

# **LA ENZIMA TELOMERERASA COMO DIANA TERAPÉUTICA**



**Jorge Membrive Moyano**  
**Facultad de Farmacia**  
**Universidad de Sevilla**

**FACULTAD DE FARMACIA  
TRABAJO FIN DE GRADO  
GRADO EN FARMACIA**



***LA ENZIMA TELOMERASA  
COMO DIANA TERAPÉUTICA***

JORGE MEMBRIVE MOYANO

Curso 2016 - 2017

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Tutora: Angélica Castaño Navarro

Revisión bibliográfica

## **RESUMEN**

Los telómeros son regiones de ADN no codificantes que se encuentran en los extremos de los cromosomas de eucariotas y que mantienen la estabilidad estructural de los mismos. Existe una asociación entre el acortamiento telomérico y el envejecimiento. Además, cuando los telómeros quedan reducidos hasta un tamaño crítico van a tener dificultad para separarse durante el ciclo celular, por lo que se generan asociaciones teloméricas (TAS) e inestabilidad cromosómica. Como consecuencia, aumenta la probabilidad de producirse errores que generen cambios genéticos importantes en el desarrollo neoplásico. La telomerasa es una ribonucleoproteína capaz de sintetizar las secuencias repetitivas de los telómeros, por lo que produce la estabilización de los mismos. En los últimos años se ha observado la existencia de una correlación entre la disminución de la actividad telomerasa y el envejecimiento, así como el aumento de los niveles de telomerasa en diferentes neoplasias. Todo ello, hace que la telomerasa sea una interesante diana terapéutica en el envejecimiento y patologías asociadas al mismo, así como en la terapia anticancerígena, en la cual aporta la ventaja de una mayor selectividad y menores efectos secundarios que las terapias actuales. Si bien hasta el momento la mayoría de los avances son experimentales, ya hoy estas terapias son una realidad y son diversos los fármacos desarrollados, algunos ya en uso clínico.

PALABRAS CLAVE: telómeros, telomerasa, longitud telomérica, envejecimiento, cáncer.

## **ABSTRACT**

Telomeres are non-coding DNA regions located at the end of the eukaryotic chromosomes and maintain their structural stability. There is an association between telomeric shortening and aging. In addition, when telomeres are reduced to critical size, they will have difficulty separating during the cell cycle, resulting in telomeric associations (TAS) and chromosomal instability. As a consequence, the probability of producing errors that generate important genetic changes in neoplastic development increases. Telomerase is a ribonucleoprotein capable of synthesizing the repetitive sequences of telomeres, thus producing stabilization thereof. In recent years, there has been a correlation between decreased telomerase activity and aging, as well as increased levels of telomerase in different neoplasms. All this, makes telomerase an interesting therapeutic target in the aging and associated pathologies, as well as in anticancer therapy, in which it brings the advantage of a greater selectivity and smaller side effects than the current therapies. Although most of the advances so far are experimental, nowadays these therapies are already reality and various drugs have been developed, some already in clinical use.

KEYWORDS: telomere, telomerase, telomeric length, ageing, cancer.

# ÍNDICE

	Pág.
1. Introducción.....	4
1.1 Información genética .....	4
1.1.1 Genes y genomas .....	5
1.1.1.1 Genomas eucariotas.....	6
1.1.1.2 Estructura de cromosomas eucariotas.....	8
1.2 Replicación del ADN.....	10
1.3 Importancia de telómeros en replicación del ADN .....	16
1.4 Complejo proteico asociado al telómero: shelterina, complejo protector o telosoma .....	17
1.5 Enzima telomerasa.....	18
2. Objetivos.....	21
3. Metodología .....	21
4. Resultados.....	21
4.1 Telómeros y telomerasa en el envejecimiento.....	21
4.2 Telómeros y telomerasa en el cáncer.....	24
4.3 Telomerasa como diana terapéutica .....	27
4.3.1 Telomerasa como diana en medicina regenerativa.....	27
4.3.2 Telomerasa como diana en el tratamiento del cáncer.....	30
5. Conclusiones.....	33
6. Bibliografía.....	34

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 INFORMACIÓN GENÉTICA

Los ácidos nucleicos (ADN y ARN) son las moléculas encargadas del almacenamiento, transmisión y expresión de la información genética. ADN y ARN son polímeros de gran tamaño formado por unidades básicas que son los nucleótidos, los cuáles a su vez se componen de tres elementos:

1. Azúcar: ribosa (ARN) o desoxirribosa (ADN).
2. Base nitrogenada: Adenina, Guanina, Citosina, Timina (ADN) y Uracilo (ARN).
3. Grupo fosfato

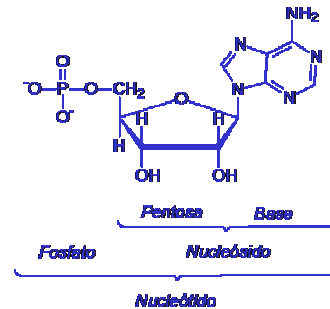


Figura 1. Composición de los nucleótidos.

En 1953, James Watson y Francis Crick propusieron el modelo definitivo de una estructura de doble hélice antiparalela para la molécula de ADN (Watson y Crick, 1953).

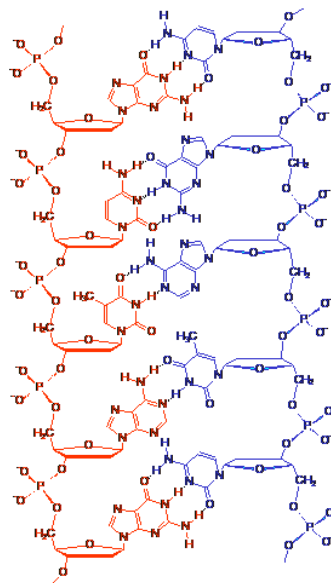


Figura 2. Modelo de doble hélice del ADN representado con grupos fosfato.

**Molécula de ARN:** el ARN no va a formar una doble hélice, sino que es una cadena simple de nucleótidos. Está formado por ribonucleótidos, cuya pentosa es una ribosa (en vez de la desoxirribosa del ADN).

En el ARN no hay base nitrogenada Timina (T), sino que en su lugar se emplea el Uracilo (U), que se complementa con la Adenina en los procesos de transcripción y traducción.

