

## TELÓMEROS Y TELOMERASA, SUS IMPLICACIONES EN EL ENVEJECIMIENTO Y EL CÁNCER

DRA. DÑA. MARÍA CASCALES ANGOSTO  
*Académica de Número de la Real Academia de Doctores de España*

DR. D. JUAN ÁNGEL ÁLVAREZ GÓMEZ  
*Doctor en Farmacia*



*Alberto Nobel, creador del Premio que lleva su nombre, nacido en 1833 y muerto en 1896*

El Premio Nobel de Medicina 2009, que concede el Instituto Karolinska de Estocolmo, ha recaído en los descubridores de la telomerasa. El jurado ha valorado los trabajos en este campo de **Elizabeth H Blackburn, Carol W Greider y Jack W Szostak**, cuyas implicaciones afectan tanto al proceso del envejecimiento como del cáncer. El 10 de Diciembre de 2009 se hicieron efectivos los **Premios Nobel 2009** en la Sala de Conciertos de Estocolmo. El rey Carlos Gustavo de Suecia presidió la ceremonia de entrega de los **Premios**, para los grandes intelectuales de Física, Química, Medicina, Economía y Literatura, recordando el aniversario de la muerte de su fundador, el industrial sueco Alfred Nobel, inventor de la dinamita.



*Elizabeth H Blackburn*



*Carol W Greider*



*Jack W Szostak*



*El Rey de Suecia hace entrega del Premio Nobel de Medicina 2009 a Elizabeth Blackburn.*

Los telómeros (del griego ‘telos’, final; y ‘meros’, parte) son estructuras situadas en el extremo de los cromosomas cuya misión es proporcionarles protección y estabilidad. A medida que las células se dividen, los telómeros se acortan y este acortamiento se contrarresta mediante la acción de la telomerasa. El Instituto Karolinska ha destacado que los descubrimientos de estos investigadores han añadido una nueva dimensión al conocimiento de la célula, han arrojado luz sobre los mecanismos de enfermedades y han estimulado el desarrollo de nuevas terapias.

Se da la circunstancia de que los científicos que descubrieron la existencia de los telómeros allá por los años 30, Hermann J Muller y Barbara McClintock, también recibieron el premio Nobel, aunque por descubrimientos diferentes. Varias décadas después, Elizabeth Blackburn y su doctoranda Carol Greider, descubrieron la telomerasa. A partir de ese hallazgo, Szostak identificó mutaciones en células de levadura que provocaban la reducción gradual de los telómeros, mientras que Blackburn hizo mutaciones en el RNA de la telomerasa y observó efectos similares en el protozoo ciliado *Tetrahymena*. Los tres premiados, cuyos nombres llevan años siendo barajados para el Nobel, son ciudadanos de los Estados Unidos, nacidos en Tasmania, California y Londres, respectivamente.

**Elisabeth H Blackburn**, nacida en Hobart, Tasmania en 1948, es profesora de Bioquímica de la Universidad de California, en San Francisco (EEUU). Fue elegida por la revista Time, dentro de sus listados anuales, como una de las 100 personas más influyentes del mundo. En 2006 ganó el Premio Albert Lasker de Investigación Médica Básica junto a Szostak y ya en 2007 sonó como una de las candidatas al Nobel.

**Carol W Greider**, nacida en California en 1961, ha trabajado estrechamente con Elisabeth Blackburn, una de sus maestras. Se licenció en la Universidad de California (Berkeley), donde comenzó sus trabajos de investigación en 1984. El día de Navidad de ese mismo año, Greider identificó la telomerasa, la enzima responsable del mantenimiento cromosómico.

**Jack Szostak**, nacido en Londres en 1952, es considerado uno de los líderes en el campo de los estudios genéticos desde su laboratorio en el Instituto Howard Hughes de EEUU.

Elizabeth Blackburn, con la colaboración de Jack Szostak, descubrió que la secuencia única de DNA de los télómeros previene el envejecimiento y la degradación de los cromosomas. En investigaciones realizadas con su colaboradora Carol Greider, Blackburn descubrió la telomerasa, enzima capaz de evitar la pérdida telomérica. Elizabeth Blackburn comparte el galardón y el premio con sus dos colaboradores. Sus estudios son de gran utilidad a la hora de encontrar nuevas terapias para el cáncer o de comprender mejor la forma en que pueden funcionar las células madre. Pero, sin duda, el más importante avance derivado de estos descubrimientos se relaciona con el envejecimiento. Blackburn, ha descubierto, entre otras cosas, que la edad y estrés contribuyen a que los télómeros se acorten. Esto produce una degeneración celular que, además de los achaques propios de la edad, determinará el momento de la muerte. Conocer exactamente la forma en que funciona este mecanismo, hace posible vislumbrar algún tratamiento que evite el deterioro irreversible que acompaña a la vejez.

## TELÓMEROS Y TELOMERASA

Los télómeros son complejos especializados de DNA-proteína que se encuentran en los extremos de los cromosomas lineales y los protege de la degradación y pérdida de genes esenciales. Los télómeros consisten en repeticiones de nucleótidos en número variable, unidas a un complejo multiproteico denominado shelterina/telosoma. La replicación de los télómeros presenta un dilema especial denominado «problema de la replicación terminal». En el proceso de la división celular, los télómeros de las células somáticas normales no pueden replicarse en su totalidad por el complejo convencional DNA polimerasa y esto se debe a la diferencia en la replicación de las dos cadenas del DNA. Para solucionar este problema la mayoría de las células eucariotas utilizan la telomerasa, una ribonucleoproteína retrotranscriptasa, que actúa alargando los extremos de los cromosomas con una secuencia telomérica específica, utilizando como molde una porción de su propio componente integral RNA.

En la mayoría de las células somáticas derivadas de tejidos normales, la pérdida de la capacidad replicativa, que conlleva a la *senescencia celular*, se debe al acortamiento de los télómeros asociado con la ausencia de actividad telomerasa. Los télómeros y la telomerasa presentan un gran interés a la hora de encontrar explicación, no sólo a los cambios relacio-

nados con el envejecimiento, sino también a los relativos a la tumorigénesis. Son numerosas las alteraciones en la expresión genética que afectan la diferente capacidad de las células para dividirse y que se encuentran implicadas en los mecanismos que conducen, tanto al envejecimiento como al cáncer. A nivel celular, la senescencia celular se ha utilizado como modelo de envejecimiento, por tanto, su conocimiento tiene importantes implicaciones en la salud. Las observaciones iniciales sugirieron que la senescencia celular era debida al acortamiento de los telómeros, pero hallazgos más recientes han llegado a considerar que está desencadenada por lesión al DNA. De hecho, tanto el acortamiento de los telómeros como la lesión al DNA comparten un mecanismo común y es la vía de respuesta al daño al DNA.

Las repeticiones teloméricas perdidas se regeneran por una transcriptasa inversa denominada telomerasa (TERT, *telomerase reverse transcriptase*). TERT reconoce el terminal 3' en el extremo de los cromosomas y añade repeticiones TTAGGG sintetizadas *de novo* utilizando RNA como molde (TERC, *telomerase RNA component*). Mientras que los eucariotas unicelulares tienen cantidades ilimitadas de telomerasa y mantienen los telómeros en una longitud constante, la mayoría de los organismos multicelulares poseen cantidades limitadas de telomerasa y el acortamiento de los telómeros se verifica acoplado a la división celular, debido a la incapacidad de las DNA polimerasas normales de copiar los extremos terminales de los cromosomas. El acortamiento de los telómeros se observa en todos los tejidos humanos a medida que transcurre la edad. Esto refleja el acumulo de divisiones celulares asociado a la renovación tisular. La pérdida progresiva de los telómeros es uno de los mecanismos que impone un límite al crecimiento de células normales en cultivo, fenómeno que se denomina *senescencia replicativa*. Una serie de patologías relacionadas con el envejecimiento y con síndromes de envejecimiento prematuro, se caracterizan por un acortamiento rápido de los telómeros. Resultados obtenidos a partir del modelo de ratón deficiente en el gen *Terc*, muestran una pérdida telomérica acelerada que se asocia con una expectativa de vida más corta, que se agrava en sucesivas generaciones hasta que la infertilidad de los machos no permite más generaciones.

El acortamiento de los telómeros induce la apoptosis y la parada del ciclo celular *in vivo*, lo que conlleva la pérdida celular, la disfunción tisular y la alteración de la capacidad regenerativa de las células madre.

