre cancerígenas y terapia de diferenciación**

Con la información obtenida hasta ahora, sabemos que TSPO, y los procesos celulares en los que influye, intervienen en el mantenimiento de la pluripotencia, en la diferenciación celular, en mecanismos de apoptosis y en el cáncer. Por tanto, no es de extrañar que TSPO pudiese constituir una diana terapéutica en la lucha contra las células madre cancerígenas, por ejemplo, mediante la terapia de diferenciación (24,26,30). Un estudio en células de glioblastoma (112) evidenció que un inhibidor dual de TSPO y de MDM2 (una proteína reguladora de p53) provocaba la reactivación de p53 (proteína supresora de tumores), una reducción de la proliferación de las CSCs y un aumento de la sensibilidad de estas a agentes químicos. No obstante, los estudios que analizan las funciones de TSPO en CSCs son muy escasos. Aún más escasos son los estudios que consideren TSPO como diana en terapias de diferenciación de CSCs.

Ya se explicó previamente como el perfil metabólico y fisiológico de las mitocondrias está relacionado con el mantenimiento de las funciones que caracterizan a las CSCs, entre ellas la capacidad de diferenciarse (31). TSPO, además de tener un papel en el metabolismo mitocondrial y de intervenir en la señalización retrógrada mitocondria-núcleo que regula genes de la diferenciación (entre otros muchos) (33), también puede influir en otras características bioquímicas celulares que son propias de las CSCs y que pueden alterar su estado indiferenciado. Aunque se desconoce como TSPO interviene y regula estos procesos en CSCs, la importancia de estas propiedades en las CSCs y su relación con TSPO se expone a continuación:

Se ha observado que la desregulación del metabolismo lipídico es una de las características propias de los cánceres más agresivos (106). Concretamente, se ha visto un incremento de la síntesis de colesterol y de su transporte desde el medio al citoplasma en las CSCs, lo cual está asociado al mantenimiento de las membranas celulares, resultando en una mayor proliferación y supervivencia de las CSCs al tratamiento (107). De hecho, el tratamiento con estatinas (interrumpe la biosíntesis de colesterol) en un experimento redujo la autorrenovación de las CSCs en varios carcinomas (108). También lípidos como los esteroides pueden salir de la célula y actuar como molécula señalizadora autocrina en el microambiente tumoral, iniciando diferentes cascadas de señalización que pueden inducir la proliferación y la diferenciación de células vecinas (106). Añadido a que TSPO regula el transporte de colesterol en la mitocondria (43–45), sus ligandos pueden influenciar la homeostasis general de este compuesto en la célula (78). Esto, a su vez, está relacionado con el metabolismo de esteroides en la mitocondria. TSPO podría desregularse en las CSCs, provocando los efectos descritos.

Aunque la mayoría de CSCs (clasificadas según su origen tisular) presentan una mayor producción de energía por la vía glucolítica del mismo modo que las células madre no cancerígenas, se ha demostrado que las CSCs presentan una maquinaria de la fosforilación oxidativa funcional, posiblemente para la síntesis de metabolitos (109). Incluso se ha observado que con frecuencia esta fosforilación oxidativa está regulada positivamente, lo cual ocurre, por ejemplo, en la leucemia mieloide crónica (108,109). De hecho, las diferentes estrategias terapéuticas que son capaces de reducir la fosforilación oxidativa (como la inhibición de la replicación de DNA mitocondrial o de la biogénesis de complejos de la cadena respiratoria) son capaces de producir efectos antineoplásicos (109). Previamente se explicó como el silenciamiento de TSPO es capaz de reducir la capacidad de las células de realizar la fosforilación oxidativa (49,54), lo cual podría ser eficaz para combatir CSCs con este perfil metabólico. Por el contrario, la mayoría de CSCs tienen un perfil glucolítico, que les permite mantener la pluripotencia (108,109). Hay evidencias de que forzar la producción de ATP mediante la



fosforilación oxidativa provoca la pérdida de pluripotencia e induce la diferenciación de células madre P19 (carcinoma embrionario) (31). Estimular la regulación positiva de la fosforilación oxidativa producida por TSPO (59,60) podría ser una estrategia viable en la terapia de diferenciación.

Mantener los niveles de las ROS bajos es importante tanto para las células madre cancerosas como no cancerosas(29,86). El nivel de las ROS no solo es importante para el mantenimiento de las CSCs, sino que también les concede resistencia a tratamientos como la quimioterapia y la radioterapia, por lo que incrementar la concentración de las especies reactivas del oxígeno puede sensibilizar a las CSCs y permitir su eliminación de manera más efectiva (86). Además, la homeostasis de las ROS en las CSCs juega un papel relevante en el mantenimiento de la pluripotencia y en la inhibición de genes necesarios para la diferenciación (86,110). Por tanto, debido a que TSPO puede modular la generación de ROS y que sus ligandos son capaces de aumentar estos niveles (32,54–57), este podría ser útil para incrementar la vulnerabilidad de las CSCs e inducir su diferenciación.