Hay que tener en cuenta que no existe una estructura secundaria regular y simple para todas las moléculas de ARN. Además, desde un punto de vista funcional existe una variada gama de moléculas de ARN, siendo los más abundante y comunes a todo tipo de células: ARNt, ARNr y ARNm.

Con respecto a las células eucariotas, encontramos otras moléculas de ARN que van desde ARN interferentes hasta ribozimas (enzimas que tienen un componente de ARN, como es el caso de la enzima telomerasa).

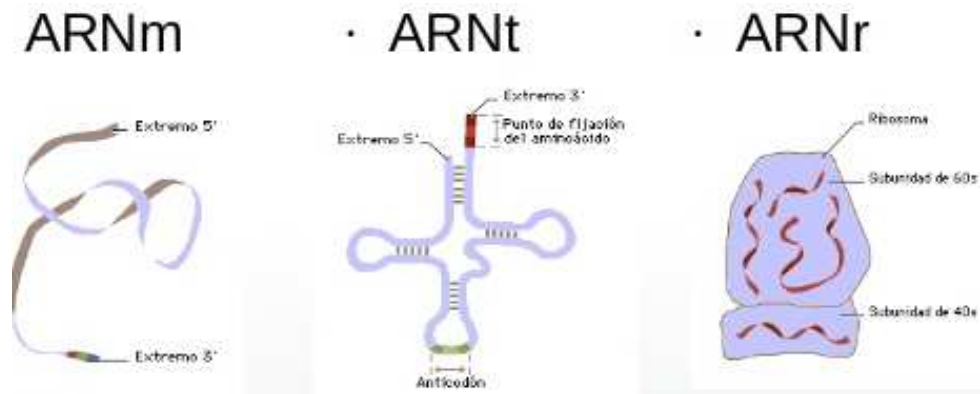


Figura 3. Tipos de ARN: ARNm, ARNt y ARNr.

**Flujo de la información genética:** el Dogma Central de la Biología Molecular se refiere a los tres procesos llevados a cabo por los ácidos nucleicos (ADN y ARN): replicación, transcripción y traducción.

Gracias al descubrimiento de la estructura en doble hélice por Watson y Crick, pudo comprenderse como el ADN es una molécula capaz de replicarse con una extraordinaria precisión y capaz de almacenar la información necesaria para producir y mantener a un organismo vivo.

El ADN contiene una serie de instrucciones para construir proteínas, que son las macromoléculas responsables de la mayor parte de las propiedades y funciones celulares de un organismo.



Figura 4. Flujo de la información genética.

### 1.1.1 GENES Y GENOMAS

Un gen es un segmento de ADN que codifica la secuencia primaria de un producto final (ARN o proteína), que presenta una función estructural o catalítica.

Además, el ADN también contiene una serie de segmentos o secuencias que tiene sólo una función reguladora; de forma, que van a actuar como señales que permiten identificar el principio y fin de los genes, influir en su transcripción o funcionar como puntos de inicio para la replicación o recombinación.

Cabe destacar que el genoma está constituido por el material genético de un organismo, tratándose de un conjunto único y completo de información genética. Es decir, que todas las células de un organismo multicelular van a presentar el mismo material genético.

El material genético se encuentra distribuido en unidades denominadas cromosomas, teniendo en cuenta que el conjunto de cromosomas se mantiene en organismos de la misma especie y que cada especie va a tener un número cromosómico y una apariencia característica.

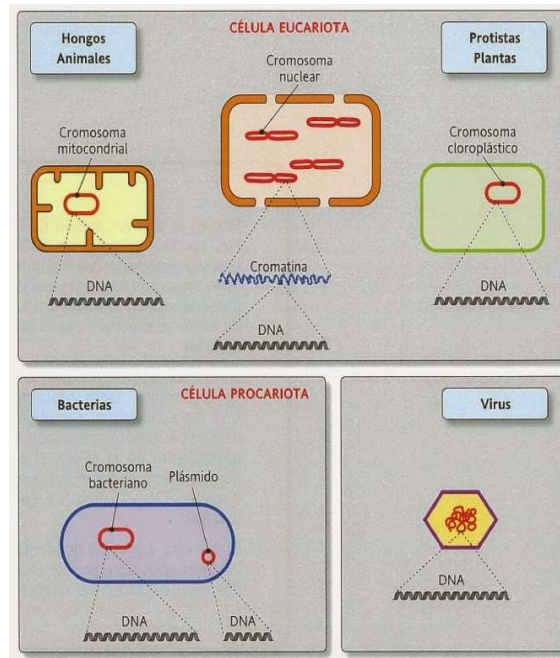


Figura 5. Comparación estructural de los genomas eucariotas, procariotas y virus.

Los cromosomas tienen una estructura diferente según se trate de eucariotas, procariotas o virus. Así, mientras que el cromosoma procariota va a ser circular, los cromosomas eucariotas y víricos son lineales.

### 1.1.1.1 GENOMAS EUCARIOTAS

El ADN eucariota presenta una organización genética bastante más compleja que el ADN procariota. Mientras que el cromosoma bacteriano es lineal y prácticamente toda la secuencia codifica información (excepto algunas secuencias intergenómicas), en eucariotas encontramos cromosomas lineales que presentan segmentos codificantes (exones) intercalados con segmentos de ADN que no van a codificar la secuencia de aminoácidos (intrones), junto con secuencias intergenómicas que tampoco son codificantes. Como consecuencia, se interrumpe la relación colineal entre la secuencia de nucleótidos del gen y la secuencia de aminoácidos del polipéptido.

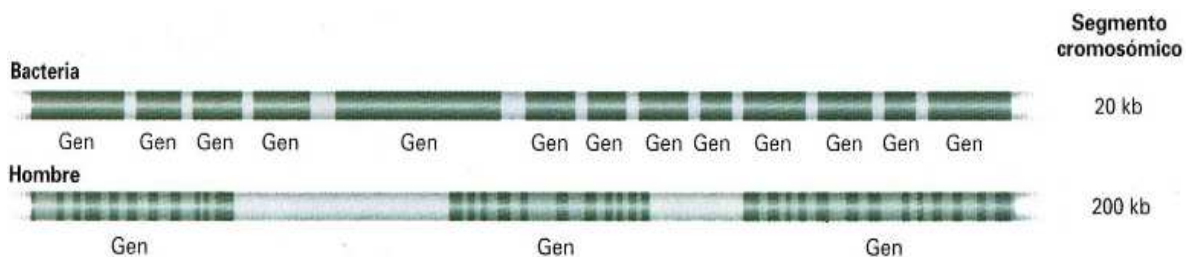


Figura 6. Diferencias entre cromosomas procariotas y eucariotas. Siendo representadas las regiones intergénicas en color blanco, los intrones en verde claro y los exones en verde oscuro.