El interés por los telómeros, relativo a los procesos de senescencia e inmortalidad, se basa en que el envejecimiento supone la *pérdida* de la capacidad replicativa celular, mientras que la inmortalidad supone la *ganancia* de un potencial replicativo ilimitado. La importancia de la relación entre envejecimiento e inmortalidad se encuentra reforzada por el hecho que una elevada proporción de células tumorales expresan actividad telomerasa, mientras que la mayor parte de células somáticas normales muestran una ausencia casi total de esta actividad. El que la actividad telomerasa se considere una de las características de las células tumorales, hace de este enzima un potencial objetivo terapéutico y de diagnóstico.

## ESTRUCTURA DE LOS TELÓMEROS

Los telómeros de eucariotas son secuencias hexaméricas repetidas de DNA, potencialmente expansionables y no codificables. Aparecen en el extremo de los cromosomas lineales y son esenciales para el mantenimiento de la estabilidad cromosómica. Los telómeros van unidos al complejo multiproteico *shelterina/telosoma* que ejerce un papel fundamental en la regulación de la longitud telomérica y en su protección. Consisten los telómeros en secuencias repetitivas ricas en guanina (G) que se desarrollan en el extremo

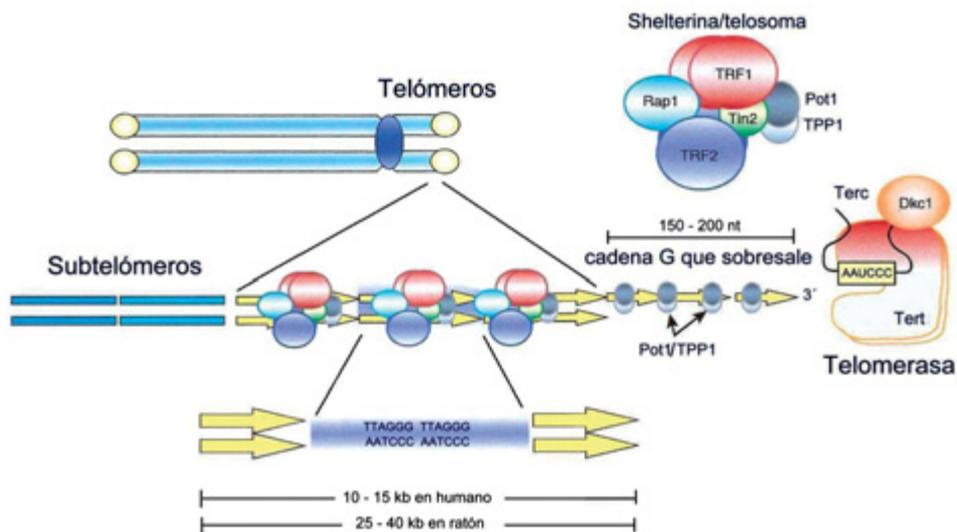


FIGURA 1. Estructura de los telómeros. Los telómeros de mamíferos consisten en repeticiones de la secuencia de nucleótidos TTAGGG que está unida al complejo proteico shelterina/telosoma. Adyacentes a los telómeros están las regions subteloiméricas, que son también ricas en DNA repetitivo (Blasco 2007, modificado).

de los cromosomas, en dirección 5'→3', con la cadena complementaria, rica en citidina (C). Las secuencias teloméricas pueden variar entre las especies, pero cada organismo posee la misma secuencia repetitiva en todos sus telómeros. En humanos y en ratón dicha secuencia es TTAGGG. En el momento del nacimiento, los telómeros de las células somáticas humanas contienen unas 15 kb del fragmento TTAGGG y los ratones tienen de 25 a 40 kb. En ausencia de telomerasa, en cada división celular se pierden un promedio de 25 a 200 bases de los extremos teloméricos, Cuando este acortamiento ocurre entre 80 a 100 veces, la célula deja de dividirse, envejece y muere.

Los telómeros humanos poseen longitud variable según las diferentes células. Por ejemplo, la de las células germinales fluctúa entre 10 y 15 kb, mientras que la de los leucocitos de sangre periférica fluctúa entre 5 y 12 kb. El mantenimiento de la longitud de los telómeros supone un problema en el mecanismo de replicación celular, porque la síntesis de la cadena conductora de la célula hija llega hasta el final del extremo 5' de la cadena del DNA de la célula madre, mientras que la síntesis de la cadena rezagada, al ser discontinua, no puede replicarse hasta el final. El problema de la replicación terminal, descubierto por Watson en 1972, se debe a que el mecanismo de replicación del DNA en los cromosomas lineales es diferente para cada una de las dos cadenas y es esto lo que ocasiona el acortamiento telomérico.

Los telómeros de los vertebrados terminan en una cadena 3' rica en guanina (cadena G) que sobresale, que se genera en el proceso post replicativo de la cadena rica en citosina, que es el sustrato para la elongación telomérica mediada por la telomerasa (Figura 1). La cadena G sobresaliente puede doblarse e invadir la región de doble cadena del telómero y generar una estructura de bucle conocida como bucle-T (*T-loop*), que esconde el extremo 3', a modo de mecanismo primitivo para protección del telómero.

Las repeticiones teloméricas están unidas al complejo shelterina/telosoma (Figura 1) que contiene una serie de factores. De éstos, unos se unen directamente a la cadena G sencilla que sobresale, como el heterodímero de protección de los telómeros Pot1/TTP, y otros se unen a la región telomérica de doble cadena, como los factores de unión a las repeticiones teloméricas TRF1 y TRF2 que interactúan con Rap1 (proteína represora activadora 1) y Tin2 (proteína 2 nuclear que interactúa con TRF1). El TRF1 también reúne en los telómeros las poli(ADP) ribosilasas TANK1 y TANK2 o tanquirasas. Se ha propuesto que las TRF1 y las proteínas que interactúan con TRF1 regulan la longitud telomérica mediante el control del acceso de la telomerasa al telómero. TRF2 y Pot1 intervienen en la regulación de la longitud del telómero y tienen papeles adicionales de protección, porque previenen las fusiones entre los extremos cromosómicos. El papel del TRF2 en la protección del telómero puede relacionarse con la señalización del daño al DNA y factores de reparación.

## REGULACIÓN EPIGENÉTICA DE LOS TELÓMEROS

Además del complejo shelterina, los telómeros y subtelómeros están unidos a nucleosomas enriquecidos en modificaciones en las histonas, características de dominios constitutivos de la heterocromatina. Estas modificaciones son la trimetilación de la histona H3 en la lisina 9 (H3K9) y la de la histona H4 en la lisina 20 (H4K20), y están catalizadas por las histona metiltransferasas. Las proteínas heterocromatínicas HP1 $\alpha$  y HP1 $\beta$  se unen a los dominios teloméricos y subteloméricos debido a su afinidad por residuos trimetilados de H3K9 (Figura 2).

Un aspecto importante de la regulación y funcionamiento de los telómeros y de regiones subteloméricas es su estructura cromatínica. Los telómeros de mamíferos como los de la mosca *Drosophila*, al tener características de heterocromatina, pueden silenciar genes cercanos. La cromatina telomérica en humanos contiene nucleosomas que muestran un espacio débilmente alterado comparado con la cromatina no telomérica. Recientes estudios han demostrado que la cromatina telomérica y subtelomérica del ratón contienen modificaciones en las histonas, típicas de la heterocromatina y que el DNA subtelomérico puede metilarse. Evidencias cada vez más firmes indican la existencia de conexiones funcionales entre estas marcas epigenéticas y la homeostasis de la longitud de los telómeros. Alteraciones en las modificaciones de las histonas en la cromatina telomérica o en la metilación del DNA en regiones subteloméricas, se relacionan con la alteración en la longitud de los telómeros, lo que sugiere la existencia de una estructura de mayor orden en los telómeros, que está regulada epigenéticamente y que es importante para el control de su longitud.

La cromatina de los telómeros al presentar varias características similares a la de la heterocromatina de las regiones pericentroméricas, tiene la capacidad de silenciar genes cercanos. Este fenómeno se conoce como efecto de posición telomérica. En células humanas este efecto está influenciado por la longitud telomérica e implica la hipoacetilación de las histonas y puede alterarse por tratamiento con inhibidores de la desacetilasa SIRT. Los telómeros y subtelómeros de mamíferos también tienen similitudes con regiones pericentroméricas en términos de composición de la secuencia y contenido en genes. Ambos, telómeros y subtelómeros se caracterizan por un elevado contenido en repeticiones de DNA y aunque los telómeros no contienen genes, los subtelómeros como las regiones pericentroméricas son pobres en genes. Sin embargo, al contrario que en levadura, donde sólo las repeticiones subteloméricas contienen nucleosomas, en humanos, tanto los telómeros como los subtelómeros los contienen.