Dentro de los mecanismos desregulados en las CSCs, aquellos relacionados con el calcio juegan un papel importante en la estimulación de la proliferación e invasión del tumor, así como en el mantenimiento de la pluripotencia (111,112). Recientemente se ha demostrado que elegir los canales de calcio alterados como diana terapéutica induce la diferenciación de CSCs y las sensibiliza al tratamiento (112). Dada la capacidad de TSPO de influir en la homeostasis del calcio (58) y la de sus ligandos de modificar los niveles de calcio celulares (54), es posible que este pueda inducir la diferenciación de CSCs por estas vías.

Los mecanismos por los que TSPO podría dirigir la diferenciación de CSCs son numerosos. Sin embargo, apenas hay estudios empíricos que analicen las funciones de TSPO en la diferenciación de células madre cancerígenas. Uno de los estudios encontrados (113), a pesar de que está centrado en la proteína VDAC, demostró que, al silenciar la expresión de VDAC con RNA interferente en células de glioblastoma (donde TSPO está sobreexpresado), se reducían drásticamente los niveles de TSPO y de los marcadores de CSCs. Este silenciamiento también producía la diferenciación de las células tumorales a unas células que expresaban marcadores propios de neuronas y astrocitos. No obstante, no se plantea el papel que TSPO podría tener en esta diferenciación.

## 6. Conclusiones

Las células madre cancerígenas son cada vez más importantes en la investigación del cáncer, debido a su papel fundamental en la carcinogénesis y en la resistencia al tratamiento. Por ello, conocer y entender los procesos celulares alterados que les confieren sus propiedades malignas es necesario para una eliminación eficaz de estas subpoblaciones.

TSPO es una proteína mitocondrial con numerosas funciones metabólicas y señalizadoras sobre las cuales existe controversia y que aún estamos lejos de comprender completamente. Sin embargo, se ha demostrado la importancia de esta proteína y sus ligandos en acontecimientos celulares tan relevantes como la apoptosis, la diferenciación celular y el mantenimiento de la pluripotencia, así como su relación con las patologías neoplásicas. La manera en la que interviene en estos mecanismos, a su vez, no es entendida del todo. No obstante, el hecho de que se haya evidenciado la relación de TSPO con estos mecanismos hace que TSPO presente un potencial terapéutico en ciertos cánceres como diana molecular en CSCs.

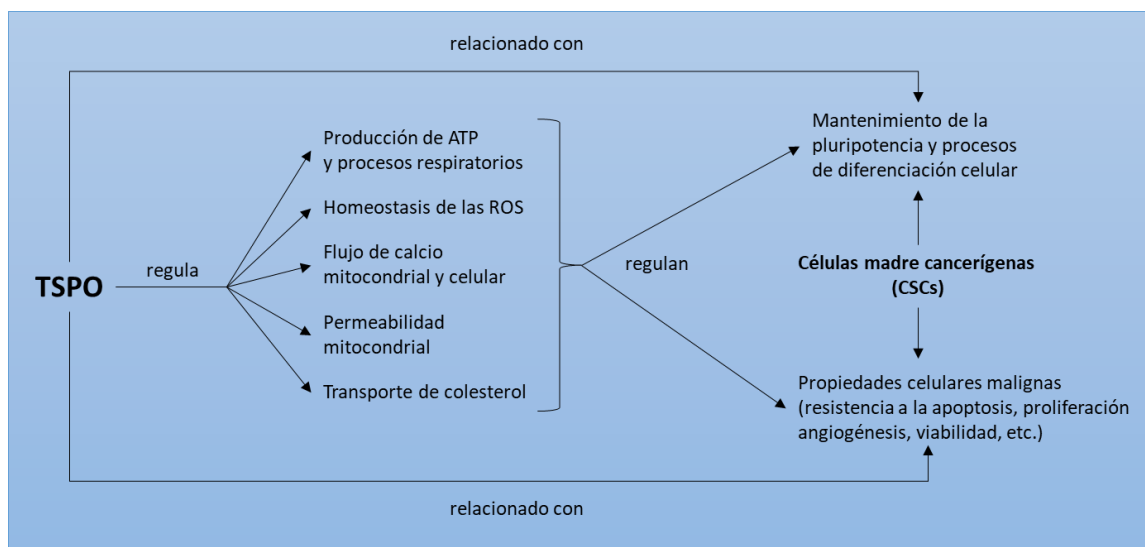


Figura 5: resumen de las relaciones entre TSPO (y los procesos celulares que regula) con las características propias de células madre cancerígenas.