**Tipos de secuencias del ADN eucariota:** el ADN eucariota se encuentra compuesto por, al menos, tres tipos de secuencias: secuencias de ADN únicas, ADN moderadamente repetitivo y ADN altamente repetitivo.

- Las secuencias de ADN únicas se encuentran compuestas por grupos de nucleótidos que solo se repiten una vez o, como máximo, unas pocas veces en el genoma.
- El ADN repetitivo típico se encuentra compuesto por secuencias de 150 – 300 pb, que suelen cumplir funciones importantes en las células (ADN ribosomal codificante).
- El ADN altamente repetitivo suele componerse por menos de 10 pb, encontrándose agrupados en centómeros y telómeros.

**Elementos transponibles y variabilidad genética:** los elementos transponibles son secuencias móviles y autosuficientes de ADN que suelen producir mutaciones con frecuencia y que presentan capacidad de replicación. Dicho tipo de ADN puede llegar a representar al menos un 50% del genoma humano.

Lejos de tratarse de ADN inservible, recientes estudios atribuyen a los elementos móviles una gran importancia en aspectos tan cruciales como la organización estructural del genoma o la introducción de la plasticidad genómica necesaria para mejorar la adaptación al medio.

**ARN interferentes pequeños y microARN:** también es importante describir la presencia de genes que dan lugar a microARN.

Las células eucariotas contienen ARN muy pequeños y abundantes denominados ARN interferentes pequeños (siARN) y micro ARN (miARN); que son responsables de la interferencia por ARN que genera el “apagado” de la expresión génica.

La interferencia por ARN (ARNi) es un mecanismo preciso mediante el cual las células eucariotas van a poder limitar la invasión de genes extraños y poder silenciar la expresión de los genes propios.

Dichos ARN van a participar en la degradación del ARN mensajero, inhibición de traducción, metilación del ADN y remodelamiento de cromatina.

**ADN mitocondrial:** la gran mayoría del ADN en eucariotas suele encontrarse en el núcleo, aunque las mitocondrias y cloroplastos (plantas) también van a contener ADN.

Dichos orgánulos van a ser los encargados de la producción de ATP, habiendo evolucionado desde la endocitosis de bacterias en células ancestrales con núcleo eucariota. La mayoría de genes que se encontraban dentro de dichos orgánulos fueron desplazándose hasta el genoma nuclear.

Las mitocondrias y cloroplastos de los eucariotas actuales van a conservar ADN codificante para las proteínas que son esenciales para el funcionamiento del orgánulo, así como ARN ribosómico y ARN de transferencia (necesarios para dicha traducción).

El ADN mitocondrial (ADNmt) se encuentra localizado en la matriz mitocondrial, teniendo en cuenta que cada mitocondria va a presentar múltiples moléculas de ADNmt.



La cantidad total de ADNmt en una célula va a depender del número de mitocondrias, tamaño del ADNmt y número de moléculas de ADNmt por mitocondria.

Las mitocondrias van a presentar herencia citoplasmática, por lo que las mitocondrias tienen que tener su propio sistema genético.

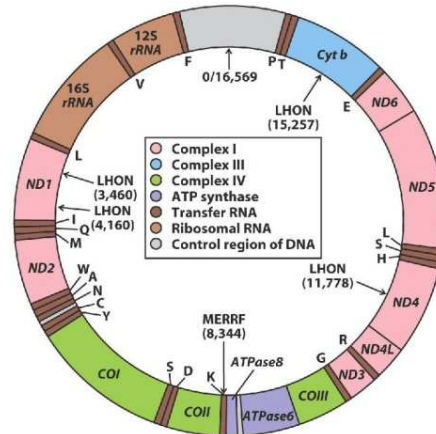


Figura 7. ADN mitocondrial.

Cabe destacar que el espermatozoide apenas cede citoplasma, por lo que el óvulo va a ser el responsable de prácticamente el 100% del ADNmt; siendo responsable de la síntesis de ARNr, ARNt y proteínas necesarias para el transporte electrónico mitocondrial.

Por ello, las mutaciones en el ADNmt van a presentar un patrón de herencia citoplasmático materno, pudiendo dar lugar a la producción de enfermedades.

### 1.1.1.2 ESTRUCTURA DE CROMOSOMAS EUCARIOTAS

El cromosoma consiste en una molécula de ácido nucleico con la finalidad de portar la información genética en células eucariotas y procariotas, virus u orgánulos.

Los cromosomas eucariotas van a encontrarse formados por cromatina, que son complejos de ADN con proteínas (histónicas y no histónicas). Dichos complejos van a permitir la compactación del material genético, a la vez que aporta estabilidad.

Entre las proteínas asociadas al ADN se encuentran:

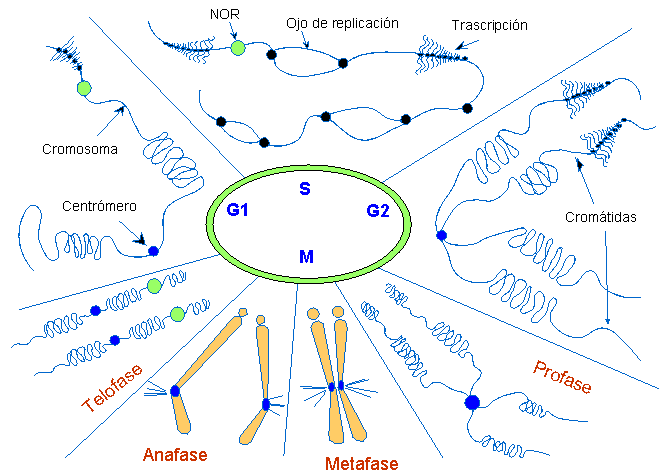
- **Proteínas histonas:** son proteínas pequeñas que presentan una gran cantidad de aminoácidos con carga positiva (Lys y Arg); de forma, que permite interactuar con los grupos cargados negativamente del esqueleto fosfato del ADN.
- **Proteínas no histonas:** algunas presentan funciones biológicas y/o estructurales. Por ejemplo, las proteínas de ensamblaje del cromosoma (ayudan a plegar y empaquetar el cromosoma).