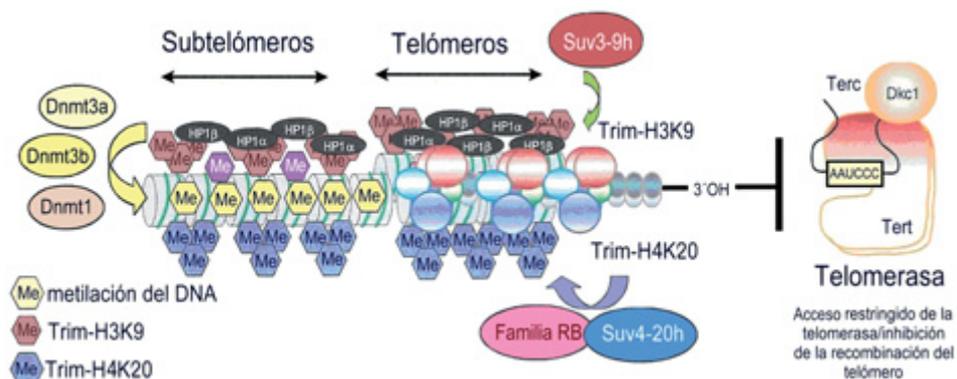


FIGURA 2. Los telómeros de mamíferos contienen nucleosomas que muestran modificaciones en las histonas que son características de los dominios de heterocromatina. El DNA subtelomérico está fuertemente metilado. Estas modificaciones en la cromatina en los telómeros y subtélomos regulan negativamente la longitud telomérica y la recombinación de los telómeros. TriM, trimetil; Dnmt, DNA metiltransferasas. (Blasco 2007, modificado).

Como consecuencia de las observaciones del efecto de posición telomérica en mamíferos, muchas marcas que generalmente se encuentran en la heterocromatina, pueden encontrarse en los telómeros. En particular, al igual que en las regiones pericentroméricas, la trimetilación de H3K9 y de H4K20 se ha identificado en los dominios teloméricos y subteloméricos. En el caso de H3K9 las metil transferasas responsables de la trimetilación son las SUV3-9H1 y SUV3-9H2, mientras que la trimetilación de la H4K20 se realiza por las SUV4-20H1 y SUV4-20H2 (Figura 2). Las proteínas de la familia del retinoblastoma supresora de tumores Rb 107 y 130 interactúan con SUV4-20H1 y SUV4-20H2 para mantener la trimetilación de H4K20 en la cromatina telomérica y pericentromérica. Los telómeros humanos y murinos se encuentran también enriquecidos en HP1 (isoformas de proteínas de la heterocromatina). Además, las repeticiones teloméricas y subteloméricas de mamíferos se caracterizan por bajos niveles de H3 y H4 acetiladas. Las observaciones que indican que el efecto de la posición telomérica humana se revierte cuando TRF1 se sobreexpresa y aumenta cuando los telómeros se alargan, sugieren que los componentes del complejo shelterina/telosoma pueden afectar el *status* epigenético de los telómeros por su capacidad de regular su longitud.

Las alteraciones en la metilación del DNA y en la modificación de las histonas son comunes en cáncer humano. Dado que la estructura de la cromatina afecta la regulación de los telómeros, estos cambios epigenéticos pueden establecer una conexión importante entre la alteración de los telómeros y el desarrollo del cáncer. En particular, en tumores que muestran hipometilación en el DNA o menor trimetilación en las histonas H3K9 y H4K20 de regiones teloméricas, se favorece la activación de los mecanismos de elongación de telómeros (telomerasa o ALT), lo cual, a su vez, puede sostener el crecimiento tumoral en ausencia de telomerasa. Defectos en la metilación del DNA se han asociado a otras enfermedades.

El hallazgo de que los cambios epigenéticos en la cromatina telomérica y subtelomérica se asocian con telómeros muy cortos, sugiere que el acortamiento telomérico en las patologías relacionadas con la edad, puede ser el resultado de defectos epigenéticos en

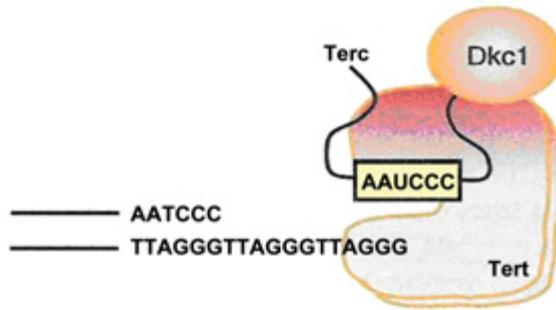


FIGURA 3. *Elongación de los telómeros por la telomerasa. La telomerasa consiste en dos moléculas de la subunidad Tert y dos moléculas de la subunidad Terc que contiene el molde AAUCCC y se asocia a una molécula de disquerina (Dkc1), proteína que estabiliza el complejo. La telomerasa reconoce el terminal 3' de la cadena telomérica rica en G y añade repeticiones teloméricas de novo (Blasco 2007, modificado).*

los telómeros. Esto puede favorecer el desarrollo del cáncer por activación del mantenimiento de los telómeros por mecanismos tales como telomerasa o ALT. Finalmente, un número de factores ambientales (tabaco, obesidad, estrés), acelera la tasa de acortamiento de los telómeros y puede ejercer impactos en la modificación de la cromatina en los telómeros y en la expresión de genes subtelo méricos.

## ALARGAMIENTO DE LOS TELÓMEROS

El principal mecanismo encargado de la elongación de los telómeros en mamíferos es la telomerasa. (Figura 3). La composición proteica de la telomerasa, identificada en 2007 por Scout y colaboradores, contiene dos subunidades, la retrotranscriptasa (TERT) y la molécula de RNA asociada (TERC), y también una molécula de disquerina (Dkc1), proteína que estabiliza el complejo telomerasa. La pérdida de DNA telomérico durante el envejecimiento es probable que sea el resultado de cantidades limitantes de actividad telomerasa en el organismo adulto, que no pueden compensar el progresivo acortamiento de los telómeros que ocurre durante la proliferación celular implicada en la regeneración tisular. Esta pérdida progresiva de telómeros contribuye al envejecimiento del organismo. Por otro lado, la gran mayoría de los tumores y líneas celulares inmortales poseen elevados niveles de telomerasa, la cual sostiene el crecimiento tumoral previniendo la pérdida de telómeros y evadiendo la senescencia y la apoptosis.

Algunas líneas celulares inmortales y tumores que carecen de actividad telomerasa son capaces de mantener o alargar sus telómeros mediante mecanismos que se conocen como alargamiento alternativo de los telómeros (ALT). ALT es un mecanismo no dependiente de la telomerasa, activado en una minoría sustancial de líneas celulares inmortales, para contrarrestar la erosión telomérica debida a los sucesivos ciclos de división celular.

En levadura y en mamíferos, se ha demostrado que ALT implica eventos de recombinación homóloga entre secuencias teloméricas (Figura 4). Las células ALT-positivas se caracterizan por telómeros heterogéneos, muy cortos o muy largos al mismo tiempo, y por la localización de los telómeros con cuerpos PML (cuerpos nucleares de la leucemia

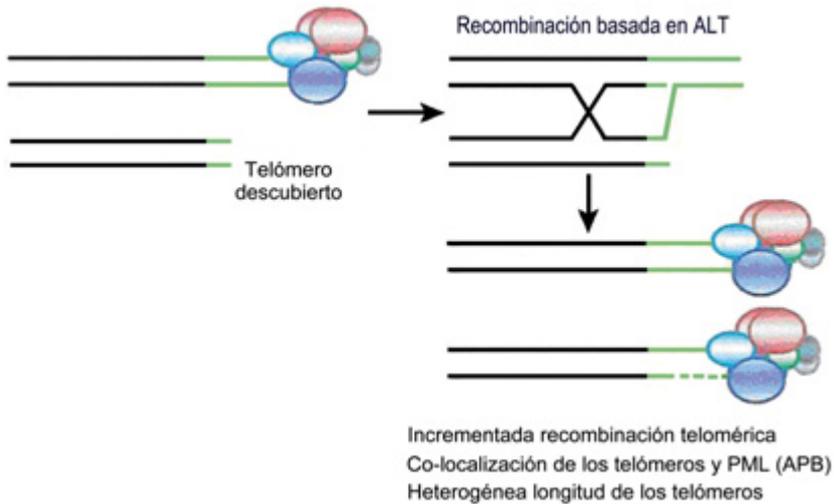


FIGURA 4. Las células deficientes en telomerasa pueden también mantener sus telómeros mediante recombinación homóloga entre los telómeros, un mecanismo conocido como alargamiento alternativo de los telómeros (ALT) (Blasco 2007, modificado).