En conclusión, este análisis de la literatura científica actual sobre TSPO ha evidenciado que es necesario llevar a cabo investigaciones futuras que esclarezcan el papel de la proteína translocadora en procesos tanto fisiológicos como neoplásicos, con el fin de analizar su posible uso en terapia contra el cáncer. En concreto, para inducir la diferenciación terminal de células madre cancerígenas, lo que aumentaría su vulnerabilidad al tratamiento y permitiría su eliminación de manera eficaz.

## 7. Bibliografía

1. Hosick, Howard L., Ph.D., Rizzo, Connie, M.D., Ph.D., Campanella, James J., Ph.D., Alder, Richard, Ph.D., Cancer. Magill's Medical Guide (Online Edition), 2019.
2. World Health Organization WH. WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all. 2020;
3. Murillo R, Robles C. Research Needs for Implementing Cancer Prevention and Early Detection in Developing Countries: From Scientists' to Implementers' Perspectives. *BioMed Res Int* [Internet]. 7 de mayo de 2019 [citado 10 de abril de 2020];2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6530220/>
4. Sociedad Española de Oncología Médica. Las cifras del cáncer en España 2020. 2020.
5. Sudhakar A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *J Cancer Sci Ther*. 1 de diciembre de 2009;1(2):1-4.
6. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 4 de marzo de 2011;144(5):646-74.
7. Yeldag G, Rice A, del Río Hernández A. Chemoresistance and the Self-Maintaining Tumor Microenvironment. *Cancers* [Internet]. 28 de noviembre de 2018 [citado 11 de abril de 2020];10(12). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6315745/>
8. Prasetyanti PR, Medema JP. Intra-tumor heterogeneity from a cancer stem cell perspective. *Mol Cancer* [Internet]. 16 de febrero de 2017 [citado 11 de abril de 2020];16. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5314464/>
9. Yu Z, Pestell TG, Lisanti MP, Pestell RG. Cancer Stem Cells. *Int J Biochem Cell Biol*. diciembre de 2012;44(12):2144-51.
10. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*. julio de 1997;3(7):730-7.
11. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1 de abril de 2003;100(7):3983-8.
12. Sonnenschein C, Soto A. Theories of carcinogenesis: An emerging perspective. *Semin Cancer Biol*. 1 de abril de 2008;18:372-7.
13. Paduch R. Theories of cancer origin. *Eur J Cancer Prev*. enero de 2015;24(1):57-67.
14. Carnero A, Lleonart M. The hypoxic microenvironment: A determinant of cancer stem cell evolution: Hypoxic niche and cancer stem cells. *Cell*. 1 de enero de 2015;1:n/a-n/a.
15. López-Lázaro M. The stem cell division theory of cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. marzo de 2018;123:95-113.
16. Praud D, Rota M, Rehm J, Shield K, Zatoński W, Hashibe M, et al. Cancer incidence and mortality attributable to alcohol consumption. *Int J Cancer*. 15 de marzo de 2016;138(6):1380-7.
17. Schulz A, Meyer F, Dubrovskaya A, Borgmann K. Cancer Stem Cells and Radioresistance: DNA Repair and Beyond. *Cancers* [Internet]. 21 de junio de 2019 [citado 16 de junio de 2020];11(6). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6627210/>
18. Abdullah LN, Chow EK-H. Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells. *Clin Transl Med*. 17 de enero de 2013;2(1):3.
19. Hoey T, Yen W-C, Axelrod F, Basi J, Donigian L, Dylla S, et al. DLL4 blockade inhibits tumor growth and reduces tumor-initiating cell frequency. *Cell Stem Cell*. 7 de agosto de 2009;5(2):168-77.
20. Civenni G, Malek A, Albino D, Garcia-Escudero R, Napoli S, Di Marco S, et al. RNAi-mediated silencing of Myc transcription inhibits stem-like cell maintenance and tumorigenicity in prostate cancer. *Cancer Res*. 15 de noviembre de 2013;73(22):6816-27.
21. Matsui WH. Cancer stem cell signaling pathways. *Medicine (Baltimore)*. septiembre de 2016;95(1 Suppl 1):S8-19.
22. Toraih EA, Fawzy MS, El-Falouji AI, Hamed EO, Nemr NA, Hussein MH, et al. Stemness-Related Transcriptional Factors and Homing Gene Expression Profiles in Hepatic Differentiation and Cancer. *Mol Med*. 12 de septiembre de 2016;22:653-63.
23. Mens MMJ, Ghanbari M. Cell Cycle Regulation of Stem Cells by MicroRNAs. *Stem Cell Rev Rep*. junio de 2018;14(3):309-22.
24. Jin X, Jin X, Kim H. Cancer stem cells and differentiation therapy. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. octubre de 2017;39(10).
25. Lathia JD, Liu H. Overview of Cancer Stem Cells and Stemness for Community Oncologists. *Target Oncol*. 2017;12(4):387-99.
26. Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy. *Crit Rev Oncol Hematol*. julio de 2004;51(1):1-28.