**Niveles de organización de cromatina:** en una célula eucariota, la longitud total de la molécula de ADN es alrededor de un metro. Sin embargo, todo el material tiene que entrar en el núcleo, que presenta un diámetro medio de 5 µm.

Por ello, el ADN tiene que adoptar un alto grado de empaquetamiento para poder alojarse en el interior del núcleo eucariota.

Para facilitar esta compactación se produce la unión de la doble hélice de ADN con una serie de proteínas. El grado de compactación de la cromatina varía a lo largo del ciclo celular, siendo máximo este grado de compactación en el cromosoma metafásico.

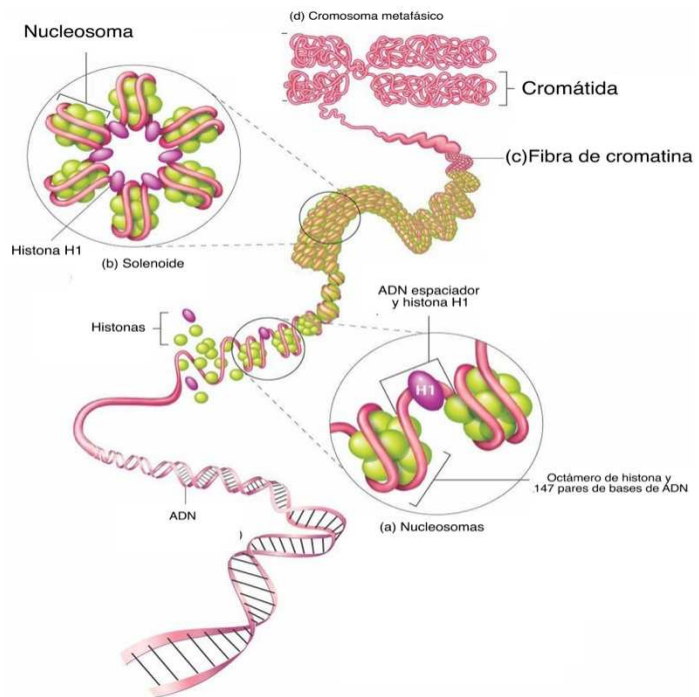
Durante la interfase, la cromatina va a presentar un grado de empaquetamiento de unas 2000 veces; es decir, lo que en su estado natural ocuparía 2000 mm pasa a ocupar 1 mm. Para ello, tiene que producirse la unión de la doble hebra de ADN con las histonas.



**Figura 8. Fases del ciclo celular y cambios sufridos por la cromatina. Transformaciones del cromosoma durante el ciclo celular.**

Existen 5 tipos principales de histonas (H1, H2A, H2B, H3 y H4) que van a asociarse entre sí para formar un octámero, de forma que 146 pares de bases de ADN van a dar 1'65 vueltas alrededor del octámero. Como consecuencia, se genera la estructura denominada **nucleosoma** (10-11  $\mu\text{m}$  de diámetro), siendo la unidad básica de organización de la cromatina.

Cada octámero está formado por dos dímeros de las histonas H3 y H4 y un tetrámero de histonas H2A y H2b. Además, cada nucleosoma lleva una molécula de histona H1 que sirve de anclaje. Estas histonas tienen un dominio carboxilterminal globular y una cola aminoterminal no estructurada (Kourazides, 2007). La fibra de cromatina de 10  $\mu\text{m}$  va a sufrir un segundo grado de enrollamiento sobre sí misma para dar lugar a una estructura llamada **solenoides**, que va a presentar 6 nucleosomas por vuelta.



**Figura 9. Distintos estados de compactación de la cromatina.**

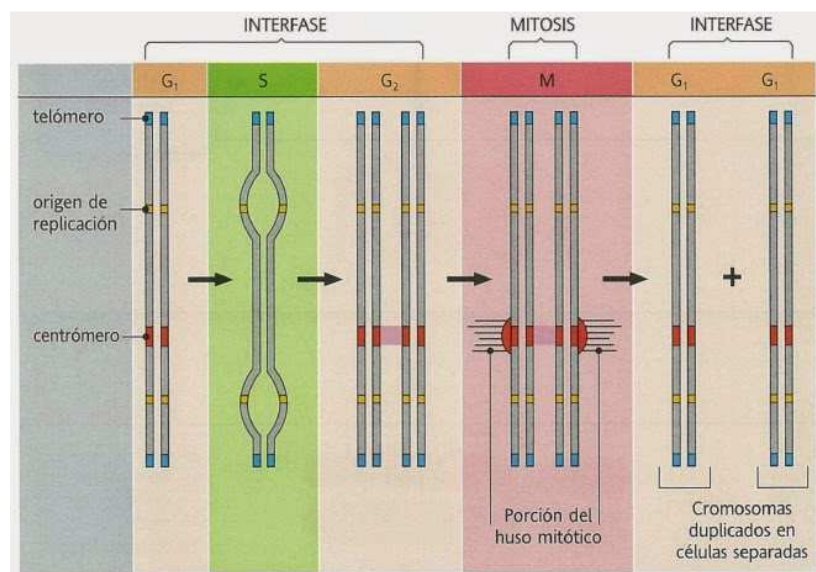
Progresivamente, se van generando estructuras donde aumenta el grado de compactación de la cromatina hasta alcanzar el máximo nivel, que corresponde al cromosoma metafásico (Figura IX).

**Elementos funcionales de los cromosomas eucariotas:** funcionalmente, la cromatina se encuentra organizada en dos áreas estructurales diferentes llamadas heterocromatina silenciosa y eucromatina activa.

1. Heterocromatina silenciosa: corresponde a la mayor parte del material nuclear e incluye a los telómeros y regiones pericentroméricas. Dichas regiones van a tender a ser ricas en secuencias repetitivas y a tener un bajo contenido génico (Kim y cols., 2009).
2. Eucromatina activa: el resto del genoma que no es heterocromatina silenciosa va a encontrarse formado por eucromatina, que es transcripcionalmente activa y contiene la mayoría de los genes.