promielocítica), denominados cuerpos asociados a ALT (APB). Los APB son agregados nucleares donde el DNA telomérico se localiza con la proteína PML y la presencia de telómeros altamente heterogéneos en longitud, que oscila entre muy cortos y hasta superar las 50 kb

La dinámica de la longitud telomérica de las células immortalizadas telomerasa negativas sugiere que este mecanismo se basa en la recombinación. Así, los telómeros sufren grandes fluctuaciones en su longitud durante los ciclos celulares, con rápidos acortamientos y rápidos alargamientos. Las células ALT son capaces de elongar sus telómeros usando como molde, para la nueva síntesis de DNA, secuencias teloméricas de otros cromosomas, proceso que puede ocurrir en cualquier lugar del telómero. Otras fuentes de DNA telomérico pueden utilizarse como moldes para la elongación de los telómeros. Los telómeros están organizados en una estructura de T-loop donde la cadena sencilla sobresaliente se dobla e invade el tracto de DNA telomérico de doble cadena y sintetiza la cadena complementaria. Otra fuente son las repeticiones teloméricas extracromosómicas, abundantes en las células ALT, organizadas en formas lineales, circulares y de T-loop y están parcialmente contenidas dentro de los APB. El DNA telomérico lineal asociado al APB, no es probable que sea la fuente principal del molde para la replicación, porque es muy corto y no serviría para los eventos rápidos de elongación de telómeros observados en células ALT. Recientes trabajos de Muntoni y colaboradores han demostrado que los telómeros pueden ser amplificados sin la intervención de otros telómeros, lo que indica que la elongación telomérica puede también realizarse por copia del DNA intra genómico. Esta es la primera evidencia directa que prueba que el mecanismo ALT implica más de un método de elongación telomérica.

El mantenimiento de los telómeros por mecanismos no telomerasa, entre los que se incluye la recombinación, ocurre en células primarias y se inicia por los telómeros cortos, incluso en presencia de telomerasa. Resultados también recientes de Morrish y Greider

indican además que existe algún mecanismo de mantenimiento de los telómeros que no produce incremento significativo en la longitud telomérica.

Los mecanismos ALT están también activados en ratones deficientes en *Terc*, en fibroblastos embrionarios y en células madre embrionarias, y durante la formación del centro germinal, lo que indica que los mecanismos ALT pueden seleccionarse también en ambientes no tumorales. Sin embargo, mientras que ALT puede rescatar la viabilidad de cepas de levadura deficientes en telomerasa, no puede rescatar la viabilidad de ratones deficientes en *Terc*, lo cual muestra que los mecanismos ALT no rescatan la supervivencia de organismos multicelulares. El hecho de que ALT esté restringido en ratones deficientes en *Terc*, como también en líneas celulares inmortales y en tumores, indica la existencia de mecanismos que reprimen activamente a ALT en células normales. Datos recientes indican que los componentes del complejo shelterina, Pot1 y TRF2, o proteínas WRN que interaccionan con TRF2, pueden influenciar la recombinación telomérica y son reguladores potenciales de ALT. De igual manera, la metilación del DNA subtelomérico y la metilación de las histonas de los telómeros, son represores potentes de la recombinación telomérica y de la activación de ALT.

## SENESCENCIA REPLICATIVA Y ACORTAMIENTO DE TELÓMEROS

El proceso del envejecimiento se relaciona con el acumulo progresivo de alteraciones en el DNA, debido a agentes que lesionan la propia molécula o a errores en su síntesis. Entre las diferentes alteraciones que conducen a la inestabilidad genética, el acortamiento de los telómeros representa uno de los cambios estructurales más importantes. Se ha detectado una disminución en la longitud de los telómeros en células de donantes de edad elevada y de cultivos celulares senescentes, lo que indica que la pérdida de telómeros es un importante marcador del envejecimiento

Hayflick y Moorhead, en los años sesenta del pasado siglo, observaron en cultivo de fibroblastos humanos normales una capacidad limitada de dividirse. Las células después de un número definido de divisiones dejaban de proliferar y entraban en un estado de *senescencia replicativa*. Este momento final de la vida proliferativa se denomina «límite Hayflick», y se fija entre 50 y 100 la capacidad de duplicación que una célula somática puede sufrir. La senescencia replicativa o senescencia celular en el límite Hayflick, se caracteriza por inestabilidad cromosómica y parada del ciclo celular, además de diversos cambios bioquímicos y morfológicos. Las células senescentes post-mitóticas, una vez que atraviesan el límite Hayflick, pueden permanecer activas, y mantener su viabilidad por períodos amplios de tiempo, siempre que se mantengan las condiciones apropiadas de cultivo. La senescencia replicativa se ha demostrado también *in vivo* en células de donantes de diferentes edades, y refleja la existencia de un *reloj mitótico* que actúa contabilizando el número de divisiones celulares.

La senescencia replicativa puede ser retrasada o eludida, permitiendo así a la célula entrar en la inmortalidad. Se ha propuesto un modelo de dos fases para controlar el ciclo celular. Al llegar al límite de Hayflick o M1, las células salen del estado proliferativo y entran en el estado senescente. En presencia de oncogenes víricos las células se transforman por represión de los genes supresores, escapan de la senescencia y adquieren una ampliación de su periodo replicativo en el que siguen perdiendo telómeros (Figura 5). Esa ampliación no es ilimitada y finaliza en el estado de crisis o estado M2, que se asocia con



capacidad para unirse al antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), e inhibir directamente al complejo de replicación del DNA y la actividad de las quinasas dependientes de ciclina. Además, la fosforilación de factores, como la proteína Rb, por las mencionadas quinasas, es uno de los requerimientos para la progresión del ciclo celular.

Se considera, por tanto, que la replicación incompleta de los extremos de los cromosomas, es la causa de la pérdida gradual del potencial proliferativo en la senescencia replicativa. La primera evidencia que asocia los telómeros con el envejecimiento celular fue obtenida en 1997 por Harley *et al.*, cuando analizando fibroblastos humanos en cultivo, observaron que la longitud media de los fragmentos terminales de restricción decrecía de una manera dependiente de la replicación. Esta disminución se relacionaba también con la senescencia *in vivo*, ya que, tanto en fibroblastos como en linfocitos de sangre periférica, la longitud de estos fragmentos en donantes viejos era más corta que en los donantes más jóvenes. Por el contrario, la longitud de los telómeros no decrecía en células inmortalizadas *in vitro*, en células tumorales o en células germinales, que expresaban la telomerasa. Tales resultados han llevado a proponer que durante las sucesivas rondas de replicación del DNA, la pérdida progresiva de las secuencias teloméricas ocurre en células normales somáticas hasta que un acortamiento crítico en la longitud de los telómeros llega a percibirse como lesión en el DNA y obliga a las células a salir del ciclo celular. Las células inmortales necesitan un mecanismo que estabilice los extremos de los cromosomas y para ello se necesita la expresión de la telomerasa.

Aunque la hipótesis del envejecimiento relacionada con la longitud de los telómeros es atractiva porque proporciona el mecanismo molecular que contabiliza el número de divisiones celulares en las células somáticas normales, estudios recientes han revelado una panorámica más compleja. Se han identificado líneas celulares inmortales telomerasa-negativas y también se ha detectado que el tratamiento de líneas humanas de linfocitos B y T inmortales con inhibidores de la transcriptasa inversa, reduce la actividad de la telomerasa con ningún efecto sobre el fenotipo inmortal. Por otro lado, algunas células somáticas normales poseen actividad telomerasa, aunque sus telómeros continúan acortándose con cada ronda de replicación. La actividad telomerasa en varias células somáticas híbridas no se relaciona con su capacidad para sufrir la senescencia o continuar proliferando, lo que demuestra que algunos híbridos senescentes continúan expresando telomerasa. Estos datos sugieren que la actividad telomerasa por sí misma, no mantiene la longitud de los telómeros, e indican la existencia de mecanismos alternativos que alargan los telómeros (ALT) estabilizadores de los extremos de los cromosomas, independientes de la telomerasa. Existen observaciones adicionales no reconciliadas con la hipótesis de los telómeros, debido a que se ha comprobado que dos células hijas pueden poseer potencial proliferativo muy diferente, hasta en 30 duplicaciones, y también se ha detectado, que con una serie de manipulaciones experimentales se puede incrementar significativamente el período vital de fibroblastos humanos