27. Vyas S, Zaganjor E, Haigis MC. Mitochondria and Cancer. *Cell*. 28 de julio de 2016;166(3):555-66.
28. Senft D, Ronai ZA. Regulators of mitochondrial dynamics in cancer. *Curr Opin Cell Biol*. 1 de abril de 2016;39:43-52.
29. Xu X, Duan S, Yi F, Ocampo A, Liu G-H, Izpisua Belmonte JC. Mitochondrial regulation in pluripotent stem cells. *Cell Metab*. 3 de septiembre de 2013;18(3):325-32.
30. Loureiro R, Mesquita KA, Oliveira PJ, Vega-Naredo I. Mitochondria in cancer stem cells: a target for therapy. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*. mayo de 2013;7(2):102-14.
31. Vega-Naredo I, Loureiro R, Mesquita KA, Barbosa IA, Tavares LC, Branco AF, et al. Mitochondrial metabolism directs stemness and differentiation in P19 embryonal carcinoma stem cells. *Cell Death Differ*. octubre de 2014;21(10):1560-74.
32. Caballero B, Veenman L, Gavish M. Role of mitochondrial translocator protein (18 kDa) on mitochondrial-related cell death processes. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*. mayo de 2013;7(2):86-101.
33. Yasin N, Veenman L, Singh S, Azrad M, Bode J, Vainshtein A, et al. Classical and Novel TSPO Ligands for the Mitochondrial TSPO Can Modulate Nuclear Gene Expression: Implications for Mitochondrial Retrograde Signaling. *Int J Mol Sci* [Internet]. 7 de abril de 2017 [citado 21 de junio de 2020];18(4). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5412370/>
34. Braestrup C, Squires RF. Specific benzodiazepine receptors in rat brain characterized by high-affinity (3H)diazepam binding. *Proc Natl Acad Sci U S A*. septiembre de 1977;74(9):3805-9.
35. Papadopoulos V, Baraldi M, Guilarte TR, Knudsen TB, Lacapère J-J, Lindemann P, et al. Translocator protein (18kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol Sci*. agosto de 2006;27(8):402-9.
36. Scarf AM, Kassiou M. The translocator protein. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. mayo de 2011;52(5):677-80.
37. Bonsack F, Sukumari-Ramesh S. TSPO: An Evolutionarily Conserved Protein with Elusive Functions. *Int J Mol Sci*. 7 de junio de 2018;19(6).
38. Anholt RR, De Souza EB, Oster-Granite ML, Snyder SH. Peripheral-type benzodiazepine receptors: autoradiographic localization in whole-body sections of neonatal rats. *J Pharmacol Exp Ther*. mayo de 1985;233(2):517-26.
39. Anholt RR, Pedersen PL, De Souza EB, Snyder SH. The peripheral-type benzodiazepine receptor. Localization to the mitochondrial outer membrane. *J Biol Chem*. 15 de enero de 1986;261(2):576-83.
40. Scarf AM, Ittner LM, Kassiou M. The translocator protein (18 kDa): central nervous system disease and drug design. *J Med Chem*. 12 de febrero de 2009;52(3):581-92.
41. Selvaraj V, Stocco DM, Tu LN. Minireview: translocator protein (TSPO) and steroidogenesis: a reappraisal. *Mol Endocrinol Baltim Md*. abril de 2015;29(4):490-501.
42. Mukhin AG, Papadopoulos V, Costa E, Krueger KE. Mitochondrial benzodiazepine receptors regulate steroid biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. diciembre de 1989;86(24):9813-6.
43. Papadopoulos V, Fan J, Zirkin B. TRANSLOCATOR PROTEIN (18 kDa): AN UPDATE ON ITS FUNCTION IN STEROIDOGENESIS. *J Neuroendocrinol* [Internet]. febrero de 2018 [citado 2 de julio de 2020];30(2). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5748373/>
44. Midzak A, Rone M, Aghazadeh Y, Culty M, Papadopoulos V. Mitochondrial protein import and the genesis of steroidogenic mitochondria. *Mol Cell Endocrinol*. 10 de abril de 2011;336(1-2):70-9.
45. Papadopoulos V, Aghazadeh Y, Fan J, Campioli E, Zirkin B, Midzak A. Translocator protein-mediated pharmacology of cholesterol transport and steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*. 15 de junio de 2015;408:90-8.
46. Li H, Yao Z, Degenhardt B, Teper G, Papadopoulos V. Cholesterol binding at the cholesterol recognition/interaction amino acid consensus (CRAC) of the peripheral-type benzodiazepine receptor and inhibition of steroidogenesis by an HIV TAT-CRAC peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 30 de enero de 2001;98(3):1267-72.
47. Li F, Liu J, Garavito RM, Ferguson-Miller S. Evolving understanding of translocator protein 18 kDa (TSPO). *Pharmacol Res*. septiembre de 2015;99:404-9.
48. Batarseh A, Papadopoulos V. Regulation of translocator protein 18 kDa (TSPO) expression in health and disease states. *Mol Cell Endocrinol*. 7 de octubre de 2010;327(1-2):1-12.
49. Milenkovic VM, Slim D, Bader S, Koch V, Heinel E-S, Alvarez-Carbonell D, et al. CRISPR-Cas9 Mediated TSPO Gene Knockout alters Respiration and Cellular Metabolism in Human Primary Microglia Cells. *Int J Mol Sci* [Internet]. 9 de julio de 2019 [citado 2 de julio de 2020];20(13). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6651328/>
50. Morohaku K, Pelton SH, Daugherty DJ, Butler WR, Deng W, Selvaraj V. Translocator protein/peripheral benzodiazepine receptor is not required for steroid hormone biosynthesis. *Endocrinology*. enero de 2014;155(1):89-97.