Los siguientes elementos van a permitir la correcta replicación y segregación de los cromosomas eucariotas:

- Orígenes de Replicación: los cromosomas eucariotas presentan muchos orígenes de replicación para asegurarse que la totalidad del cromosoma pueda replicarse rápidamente.
- Centrómero: secuencia de ADN que actúa como punto de unión de las proteínas que fijan el cromosoma a los microtúbulos del huso mitótico durante la división celular (siendo esencial para la correcta segregación de los cromosomas entre las células hijas).
- Telómeros: son secuencias con una función estabilizadora, que se encuentran situados en los extremos de los cromosomas eucariotas (Blackburn, 1991).



**Figura 10. Elementos de la secuencia de ADN necesarios para producir un cromosoma eucariota capaz de replicarse y segregarse durante la mitosis.** Un cromosoma típico durante el ciclo celular atraviesa por la Interfase, donde comienza la replicación del ADN en los orígenes de replicación y avanza bidireccionalmente a lo largo del cromosoma. Luego, en la Fase M, actúa el centrómero para unir los cromosomas duplicados al huso mitótico (por lo que distribuye una copia a cada célula hija).

## 1.2 REPLICACIÓN DEL ADN

Es la duplicación del material genético celular previo a su división, siendo la única manera de garantizar que las células hijas presenten el mismo genoma que la célula madre.

**La replicación del ADN es semiconservativa:** el descubrimiento de la estructura en doble hélice del ADN pudo proporcionarse una explicación al mecanismo de replicación del material genético celular. Dicha estructura en doble hélice permitió conocer que la función de cada hebra de ADN será servir de molde para la síntesis de una nueva hebra hija. Así, mediante el ensamblaje de las bases complementarias, se generarán dos hélices idénticas a la original, formada cada una por una hebra parenteral y una hebra de nueva síntesis.

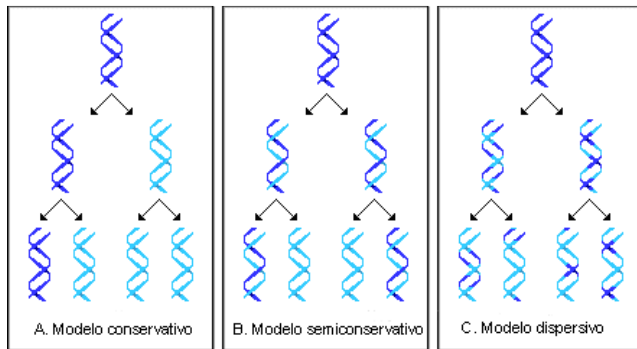


Figura 11. Diferentes modelos de replicación.

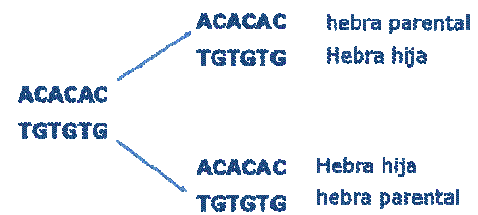


Figura 12. Replicación semiconservativa del ADN.

**Etapas de la replicación del ADN en procariotas:** las moléculas de ADN que vayan a ser replicadas tienen que tener un **origen de replicación**, desde el cual se produce el inicio del proceso de replicación en ambas direcciones hasta que se termina de copiar toda la molécula.

En el origen de replicación va a producirse la apertura de la doble hélice de ADN, que generará las burbujas de replicación. Cada burbuja de replicación presenta dos horquillas de replicación, que van a ir desenrollando la hélice de ADN en direcciones opuestas mientras las dos cadenas se van replicando.

Al origen de replicación va a unirse una proteína de iniciación que desenrolla el ADN, la ADN helicasa, que va a producir la rotura de los puentes de hidrógeno. Las proteínas SSB (proteínas estabilizadoras) van a estabilizar las cadenas separadas y la ADN girasa (topoisomerasa) va a reducir la torsión generada al desenrollarse las dos cadenas del ADN.

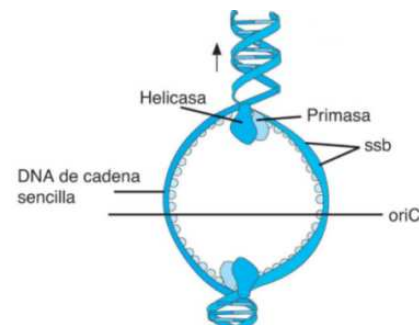


Figura 13. Burbuja de replicación con actuación de helicasa, primasa y proteínas SSB.

Una vez que la ADN helicasa inicia su movimiento, va a producirse la unión de la primasa. La primasa es una ARN polimerasa encargada de sintetizar un *primer* o cebador de ARN, que es necesario como sitio de unión para la ADN polimerasa, que va a comenzar a incorporar el resto de desoxirribonucleótidos.

La hebra continua solo requiere una vez la acción de la primasa, mientras que la cadena retardada va a requerir que la primasa añada un primer cada vez que comience un nuevo fragmento de Okazaki.

Al comenzar a trabajar las enzimas responsables de la apertura de la horquilla de replicación y colocarse el cebador mediante la primasa, entra en juego la ADN polimerasa. Entonces, comienza a sintetizar las nuevas cadenas de ADN de las dos hebras. Al conjunto de todas las proteínas implicadas en la replicación se le conoce como **replisoma** (Figura XIV).

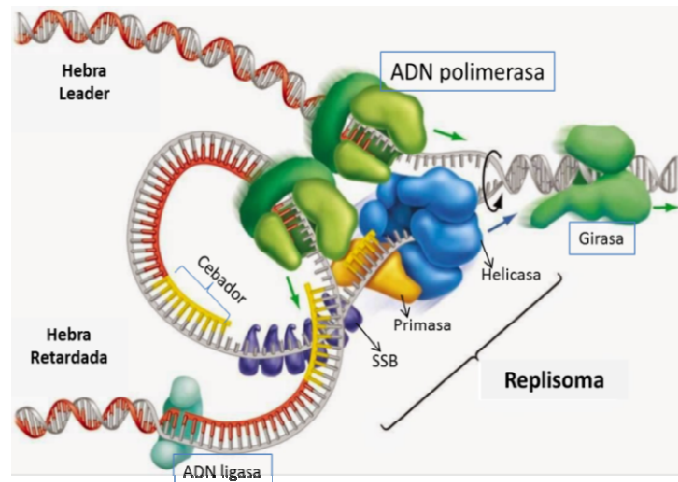


Figura 14. Replisoma.