## ENVEJECIMIENTO Y CÁNCER

Hasta hace muy poco se ha considerado que cáncer y envejecimiento eran dos campos completamente separados, con una sola conexión y es que la incidencia del cáncer crece a medida que transcurre la edad. Sin embargo, esta idea está experimentando cambios y hoy se puede decir que envejecimiento y cáncer son dos caras de una misma moneda. En una reciente revisión de Serrano y Blasco se discuten los mecanismos convergentes y di-

vergentes que gobiernan el envejecimiento y el cáncer. El envejecimiento es un fenómeno complejo, regulado a nivel genético, en el que se encuentran implicados un gran número de procesos moleculares y fisiológicos. El cáncer es también un proceso complejo y, al igual que el envejecimiento, no es posible encontrar un mecanismo simple que explique todos los cambios bioquímicos que ocurren durante su desarrollo. El mayor logro ha sido la hipótesis unificada del origen genético de la mayoría de cánceres, ya que hoy no se duda que la mayoría de ellos surge por mutaciones en múltiples genes que afectan al crecimiento normal de una célula. Envejecimiento y el cáncer están desencadenados por acumulo de daño celular, de manera que aquellos mecanismos que protegen a la célula de sufrir ese daño, proporcionan protección contra el cáncer y contra el envejecimiento. A la vez, cáncer y longevidad, requieren un potencial proliferativo celular. Sin embargo, aquellos mecanismos que limitan la proliferación proporcionan protección frente al cáncer, pero favorecen el envejecimiento.

Al enfrentar los conceptos senescencia y cáncer surge la siguiente pregunta: ¿Puede la senescencia celular proteger contra el cáncer? El cáncer es una enfermedad cuya principal característica es la proliferación celular incontrolada y cualquier mecanismo que pueda frenar este proceso puede, potencialmente, interrumpir su progresión. La inducción natural de la senescencia, mediada por el acortamiento de los telómeros, puede ser un mecanismo ideado a lo largo de la evolución para prevenir el cáncer en especies de larga vida. Sin embargo, el cáncer surge por evasión de los controles senescentes mediante el acumulo de mutaciones que afectan a los genes supresores, que son la clave del control del crecimiento.

Existe un consenso general que el acumulo de lesión celular es el evento inicial del envejecimiento y el cáncer. El cáncer se desarrolla cuando se acumulan daños genéticos y epigenéticos. De igual manera, el envejecimiento ocurre debido al acumulo de lesiones en las macromoléculas, lo cual conduce a una alteración en la regeneración tisular. Así que, aquellos mecanismos que protegen las células de sufrir lesión protegen del cáncer y del envejecimiento. Otros mecanismos tienen efectos opuestos sobre cáncer y envejecimiento, protegiendo del cáncer, pero promoviendo el envejecimiento. Entre éstos están el acortamiento telomérico y la desrepresión del *locus* INK4a/ARF, cuyo propósito es prevenir la excesiva proliferación celular, lo cual produce efectos contrarios en cáncer y en envejecimiento. Mientras la protección frente al cáncer produce un efecto beneficioso para el organismo, la longevidad y la regeneración resultan limitadas. Estos mecanismos divergentes están diseñados para prevenir del cáncer no para promover el envejecimiento.

La formación de un tumor requiere múltiples cambios genéticos independientes, seguidos de la expansión clonal. Si se considera que la frecuencia de mutaciones espontáneas es aproximadamente de una entre un millón, se necesita al menos un millón de células para que ocurra, con probabilidad razonable, una mutación. Estas mutaciones han de acumularse en la misma célula y por tanto han de tener lugar una serie de expansiones clonales. Como se requiere que la célula se duplique 20 veces para generar un millón de células, cada mutación deberá ir acompañada por 20 divisiones. Asumiendo que sean necesarias 5 mutaciones en una misma célula para que surja el cáncer, dicha célula ha de dividirse 100 veces para llegar a la malignidad. La pérdida de células por apoptosis o la inhibición de la proliferación por senescencia ponen límite, en gran manera, al número de células en el tumor. Teniendo en cuenta que la mayoría de las células humanas solo se divide 50 - 70 veces, la senescencia celular actuará a modo de freno efectivo sobre la proliferación de células que han acumulado algunas mutaciones (Figura 6).

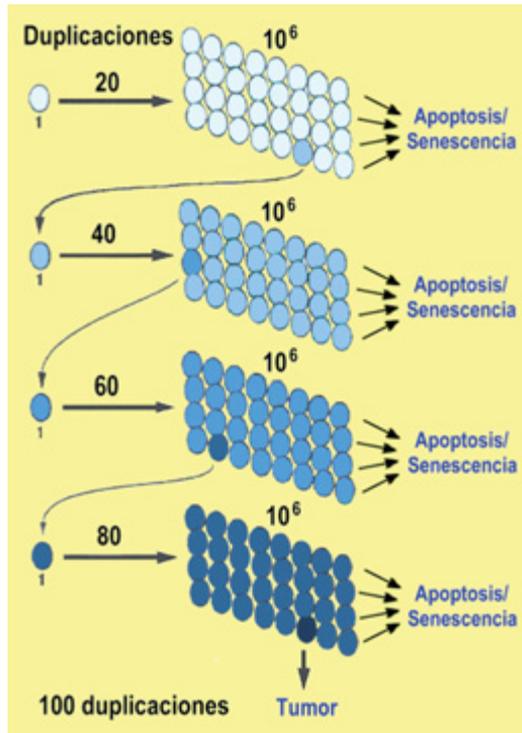


FIGURA 6. La formación de un tumor requiere muchos cambios genéticos independientes y expansión clonal. (Cascales 1999)

Se ha propuesto que la senescencia celular se controla por una familia de genes que se activan al final de la vida proliferativa y conducen al estado senescente. La inmortalidad sólo ocurre cuando los genes senescentes acumulan defectos y pierden su operatividad, lo cual permitirá a la célula escapar del programa de la senescencia. La telomerasa se re-expresa en la mayoría de los tumores y líneas celulares inmortalizadas, mientras que la mayoría de células normales somáticas no posee actividad porque existe un mecanismo genético represor de la actividad telomerasa. Las células tumorales y las inmortales han perdido o inactivado el gen represor putativo.

La repercusión fisiológica de la senescencia celular es muy interesante ya que supone un mecanismo supresor de tumores al prevenir a la célula de la adquisición de mutaciones múltiples que la llevarían a la transformación maligna. Muchos tumores poseen células con un potencial indefinido de división de modo que el proceso tumorigénico selecciona a aquellas células que pueden total o parcialmente evadir la senescencia. Ciertos oncogenes (celulares o víricos) actúan ampliando el período de vida proliferativo. Por ello las mutaciones oncogénicas y las estrategias de los virus oncogénicos acarrear la activación de mecanismos que pueden evadir el estado senescente. Entre los genes necesarios para establecer y mantener la senescencia están los genes supresores *p53* y los del *locus INK/ARF*, que son los que se pierden más fácilmente o están reprimidos en la mayoría de tumores humanos. La supresión tumoral es el valor adaptable de la senescencia ya que, cualquier proceso limitante del crecimiento puede suprimir la tumorigénesis.

La senescencia celular o replicativa es una parada irreversible de la proliferación unida a una alteración en la función celular, que se encuentra controlada por múltiples genes y no depende del tiempo sino del número de divisiones celulares. Las células al volverse senescentes adquieren tres características:

- (1) frenan su crecimiento cuando se encuentran en la fase G1 del ciclo celular por pérdida de la capacidad de entrar en la fase S (síntesis del DNA) en respuesta a mitógenos, y poseen un contenido diploide de DNA. Permanecen metabólicamente activas y aunque muchos genes se mantienen todavía inducibles, existen represiones en genes reguladores clave del crecimiento o superexpresiones en genes tales como los que inhiben las quinasas dependientes de ciclina;
- (2) las células senescentes por su estado no proliferativo irreversible, se asemejan a las células diferenciadas terminales y
- (3) las células senescentes adquieren resistencia a la apoptosis y son bastante estables.

La conexión entre la senescencia replicativa, la immortalización y el acortamiento de telómeros se encuentra en la actualidad sometida a una intensa investigación. No está claro el mecanismo que utiliza la célula para frenar la proliferación, una vez que la longitud de los telómeros ha alcanzado el estado M1 o límite Hayfick, como tampoco lo está cuando se activa la telomerasa en el momento crítico del estado M2, para que las células inmortales mantengan su longitud telomérica. La posibilidad de que la manipulación de la longitud de los telómeros pudiera alterar la entrada en el estado senescente y afectar las enfermedades degenerativas del envejecimiento, presenta un escenario atractivo en el que se necesita encontrar explicación al papel todavía misterioso de este fascinante elemento de los cromosomas.