51. Ozaki H, Zoghbi SS, Hong J, Verma A, Pike VW, Innis RB, et al. IN VIVO BINDING OF PROTOPORPHYRIN IX TO RAT TRANSLOCATOR PROTEIN IMAGED WITH POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY. *Synap N Y N*. agosto de 2010;64(8):649-53.
52. Veenman L, Vainshtein A, Yasin N, Azrad M, Gavish M. Tetrapyrroles as Endogenous TSPO Ligands in Eukaryotes and Prokaryotes: Comparisons with Synthetic Ligands. *Int J Mol Sci*. 4 de junio de 2016;17(6).
53. Veenman L, Papadopoulos V, Gavish M. Channel-like functions of the 18-kDa translocator protein (TSPO): regulation of apoptosis and steroidogenesis as part of the host-defense response. *Curr Pharm Des*. 2007;13(23):2385-405.
54. Betlazar C, Middleton RJ, Banati R, Liu G-J. The Translocator Protein (TSPO) in Mitochondrial Bioenergetics and Immune Processes. *Cells*. 24 de febrero de 2020;9(2).
55. Choi J, Ifuku M, Noda M, Guilarte TR. Translocator protein (18 kDa)/peripheral benzodiazepine receptor specific ligands induce microglia functions consistent with an activated state. *Glia*. febrero de 2011;59(2):219-30.
56. Guilarte TR, Loth MK, Guariglia SR. TSPO Finds NOX2 in Microglia for Redox Homeostasis. *Trends Pharmacol Sci*. mayo de 2016;37(5):334-43.
57. Jayakumar AR, Panickar KS, Norenberg MD. Effects on free radical generation by ligands of the peripheral benzodiazepine receptor in cultured neural cells. *J Neurochem*. diciembre de 2002;83(5):1226-34.
58. Gatliff J, East DA, Singh A, Alvarez MS, Frison M, Matic I, et al. A role for TSPO in mitochondrial Ca<sup>2+</sup> homeostasis and redox stress signaling. *Cell Death Dis*. junio de 2017;8(6):e2896.
59. Banati RB, Middleton RJ, Chan R, Hatty CR, Kam WW-Y, Quin C, et al. Positron emission tomography and functional characterization of a complete PBR/TSPO knockout. *Nat Commun*. 19 de noviembre de 2014;5:5452.
60. Liu G-J, Middleton RJ, Kam WW-Y, Chin DY, Hatty CR, Chan RHY, et al. Functional gains in energy and cell metabolism after TSPO gene insertion. *Cell Cycle Georget Tex*. 4 de marzo de 2017;16(5):436-47.
61. Marginedas-Freixa I, Alvarez CL, Moras M, Hattab C, Bouyer G, Chene A, et al. Induction of ATP Release, PPIX Transport, and Cholesterol Uptake by Human Red Blood Cells Using a New Family of TSPO Ligands. *Int J Mol Sci [Internet]*. 10 de octubre de 2018 [citado 3 de julio de 2020];19(10). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6213633/>
62. Šileikyte J, Petronilli V, Zulian A, Dabbeni-Sala F, Tognon G, Nikolov P, et al. Regulation of the inner membrane mitochondrial permeability transition by the outer membrane translocator protein (peripheral benzodiazepine receptor). *J Biol Chem*. 14 de enero de 2011;286(2):1046-53.