Las funciones comunes de todas las ADN polimerasas van a ser:

1. Sintetizar una secuencia complementaria y antiparalela a partir de un molde.
2. Sintetizar la nueva hebra en dirección  $5' \rightarrow 3'$ .
3. Requerir un cebador de ARN para añadir el primer desoxirribonucleótido a la cadena.
4. Asociarse a otras proteínas para realizar su función.
5. Catalizar la formación del enlace fosfodiéster entre un extremo  $3'$ -OH del último nucleótido de la cadena recién sintetizada y el  $5'$ -P del nuevo nucleótido trifosfato a incorporar, dando lugar a la liberación de dos fosfatos en el proceso.

Requiere una especial mención la ADN polimerasa III de *Escherichia coli*, que es un complejo multiproteico formado por tres subunidades ( $\alpha$ ,  $\theta$  y  $\epsilon$ ) que realiza la mayor parte del trabajo de replicación del ADN debido a su actividad polimerasa  $5' \rightarrow 3'$  y actividad exonucleasa  $3' \rightarrow 5'$  (corrección durante la lectura).

También, hay que destacar la ADN polimerasa I de *Escherichia coli*, que presenta actividad polimerasa  $5' \rightarrow 3'$ , actividad exonucleasa  $3' \rightarrow 5'$  y actividad exonucleasa  $5' \rightarrow 3'$ ; por lo que su principal función consiste en retirar los cebadores y rellenar los huecos.

En cada horquilla de replicación vamos a encontrar una cadena parenteral con dirección  $5' \rightarrow 3'$  y otra cadena parenteral con dirección  $3' \rightarrow 5'$ . Dado que todas las enzimas encargadas de la polimerización (ADN polimerasas) trabajan en dirección  $5' \rightarrow 3'$ , en cada horquilla de replicación nos encontremos con una **cadena líder** que va a sintetizarse de forma continua y una **cadena retrasada** que va a sintetizarse de forma discontinua.

Para la síntesis de la hebra en sentido  $3' \rightarrow 5'$ , se demostró que dicha hebra seguía creciendo en dirección  $5' \rightarrow 3'$  gracias a una estrategia de la polimerasa que permite, mediante la formación de bucles, la generación de una serie de pequeños fragmentos que rellenaban los espacios de la horquilla “marcha atrás” (siendo dichos pequeños fragmentos denominados **fragmentos de Okazaki**).

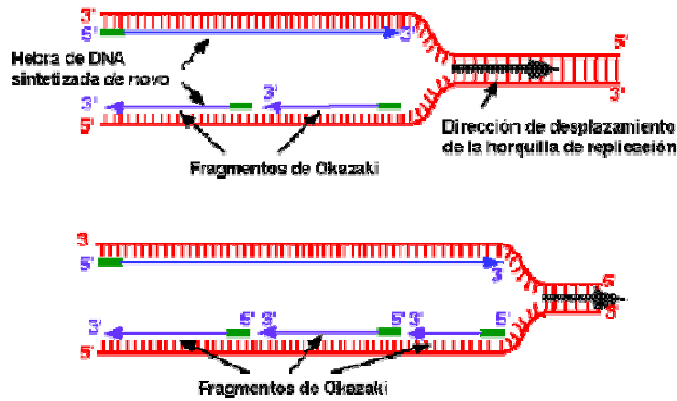


Figura 15. Horquilla de replicación con fragmentos de Okazaki y cadenas recién sintetizadas antiparalelas.

Cada fragmento de Okazaki se inicia con un cebador. Posteriormente, va a producirse la eliminación de todos los cebadores por la ADN polimerasa y la unión de los fragmentos de Okazaki mediante la ADN ligasa a través de un enlace fosfodiéster y sin la necesidad de añadir un nuevo nucleótido.

Es decir, al ADN ligasa va a encargarse de unir el último nucleótido añadido por la ADN polimerasa I con el primer nucleótido añadido por la ADN polimerasa III.

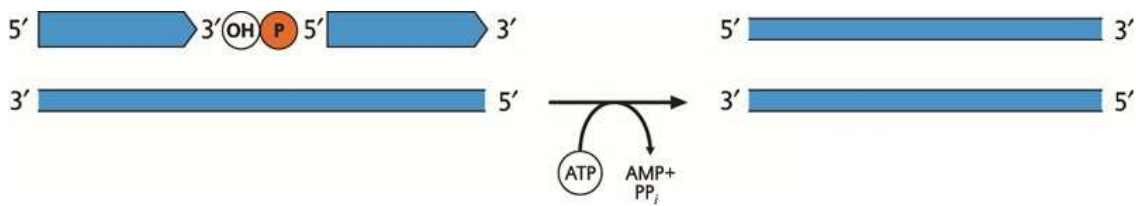


Figura 16. Acción de la ADN ligasa en la unión de fragmentos.

Finalmente, se produce la etapa de **terminación de la replicación**, que se tiene lugar cuando la ADN polimerasa se encuentra con una secuencia de terminación, que van a retener a las horquillas de replicación. Concretamente, van a contener secuencias que facilitan la decatenación y separación del ADN resultante. (Martínez y cols, 2017).

La replicación en procariontes y eucariontes van a presentar nexos comunes, ya que ambas son semiconservativas, bidireccionales, semidiscontinuas (hebra líder y hebra retardada) y con participación común de varias enzimas (helicadas, topoisomerasas, polimerasas, ligasas, etc.).

Sin embargo, las células eucariotas y procariontes van a presentar diferencias en la replicación:

1. Mayor tamaño del ADN eucariota.
2. Múltiples puntos de iniciación en un mismo cromosoma en eucariotas.
3. La estructura nucleosómica eucariota debe dissociarse para dar inicio a la replicación.
4. Deben sintetizarse nuevas moléculas de histonas en eucariotas.
5. Problemas en eucariotas debido a que los cromosomas son lineales.
6. En eucariotas la replicación se produce en el núcleo, mientras que en procariontes se produce en el citoplasma.