## **TELOMERASA EN CÉLULAS MADRE ADULTAS**

Las células madre adultas o somáticas son la fuente regeneradora de los distintos tejidos del organismo. Se ponen en acción cuando se produce un daño tisular y emigran desde sus nichos hasta el lugar que tienen que reparar o restaurar. Sin embargo, si se multiplican en exceso, o demasiado poco, pueden ser origen de cáncer o de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, respectivamente (Figura 7).

Uno de los eventos intrínsecos más conocidos de la célula, propuesto por Harley *et al.*, en 1990, que mejor describe el mecanismo implicado en el envejecimiento celular, es el acortamiento de los telómeros en cada ronda de división celular. El ritmo al cual los telómeros se acortan con la edad es muy variable y puede ser influenciado por factores que se aceleran por varias enfermedades humanas típicas de la vejez, tales como la enfermedad cardiovascular y la infección entre otras. Existe una correlación entre la longitud de los telómeros y el riesgo de muerte por enfermedad cardíaca. También la longitud de los telómeros es un marcador predictivo de demencia o alteraciones cognitivas.

Recientemente, se ha descubierto que el comportamiento de las células madre está determinado por sus telómeros y la cantidad de telomerasa que contienen. Los telómeros y la telomerasa son determinantes importantes de la mortalidad e inmortalidad celular y uno de los mecanismos mejor conocidos que controlan el cáncer y el envejecimiento. Man-

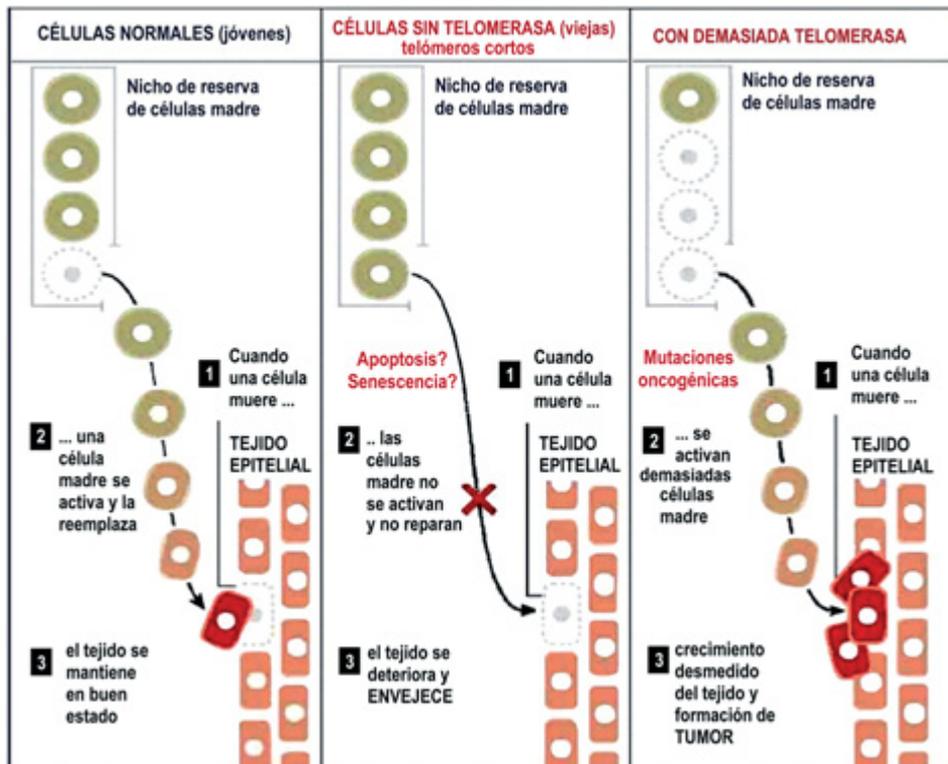


FIGURA 7. Papel de la telomerasa en el funcionamiento de las células madre, que conduce al envejecimiento o al cáncer. El acortamiento de los telómeros, en células sin telomerasa, conduce a menor capacidad de las células madre a abandonar el nicho y regenerar los tejidos con lo cual el tejido se deteriora y envejece. Los mecanismos que intervienen en esta menor movilización es probable que se deban a la senescencia y apoptosis en respuesta a los telómeros cortos. Por el contrario, la sobreexpresión de telomerasa conduce a la aberrante movilización de las células madre fuera del nicho, la cual, en combinación con mutaciones oncogénicas, puede contribuir a la formación de tumor. (Blasco 2008, con modificaciones).

tener los extremos de los cromosomas en buen estado permite que las células madre funcionen eficazmente. Las células madre epiteliales cuando tienen telómeros muy cortos no abandonan sus nichos ni regeneran la piel y el pelo de manera adecuada, lo cual provoca el envejecimiento prematuro de la piel. Por el contrario, cuando la proteína encargada de alargar los telómeros, la telomerasa, se encuentra en exceso, lo que ocurre en más del 90% de los tumores, las células madre epiteliales abandonan en exceso sus nichos para regenerar los tejidos, con lo que la piel y el pelo crecen más de lo que es normal, provocando mayor susceptibilidad de formar tumores epiteliales (Figura 5). Estos descubrimientos indican que la longitud telomérica y la cantidad de telomerasa determinan el comportamiento de las células madre.

Los defectos en la longitud de los telómeros de las células madre preceden en el tiempo a la aparición de los primeros síntomas visibles de envejecimiento prematuro o cáncer. Por tanto, la medida de la longitud telomérica o de actividad de la telomerasa en células madre puede considerarse uno de los parámetros utilizables en el pronóstico. Las terapias

que permitiesen controlar estas variables en las células madre podrían ser beneficiosas en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el envejecimiento y el cáncer. Desvelar los parámetros que determinan estos defectos es esencial para el establecimiento de posibles terapias celulares sin causar efectos secundarios indeseables. Tales defectos son: el acumulo de errores en la maquinaria de replicación, cambios en la fluidez de la membrana, daños por la acción de las especies reactivas de oxígeno (ROS), aumento de los productos de glicosilación avanzada, resistencia a la insulina, reducción de la longitud de los telómeros, autoinmunidad y apoptosis.

Las células madre expresan la telomerasa en contraste con la mayoría de las células somáticas. Sin embargo, en las células madre hemayopoyéticas (HSC), la actividad telomerasa es baja, aunque suficiente para mantener los telómeros durante el envejecimiento limitando su vida proliferativa. Por otro lado, en un modelo de trasplante seriado en ratón con sobreexpresión de telomerasa, las HSC de animales transgénicos y no transgénicos no pudieron ser trasplantados más de cuatro veces, lo que indica que otros mecanismos, que no son la telomerasa, limitan también la función de las células madre. Además, la disfunción de los telómeros altera también el nicho de las células madre. Utilizando ratones knockout en telomerasa (*Terc*<sup>-/-</sup>), se ha demostrado que la carencia de telomerasa induce alteraciones en el microambiente de la médula ósea por disminuir el compartimento de las células del estroma y reducir la capacidad de las células de la medula ósea en su actividad de soporte de la hematopoyesis. La actividad de soporte hematopoyético depende de la edad y se relaciona con el progresivo acortamiento de telómeros en estas células estromales. Además, la disfunción de los telómeros altera la expresión de varias citoquinas en plasma de los ratones viejos *Terc*<sup>-/-</sup> antes citados. Estos datos proporcionan evidencia clara, que el acortamiento de los telómeros no es el único mecanismo intrínseco implicado en el envejecimiento celular de las HSC, aunque la pérdida de telómeros induce alteraciones asociadas a la edad en el ambiente de las células madre que puede alterar la función y el enraizamiento de las HSC en casos de trasplante.

En los últimos años se ha empezado a estudiar, el papel específico de la telomerasa en diferentes compartimentos de células madre en subtipos bien caracterizados, tales como las células madre hematopoyéticas (HSC), las células madre epidérmicas (ESC) y células madre neurales (NSC). Las HSC derivadas de humanos y de ratón pierden el DNA telomérico con la edad, a pesar de poseer actividad telomerasa detectable. Este progresivo acortamiento telomérico actúa como una barrera del desarrollo para las HSC, las cuales pueden limitar la regeneración hematopoyética. En apoyo de esta idea, las HSC obtenidas a partir de ratones deficientes en *Terc* con telómeros cortos, muestran una capacidad reducida para repoblar ratones irradiados.