63. Azarashvili T, Krestinina O, Baburina Y, Odinokova I, Grachev D, Papadopoulos V, et al. Combined effect of G3139 and TSPO ligands on Ca<sup>2+</sup>-induced permeability transition in rat brain mitochondria. *Arch Biochem Biophys*. 1 de diciembre de 2015;587:70-7.
64. Hurst S, Hoek J, Sheu S-S. Mitochondrial Ca<sup>2+</sup> and regulation of the permeability transition pore. *J Bioenerg Biomembr*. febrero de 2017;49(1):27-47.
65. Šileikytė J, Blachly-Dyson E, Sewell R, Carpi A, Menabò R, Di Lisa F, et al. Regulation of the mitochondrial permeability transition pore by the outer membrane does not involve the peripheral benzodiazepine receptor (Translocator Protein of 18 kDa (TSPO)). *J Biol Chem*. 16 de mayo de 2014;289(20):13769-81.
66. Fu Y, Wang D, Wang H, Cai M, Li C, Zhang X, et al. TSPO deficiency induces mitochondrial dysfunction, leading to hypoxia, angiogenesis, and a growth-promoting metabolic shift toward glycolysis in glioblastoma. *Neuro-Oncol*. 20 de 2020;22(2):240-52.
67. Shoshan-Barmatz V, Pittala S, Mizrachi D. VDAC1 and the TSPO: Expression, Interactions, and Associated Functions in Health and Disease States. *Int J Mol Sci*. 8 de julio de 2019;20(13).
68. Veenman L, Alten J, Linnemannstöns K, Shandalov Y, Zeno S, Lakomek M, et al. Potential involvement of FOF1-ATP(synth)ase and reactive oxygen species in apoptosis induction by the antineoplastic agent erucylphosphocholine in glioblastoma cell lines : a mechanism for induction of apoptosis via the 18 kDa mitochondrial translocator protein. *Apoptosis Int J Program Cell Death*. julio de 2010;15(7):753-68.
69. Martelli AM, Papa V, Tazzari PL, Ricci F, Evangelisti C, Chiarini F, et al. Erucylphosphocholine, the first intravenously applicable alkylphosphocholine, is cytotoxic to acute myelogenous leukemia cells through JNK- and PP2A-dependent mechanisms. *Leukemia*. abril de 2010;24(4):687-98.
70. Lee Y, Park Y, Nam H, Lee J-W, Yu S-W. Translocator protein (TSPO): the new story of the old protein in neuroinflammation. *BMB Rep*. enero de 2020;53(1):20-7.
71. Veenman L, Bode J, Gaitner M, Caballero B, Pe'er Y, Zeno S, et al. Effects of 18-kDa translocator protein knockdown on gene expression of glutamate receptors, transporters, and metabolism, and on cell viability affected by glutamate. *Pharmacogenet Genomics*. agosto de 2012;22(8):606-19.
72. Dimitrova-Shumkovska J, Krstanoski L, Veenman L. Diagnostic and Therapeutic Potential of TSPO Studies Regarding Neurodegenerative Diseases, Psychiatric Disorders, Alcohol Use Disorders, Traumatic Brain Injury, and Stroke: An Update. *Cells [Internet]*. 2 de abril de 2020 [citado 4 de julio de 2020];9(4). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7226777/>