7. Hay 5 tipos de ADN polimerasas en eucariotas (actuando la ADN polimerasa  $\alpha$  como cebador).
8. Menor tamaño de los fragmentos de Okazaki en células eucariotas (200 pb vs. 2000 pb).
9. En las células eucariotas, la replicación tiene lugar en la fase S del ciclo celular

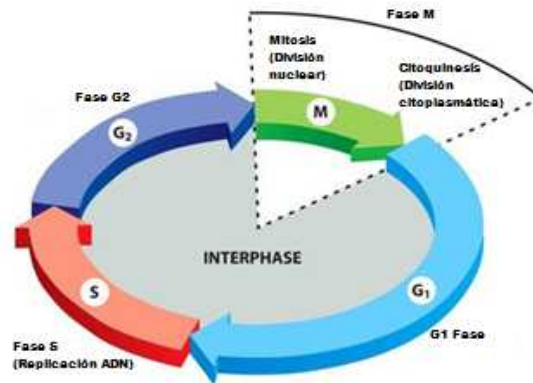


Figura 17. Fases del ciclo celular.

Los cromosomas lineales de las células eucariotas van a presentar numerosos orígenes de replicación. Al presentar un mayor número de orígenes de replicación va a garantizarse que toda la molécula de ADN se replique completamente en un breve periodo de tiempo.

Como consecuencia de la presencia de varios orígenes de replicación, las burbujas se irán abriendo simultáneamente e irán aproximándose a unas a otras dando lugar a su fusión y completando la replicación.

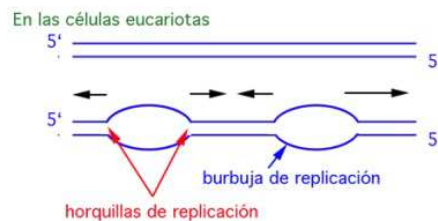


Figura 18. Burbujas de replicación y horquillas de replicación en el origen de replicación de células eucariotas.

Es muy importante destacar que en eucariotas el ciclo celular y la replicación tienen que quedar coordinados. Para ello, la célula cuenta con puntos de control, en los que se encuentran implicadas las **ciclinas** (A, B, D y E). Las ciclinas son proteínas pequeñas que se sintetizan en distintos momentos del ciclo celular y que son necesarias para la activación de las **quinasas dependientes de ciclinas (CDK)**.

Las quinasas van a ser inactivas hasta que se une el componente ciclina. Entonces, se forman las CDK activas, que fosforilan numerosas proteínas esenciales para el paso a las distintas etapas del ciclo celular (Rodríguez y cols., 2004).

Hay tres puntos de control que se encuentran controlados por ciclinas, entre los que encontramos el punto G1/S y G2/M. Las ciclinas del punto de control G1/S se sintetizan y acumulan durante la fase G1, siendo degradadas por proteólisis dependiente de ubiquitina en el proteosoma durante la fase S.

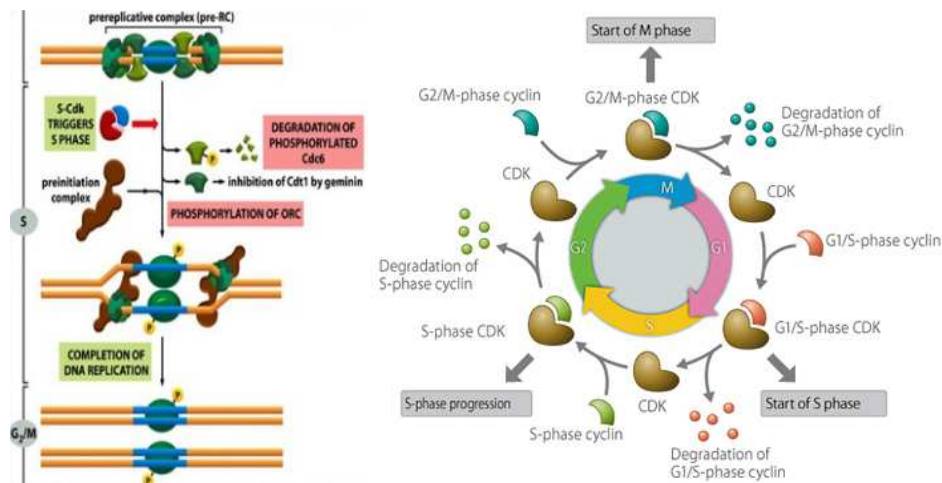


Figura 19. Influencia de CDK-ciclinas en el complejo pre-replicative para dar lugar al comienzo de la replicación del ADN en eucariotas.

Al existir múltiples orígenes de replicación hacen falta mecanismos que aseguren que cada secuencia se copie una sola vez. La replicación de cada una de las secuencias debe de completarse antes de seguir a la siguiente fase, de forma que el ciclo celular y el complejo de replicación queden coordinados.

En la fase G1 se acopla el **complejo pre-replicative** (Pre-RC), para cuya activación es necesario que las ciclinas G1 activen a las quinasas correspondientes y así fosforilen a sus dianas (Cdc6 y Cdt1). Al fosforilarse las dianas, va a producirse una disminución de la afinidad de Cdc6 y Cdt1 (ambas reclutan polimerasas) por el complejo Pre-RC. Como consecuencia, se separan y permiten que la Helicasa (Mcm-2 y Mcm-7) produzca la apertura de las hebras del ADN, se unen las ADN polimerasas y se inicia la replicación (Figura XIX).

Al final de la fase S se da el desacoplamiento del complejo y al final de la fase de mitosis se da la ausencia de ciclinas, que permite la formación de complejos Pre-RC.

Es decir, mediante la síntesis y degradación de las ciclinas van a generarse numerosos puntos de control que regulan la progresión del ciclo celular (Kastan y cols., 1995).

**Puntos de control del ciclo celular:** la proteína del retinoblastoma (pRb) actúa como un freno, manteniendo a la célula en la fase G1 mediante la inhibición de los genes necesarios para entrar en la fase S. Concretamente, pRb es fosforilada (Buchkovich y cols., 1989) mediante el complejo ciclinaD/CDK4/6, por lo que se produce la liberación de los factores de transcripción E2F. Como consecuencia, se produce la activación de la transcripción de genes y se permite la progresión del ciclo celular (Weinberg, 1995).