## RECIENTES APORTES AL REJUVENECIMIENTO

La relación entre telómeros y envejecimiento se conoce desde 1990 a raíz de las investigaciones de Harley y Carol Greider, pues la ausencia de la telomerasa es causa de una parte importante de los efectos adversos del envejecimiento. Por otro lado, estudios previos habían observado que elevando la cantidad de esta enzima se corría mayor riesgo de cáncer.

El aumento combinado de la telomerasa y de ciertos supresores tumorales ha dado como resultado un ratón transgénico que es más resistente al cáncer y envejece mucho más tarde. María Blasco y sus colaboradores han desarrollado un *superratón* en el que se

han conseguido dos cualidades: aumentar la longevidad y potenciar la resistencia al cáncer. La fórmula de este complejo hallazgo se ha basado en elevar la telomerasa en ratones resistentes al cáncer. Estos científicos han creado, por un lado, un ratón resistente al cáncer y, por otro, un ratón con mayor cantidad de *Tert*, gen que codifica la subunidad catalítica de la telomerasa. En este ratón se conjuga el aumento de la longevidad y la resistencia al cáncer, en base a incrementar la expresión de *Tert*, en combinación con el aumento en la expresión de los supresores tumorales p53, p16INK y p19ARF.

El resultado del cruce de ratones modificados genéticamente ha dado lugar al *superratón de laboratorio* antes citado, que envejece más tarde, es más longevo y es resistente al cáncer. Este superratón presenta una buena coordinación neuromuscular a edades avanzadas, además de una mayor y mejor tolerancia a la glucosa, lo que supone menor riesgo de diabetes. Además, los tejidos de la piel y del tracto digestivo se mantienen como en ratones jóvenes durante más tiempo. Es la primera vez que se consigue desvelar que la telomerasa puede frenar el envejecimiento. Estos autores han encontrado que el envejecimiento es un proceso ajustado de manera estricta a lo largo de la evolución, a nivel genético, que para modularlo de manera efectiva en un mamífero no basta con manipular un solo gen, sino que hay que hacer combinaciones de genes. El nuevo paso dado por este equipo de los investigadores, ayuda a desvelar los genes que son importantes para determinar y ajustar la esperanza de vida de las especies sin aumentar con ello el riesgo de cáncer.

Sobre las futuras *implicaciones clínicas*, Blasco matiza que, aunque no podemos conseguir humanos transgénicos, la función de los genes se puede mimetizar con fármacos. Ya hay algunos que aumentan la cantidad de p53 y también de telomerasa. Actualmente están en fase clínica para el cáncer (*p53*) y para enfermedades de envejecimiento precoz debido a acortamiento prematuro de los telómeros (*Tert*).

El organismo de este superratón, diseñado con más cantidad de TERT/p53 y p16INK/p19ARF, muestra un retraso en el envejecimiento y un alargamiento de la vida. De hecho, este ratón a edad avanzada se comporta como los ratones jóvenes y tiende a vivir un 40% más que los normales, lo que trasladado a los humanos equivaldría a superar los 120 años. Ante la duda razonable de si existe algún riesgo real del incremento de los telómeros en el ser humano, se puede concluir que el aumento de los telómeros en humanos no sería un riesgo, sino un beneficio, siempre que fuera acompañado de un aumento de los genes supresores, para evitar el riesgo del cáncer.

## **PATOLOGÍAS RELACIONADAS CON EL ACORTAMIENTO DE TELÓMEROS**

La velocidad a la que se acortan los telómeros puede estar influenciada por factores que aceleran el envejecimiento y que son riesgo de muerte prematura, tales como estrés, tabaco y obesidad. El acortamiento de los telómeros se acelera también en varias enfermedades asociadas con el envejecimiento: enfermedad cardiovascular e infecciones entre otras. También, la longitud de los telómeros parece ser predictiva de demencia y de alteraciones cognitivas.

Algunos síndromes humanos se caracterizan por mutaciones en los genes de la telomerasa, los cuales dan lugar a ritmos acelerados de acortamiento telomérico con la edad. Entre estos se incluyen algunos casos de disqueratosis congénita, anemia aplásica y fibrosis idio-

pática pulmonar. Los pacientes con *disqueratosis congénita* acarrean mutaciones en componentes del complejo telomerasa que dan lugar a una disminución de la estabilidad de la telomerasa y a telómeros más cortos. Estas mutaciones afectan a uno u otro de los genes *Tert* y *Terc*, en pacientes con la variante de disqueratosis congénita dominante autonómica, o al gen *Dkc1* que codifica una proteína que interacciona con la telomerasa implicada en la estabilidad de *Terc* y en el procesamiento de RNA pequeño nucleolar, en pacientes con la forma de enfermedad asociada a X. Los pacientes con disqueratosis congénita desarrollan muchas de las patologías demostradas en el modelo experimental de ratón con deficiencia en *Terc*, tales como corta estatura, hipogonadismo e infertilidad, defectos en la piel y del sistema hematopoyético, fallos en la médula ósea y muerte prematura. Además, al igual que los ratones deficientes en *Terc*, los pacientes con disqueratosis congénita muestran también una elevada inestabilidad cromosómica a medida que envejecen, lo cual está de acuerdo con una pérdida telomérica más rápida. Finalmente, estos enfermos y los ratones deficientes en *Terc* muestran afectada la progenia lo que hace pensar que los telómeros cortos contribuyen al padecimiento de la enfermedad. Una diferencia importante existe entre los pacientes de esta enfermedad y los ratones deficientes en *Terc* y es que los enfermos muestran elevada incidencia en cáncer espontáneo, mientras que esto no ocurre a los ratones deficientes en *Terc*, excepto en aquellos con deficiencia en *p53* y sobreexpresión de TRF2. Una razón que puede explicar esta diferencia es que, en contraste con los ratones deficientes en *Terc*, los pacientes con esta patología, retienen todavía genes de la telomerasa, que pueden ser activados durante la tumorigénesis.

Un número de pacientes diagnosticados con *anemia aplásica* muestran también mutaciones en los genes de la telomerasa *Tert* y *Terc*, lo que ocasiona un acortamiento acelerado de los telómeros y muerte prematura. Recientemente se han encontrado mutaciones en los componentes de la telomerasa en algunos casos de *fibrosis idiopática pulmonar*, que es una enfermedad letal de aparición en adultos caracterizada por fibrosis pulmonar y fallo respiratorio, cuya patología se debe a deficiencias en la regeneración celular asociada al acortamiento de los telómeros.

Además de las enfermedades citadas en el párrafo anterior, que coinciden en actividad telomerasa defectuosa y telómeros cortos, se han caracterizado otras enfermedades de síndromes asociados al envejecimiento, producidas por mutaciones en las proteínas de reparación del DNA, tales como, el síndrome de rotura Nijmegen (Nbs1), la enfermedad similar a la ataxia telangiectasia (Mre11), el síndrome de Werner (WRN), el síndrome de Bloom (BLM), la ataxia telangiectasia (ATM) y la anemia de Fanconi (proteínas codificadas por genes *FANC*), muchas de las cuales interaccionan con la proteína de unión a los telómeros TRF2. Los síndromes de Werner, Bloom y ATM, han sido reproducidos en ratón solo en combinación con deficiencia en telomerasa y telómeros cortos, en el contexto de modelo de ratón deficiente en *Terc*.

## CONCLUSIONES

El acortamiento de los telómeros es un hecho que ocurre en tanto en cuanto el organismo envejece y se acelera en enfermedades humanas asociadas con mutaciones en la telomerasa (disqueratosis congénita, fibrosis idiopática pulmonar y anemia aplásica). Los individuos con estas enfermedades y los ratones deficientes en *Terc*, muestran una menor expectativa de vida que coincide con una pérdida prematura de renovación de tejidos, lo que indica que la telomerasa es un factor limitante de la homeostasis tisular y la supervivencia del organismo. Estos hallazgos presentan especial relevancia ya que sugieren que la actividad telo-

merasa y la longitud de los telómeros pueden afectar directamente la capacidad de las células madre para renovación y regeneración de los tejidos. De ser esto cierto, la disfunción de las células madre provocada por el acortamiento de telómeros ha de ser uno de los mecanismos responsables del envejecimiento del organismo tanto en ratones como en humanos.