73. Chen H, Chan DC. Mitochondrial Dynamics in Regulating the Unique Phenotypes of Cancer and Stem Cells. *Cell Metab.* 5 de julio de 2017;26(1):39-48.
74. Varga B, Markó K, Hádinger N, Jelítai M, Demeter K, Tihanyi K, et al. Translocator protein (TSPO 18kDa) is expressed by neural stem and neuronal precursor cells. *Neurosci Lett.* 25 de septiembre de 2009;462(3):257-62.
75. Manku G, Culty M. Regulation of Translocator Protein 18 kDa (TSPO) Expression in Rat and Human Male Germ Cells. *Int J Mol Sci.* 6 de septiembre de 2016;17(9).
76. Bhoola NH, Mbita Z, Hull R, Dlamini Z. Translocator Protein (TSPO) as a Potential Biomarker in Human Cancers. *Int J Mol Sci* [Internet]. 25 de julio de 2018 [citado 4 de julio de 2020];19(8). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6121633/>
77. Landau M, Weizman A, Zoref-Shani E, Beery E, Wasseman L, Landau O, et al. Antiproliferative and differentiating effects of benzodiazepine receptor ligands on B16 melanoma cells. *Biochem Pharmacol.* 15 de octubre de 1998;56(8):1029-34.
78. Biswas L, Farhan F, Reilly J, Bartholomew C, Shu X. TSPO Ligands Promote Cholesterol Efflux and Suppress Oxidative Stress and Inflammation in Choroidal Endothelial Cells. *Int J Mol Sci* [Internet]. 24 de noviembre de 2018 [citado 3 de julio de 2020];19(12). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6321017/>
79. Oguro H. The Roles of Cholesterol and Its Metabolites in Normal and Malignant Hematopoiesis. *Front Endocrinol* [Internet]. 2 de abril de 2019 [citado 3 de julio de 2020];10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6454151/>
80. Gu Q, Yang X, Lv J, Zhang J, Xia B, Kim J, et al. AIBP-mediated Cholesterol Efflux Instructs Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Fate. *Science.* 8 de marzo de 2019;363(6431):1085-8.
81. Atashi F, Modarressi A, Pepper MS. The Role of Reactive Oxygen Species in Mesenchymal Stem Cell Adipogenic and Osteogenic Differentiation: A Review. *Stem Cells Dev.* 15 de mayo de 2015;24(10):1150-63.
82. Hopkinson BM, Desler C, Kalisz M, Vestentoft PS, Juel Rasmussen L, Bisgaard HC. Bioenergetic Changes during Differentiation of Human Embryonic Stem Cells along the Hepatic Lineage. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:5080128.
83. Birket MJ, Orr AL, Gerencser AA, Madden DT, Vitelli C, Swistowski A, et al. A reduction in ATP demand and mitochondrial activity with neural differentiation of human embryonic stem cells. *J Cell Sci.* 1 de febrero de 2011;124(Pt 3):348-58.
84. Lisowski P, Kannan P, Mlody B, Prigione A. Mitochondria and the dynamic control of stem cell homeostasis. *EMBO Rep.* 2018;19(5).
85. Bigarella CL, Liang R, Ghaffari S. Stem cells and the impact of ROS signaling. *Dev Camb Engl.* noviembre de 2014;141(22):4206-18.
86. Zhou D, Shao L, Spitz DR. Reactive oxygen species in normal and tumor stem cells. *Adv Cancer Res.* 2014;122:1-67.
87. Asgharzadeh A, Alizadeh S, Keramati MR, Soleimani M, Atashi A, Edalati M, et al. Upregulation of miR-210 promotes differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs) into osteoblasts. *Bosn J Basic Med Sci.* 7 de noviembre de 2018;18(4):328-35.
88. Tonelli FMP, Santos AK, Gomes DA, da Silva SL, Gomes KN, Ladeira LO, et al. Stem Cells and Calcium Signaling. *Adv Exp Med Biol.* 2012;740:891-916.
89. Salloum RH, Rubin JP, Marra KG. The role of steroids in mesenchymal stem cell differentiation: molecular and clinical perspectives. *Horm Mol Biol Clin Investig.* agosto de 2013;14(1):3-14.
90. Ray R, Novotny NM, Crisostomo PR, Lahm T, Abarbanell A, Meldrum DR. Sex Steroids and Stem Cell Function. *Mol Med.* 2008;14(7-8):493-501.
91. Da Pozzo E, Costa B, Martini C. Translocator protein (TSPO) and neurosteroids: implications in psychiatric disorders. *Curr Mol Med.* mayo de 2012;12(4):426-42.
92. Papadopoulos V, Lecanu L. Translocator protein (18 kDa) TSPO: an emerging therapeutic target in neurotrauma. *Exp Neurol.* septiembre de 2009;219(1):53-7.
93. Wu X, Gallo KA. The 18-kDa Translocator Protein (TSPO) Disrupts Mammary Epithelial Morphogenesis and Promotes Breast Cancer Cell Migration. *PLoS ONE* [Internet]. 14 de agosto de 2013 [citado 4 de julio de 2020];8(8). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3743866/>
94. Han Z, Slack RS, Li W, Papadopoulos V. Expression of peripheral benzodiazepine receptor (PBR) in human tumors: relationship to breast, colorectal, and prostate tumor progression. *J Recept Signal Transduct Res.* 2003;23(2-3):225-38.
95. Bribes E, Carrière D, Goubet C, Galiègue S, Casellas P, Simony-Lafontaine J. Immunohistochemical assessment of the peripheral benzodiazepine receptor in human tissues. *J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc.* enero de 2004;52(1):19-28.