El hecho de que sea necesario un largo período de espera antes de que pueda observarse un freno en la proliferación celular, hace pensar que los inhibidores de la telomerasa no son convenientes como primer tratamiento para el cáncer. Parece razonable pensar que los inhibidores de la telomerasa han de ser administrados, como agentes quimiopreventivos o después de la eliminación de la masa tumoral por cirugía o por quimioterapia. Existe también el peligro que los inhibidores de la telomerasa, originen efectos colaterales no deseables en células normales proliferativas, tales como las células germinales y las células somáticas progenitoras.

La discusión de las aplicaciones de los inhibidores de la telomerasa como terapia del cáncer, ha sido casi completamente confinada a su uso en la quimioprevención y quimioterapia. En teoría, los inhibidores de la telomerasa presentan la posibilidad de un uso amplio. Las repeticiones teloméricas se han caracterizado en diversos organismos parásitos y la actividad telomerasa se ha detectado en el *Plasmodium falciparum*. Estas observaciones sugieren que puede ser posible obtener ventajas de las diferencias entre parásito y hospedador o enzimas fúngicas para diseñar selectivamente fármacos tóxicos. A pesar de las posibles aplicaciones de los inhibidores de la telomerasa en la terapia del cáncer, estos inhibidores en otros organismos no afectarían la telomerasa en células progenitoras del hospedador reduciéndose así el riesgo de efectos colaterales indeseables. Nuestro conocimiento de la biología básica del mantenimiento de la longitud telomérica sugiere que el descubrimiento de nuevos fármacos anti-telomerasa representaría una nueva clase de agentes terapéuticos actuando sobre un mecanismo diferente.

## ABREVIATURAS

ALT, alargamiento alternativo de los telómeros; H3 y H4, histonas; H3K9, histona 3 trimetilada en la lisina 9; H4K20, histona 4 trimetilada en la lisina 20; HP1, proteína de la heterocromatina; Ku80, proteína componente de NHEJ; MRE11, recombinación meiótica; TPE, efecto de la posición del telómero; p53, proteína supresora de tumores; PCNA, antígeno nuclear de proliferación celular; Pot/TTP heterodímero protector de los telómeros; Rb, proteína del retinoblastoma supresora de tumores; SUV3-9H1 y SUV3-9H2, enzimas que trimetilan a H3 en la lisina 9; SUV4-20H1 y SUV4-20H2, enzimas que trimetilan la H4 en la lisina 20; TEBP, proteína de enlace al extremo sobresaliente 3' del DNA telomérico; TEP, proteína asociada al telómero; TRF1 y TRF2, factores de enlace a las repeticiones teloméricas; Terc, segmento de RNA componente de la telomerasa; Tert, subunidad catalítica de la telomerasa; TTAGGG, repetición seis de nucleótidos, timina, adenina y guanina (rica en guanina), que forman los telómeros; TRF, fragmentos de restricción terminal.

## AGRADECIMIENTOS

Mi profunda gratitud a la inestimable ayuda prestada por Doña **Adoración Urrea Salazar**, en la preparación y corrección del manuscrito, en la búsqueda de bibliografía y en la realización del ajuste electrónico de las figuras, etc.

## BIBLIOGRAFÍA

- Autexier C y Greider CW (1996) Telomerase and cancer: revisiting the telomere hypothesis. *Trends Biol Sci* **21**, 387-391.
- Banks DA y Fossel M (1997) Telomeres, cancer and aging. *J Am Med Assoc* **278**, 1345-1348.
- Benito M (2003) Senescencia replicativa y telomerasa. En: Bioquímica y fisiopatología del envejecimiento (eds Cascales M, Cabezas JA y García Barreno P) RANF /Instituto de España. Madrid, pp 91-101.
- Blackburn EH (1992) Telomeres. *Ann Rev Biochem* **61**, 113-129.
- Blasco MA (2005) Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nature Rev Genet* **6**, 611-622.
- Blasco MA (2007) The epigenetic regulation of mammalian telomeres. *Nature Rev Genet* **8**, 299-309.
- Blasco MA (2008) Telomere length, stem cells and aging. *Nat Chem Biol* **3**, 640-64936.
- Bodnar AG, Oullette M, Frolkis M, *et al.*, (1998) Extension of life span by introduction of telomerase into normal cells. *Science* **279**: 349-352.
- Boticario C y Cascales M (2009) Telómeros, envejecimiento y cáncer. En: Por qué tenemos que envejecer? y enfermedades relacionadas, pp 115-145. UNED. Plasencia.
- Bryan TM y Cech TR. (1999) Telomerase and the maintenance of chromosome ends. *Cur Opin Cell Biol* **11**, 318.324.
- Cascales M (1999) Telómeros, Telomerasa, Senescencia y Cáncer. *Anal Real Acad Doctores* **3**, 83-101.
- Cascales M (1999) Senescencia replicativa. Telómeros, telomerasa y cáncer. En: *Estrés Oxidativo, Envejecimiento y Enfermedad*. pp 235-266, Instituto de España. Madrid. ISBN84-85559-54-1.
- Chiu C-P y Harley CB (1997) Replicative senescence and cell immortality: The role of telomeres and telomerase. *PSEBM* **214**, 99-106.
- Cohen S, Graham M, Lovrecz G, Bache N, Robinson P, Reddel R (2007). Protein composition of catalytically active human telomerase from immortal cells». *Science* **315**, 1850-1853.
- Flores I, Cayuela ML y Blasco MA (2006) Telomerase regulation and stem cell behaviour. *Curr Opin Cell Biol* **18**, 254-260.
- Geserick C y Blasco MA (2006) Novel roles for telomerase in ageing. *Mech Ageing Dev* **127**, 579-583.
- Goldstein S (1990) Replicative senescence: the human fibroblast comes of age. *Science* **249**, 1129-1133.
- Gonzalo S, Jaco I, Esteller M y Blasco MA (2006) DNA methyltransferases control telomere length and telomere recombination in mammalian cells *Nature Cell Biology* **8**, 416 - 424.
- Gonzalo S, García-Cao M... Blasco MA (2005) Role of RB1 family in stabilizing histone metylation at constitutive heterochromatin. *Nat Cell Biol* **7**, 420-428.
- Greider CW (1996) Telomere length regulation. *Annu Rev Biochem* **65**, 337-365.
- Greider CW (1999) Telomeres do D-loop-T-loop. *Cell* **97**, 419-422.
- Greider CW y Blackburn EH (1985) Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell* **43**, 405-413.
- Harley CB. (1997) Human ageing and telomeres. *Ciba Found Symp* **211**, 129-139.
- Hamilton SE y Corey DR (1996) Telomerase: Anti-cancer target or just a fascinating enzyme? *Chemistry & Biology* **3**, 863.867.

- Hayflick L (1965) The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* **37**, 614-636.
- Hayflick L y Moorhead PS (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* **25**, 585-621.
- Ishikawa F (1997) Telomere crisis, the driving force in cancer cell evolution. *Biochem Biophys Res Commun* **230**, 1-6.
- McClintock B (1941) The stability of broken ends of chromosomes in *Zea Mays*. *Genetics* **41**, 234-282.
- Morin GB (1989) The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesises TTAGGG repeats. *Cell* **59**, 521-529.
- Morrish TA, Greider CW (2009) Short Telomeres Initiate Telomere Recombination in primary and tumor cells *Plos genetics* **5**, e100357.
- Muller HJ (1938) The remarking of chromosomes. The collecting Net. *Woods Hole* **13**, 181-198.
- Muntoni A, Neumann AA, Hills M y Reddel RR (2009) Telomere elongation involves intra-molecular DNA replication in cells utilizing alternative lengthening of telomeres. *Human Molecular Genetics* **18**, 1017-1027.
- Pitts AE y Corey DR (1998) Inhibition of human telomerase by 2'-O-methyl-RNA. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 11549-11554.
- Pitts AE y Corey DR (1999) The telomerase challenge - an unusual problem in drug discovery. *Drug Discovery Today* **4**, 155-161.
- Santos-Ruiz A y Cascales M (2000) Implicaciones fisiopatológicas de la Telomerasa. *Anales Real Acad Nnal Medicina*. **117**, 427-445.
- Serrano M y Blasco MA (2007) Cancer and ageing: convergent and divergent mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* **8**, 715-722.
- Shay JW (1995) Aging and cancer: are telomeres and telomerase the connection? *Molecular Medicine Today* **1**, 378-384.
- Smith S, Giriati I, Schmitt A y de Lange T (1998) Tankyrase, a poly (ADP-ribose) polymerase at human telomeres. *Science* **282**, 1484-1490.
- Wright WE y Shay JW (1995) Time, telomeres and tumors: is cellular senescence more than an anticancer mechanism? *Trends Cell Biol* **5**, 293-297.