96. Nagler R, Weizman A, Gavish A. Cigarette smoke, saliva, the translocator protein 18 kDa (TSPO), and oral cancer. *Oral Dis.* 2019;25(8):1843-9.
97. Hardwick M, Fertikh D, Culty M, Li H, Vidic B, Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine receptor (PBR) in human breast cancer: correlation of breast cancer cell aggressive phenotype with PBR expression, nuclear localization, and PBR-mediated cell proliferation and nuclear transport of cholesterol. *Cancer Res.* 15 de febrero de 1999;59(4):831-42.
98. Shoukrun R, Veenman L, Shandalov Y, Leschiner S, Spanier I, Karry R, et al. The 18-kDa translocator protein, formerly known as the peripheral-type benzodiazepine receptor, confers proapoptotic and antineoplastic effects in a human colorectal cancer cell line. *Pharmacogenet Genomics.* noviembre de 2008;18(11):977-88.
99. Bode J, Veenman L, Caballero B, Lakomek M, Kugler W, Gavish M. The 18 kDa translocator protein influences angiogenesis, as well as aggressiveness, adhesion, migration, and proliferation of glioblastoma cells. *Pharmacogenet Genomics.* julio de 2012;22(7):538-50.
100. Shargorodsky L, Veenman L, Caballero B, Pe'er Y, Leschiner S, Bode J, et al. The nitric oxide donor sodium nitroprusside requires the 18 kDa Translocator Protein to induce cell death. *Apoptosis Int J Program Cell Death.* julio de 2012;17(7):647-65.
101. Werry EL, Bright FM, Piguet O, Ittner LM, Halliday GM, Hodges JR, et al. Recent Developments in TSPO PET Imaging as A Biomarker of Neuroinflammation in Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci.* 28 de junio de 2019;20(13).
102. Tantawy MN, Charles Manning H, Peterson TE, Colvin DC, Gore JC, Lu W, et al. Translocator Protein PET Imaging in a Preclinical Prostate Cancer Model. *Mol Imaging Biol.* 2018;20(2):200-4.
103. Roncaroli F, Su Z, Herholz K, Gerhard A, Turkheimer FE. TSPO expression in brain tumours: is TSPO a target for brain tumour imaging? *Clin Transl Imaging.* 2016;
104. Austin CJD, Kahlert J, Kassiou M, Rendina LM. The translocator protein (TSPO): A novel target for cancer chemotherapy. *Int J Biochem Cell Biol.* 1 de julio de 2013;45(7):1212-6.
105. Mendonça-Torres MC, Roberts SS. The translocator protein (TSPO) ligand PK11195 induces apoptosis and cell cycle arrest and sensitizes to chemotherapy treatment in pre- and post-relapse neuroblastoma cell lines. *Cancer Biol Ther.* abril de 2013;14(4):319-26.
106. Begicevic R-R, Arfuso F, Falasca M. Bioactive lipids in cancer stem cells. *World J Stem Cells.* 26 de septiembre de 2019;11(9):693-704.
107. Ehmsen S, Pedersen MH, Wang G, Terp MG, Arslanagic A, Hood BL, et al. Increased Cholesterol Biosynthesis Is a Key Characteristic of Breast Cancer Stem Cells Influencing Patient Outcome. *Cell Rep.* 25 de 2019;27(13):3927-3938.e6.
108. Jagust P, de Luxán-Delgado B, Parejo-Alonso B, Sancho P. Metabolism-Based Therapeutic Strategies Targeting Cancer Stem Cells. *Front Pharmacol [Internet].* 22 de marzo de 2019 [citado 9 de julio de 2020];10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6438930/>
109. Sica V, Bravo-San Pedro JM, Stoll G, Kroemer G. Oxidative phosphorylation as a potential therapeutic target for cancer therapy. *Int J Cancer.* 01 de 2020;146(1):10-7.
110. Ding S, Li C, Cheng N, Cui X, Xu X, Zhou G. Redox Regulation in Cancer Stem Cells. *Oxid Med Cell Longev.* 2015;2015:750798.
111. Terrié E, Coronas V, Constantin B. Role of the calcium toolkit in cancer stem cells. *Cell Calcium.* 1 de junio de 2019;80:141-51.
112. O'Reilly D, Buchanan P. Calcium channels and cancer stem cells. *Cell Calcium.* 1 de julio de 2019;81:21-8.
113. Arif T, Stern O, Pittala S, Chalifa-Caspi V, Shoshan-Barmatz V. Rewiring of Cancer Cell Metabolism by Mitochondrial VDAC1 Depletion Results in Time-Dependent Tumor Reprogramming: Glioblastoma as a Proof of Concept. *Cells.* 28 de 2019;8(11).