Por otra parte, la proteína p53 produce la parada del ciclo celular, antes de alcanzar a la fase S, en caso de que se hayan producido daños en el ADN (Gorgoulis y cols., 2005). Al activarse, p53 se une al ADN en sitios específicos, actuando como factor de transcripción del gen p21, que codifica un inhibidor de la CDK. Al bloquear la actividad de las CDK se evita la hiperfosforilación de pRb, de manera que el factor de transcripción E2F permanece inactivo y se impide la progresión de la célula hacia la fase S.



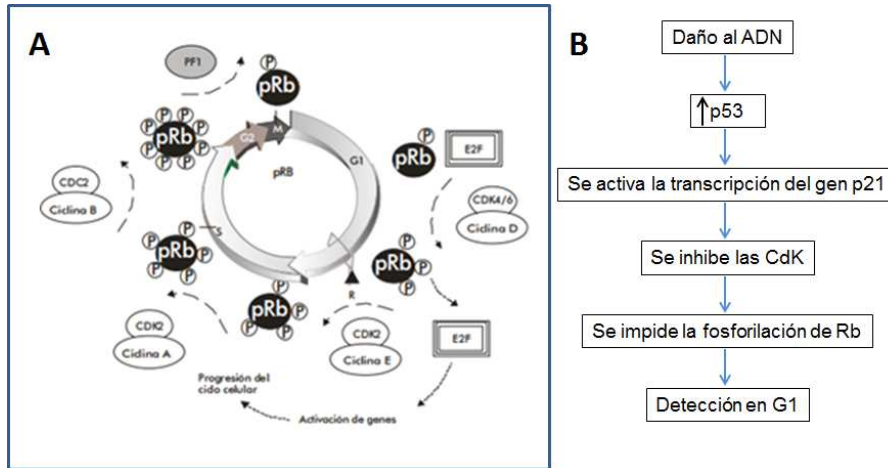


Figura 20 (Imagen modificada de Rodríguez y cols., 2004). A) Interacción de pRB, ciclinas, quinasas y E2F en las fases del ciclo celular. B) p53 para el ciclo celular ante un daño en el ADN.

### 1.3 IMPORTANCIA DE TELÓMEROS EN REPLICACIÓN DEL ADN

El ADN eucariota es lineal y se encuentra distribuido en cromosomas. Al ser lineales, se presenta un problema en la replicación de los extremos libres de los cromosomas, ya que las ADN polimerasas serán incapaces de polimerizar las secuencias terminales de los extremos una vez que son retirados los cebadores. Por ello, se produciría el acortamiento del cromosoma en cada ciclo de replicación.

Para evitar que se pierda información relevante en cada ciclo, en el extremo de los cromosomas encontramos los **telómeros**; que son unas secuencias no codificantes de ADN localizadas en los extremos de los cromosomas, cuya función consiste en proteger la estructura del cromosoma y la información genética. También, podrían definirse como caperuzas de protección situadas al final del cromosoma (Hernández, 1999).

Hay que tener en cuenta que en caso de que los extremos de los cromosomas estuvieran libres se producirían mecanismos de asociación de cromosomas lineales, por lo que generaría desestabilización. Además, los extremos libres son más susceptibles de ataques por nucleasas y fosfatasa (Saltman y cols., 1993).

Para garantizar la estabilidad de los cromosomas, a estas secuencias de ADN se asocian proteínas y dan lugar a los **telosomas**; que son complejos de proteínas (shelterinas). Se trata de complejos de proteínas que se unen al extremo final del ADN telomérico (O'Sullivan y Karlseder, 2010).

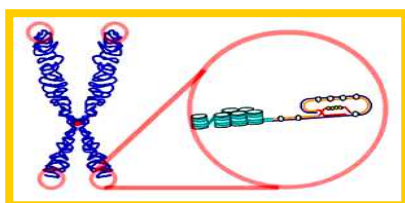


Figura 21. Telómeros recubriendo los extremos de cromosoma eucariota.

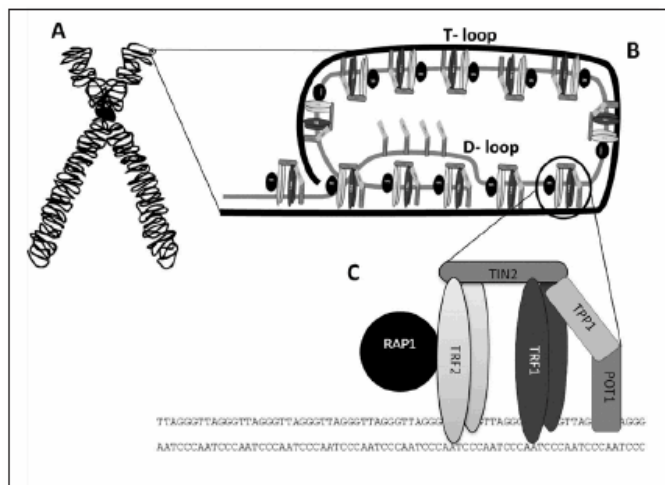


Figura 22. Secuencias teloméricas asociadas a shelterinas, dando lugar a la formación de un bucle.

Los telómeros forman parte del ADN repetitivo, siendo secuencias cortas de 6 pb, ricas en Guanina (GGGTGTG), que se encuentran repetidas en tándem y localizadas al final de los cromosomas en el extremo 3' (hebra rica en G) y su hebra complementaria.

La hebra rica en G va a presentar una mayor longitud que la hebra complementaria, por lo que se genera una extensión de cadena simple donde dicho ADN va a unirse a la shelterina (proteínas teloméricas) para formar un bucle.

Los T-bucles sirven para secuestrar el extremo terminal de los cromosomas (Figura XXIII). Aquí, el ADN de una sola hebra se enrolla alrededor de un largo círculo estabilizado por proteínas de unión al telómero. Al final del bucle T, el ADN telomérico de una sola hebra se entrelaza con una región de ADN de doble cadena, dando lugar a una estructura de triple hebra denominada bucle de desplazamiento o D-bucle (Mengual y cols, 2014).



**Figura 23. Estructura de los telómeros en los cromosomas (Imagen tomada de Mengual y cols., 2014).** A) Esquema de un cromosoma indicando la ubicación de un telómero. B) Estructura del telómero: T-bucles secuestrando el extremo terminal del cromosoma y D-bucle donde se observa la triple hebra de ADN. C) Complejo Shelterina de proteínas asociadas a los telómeros.

#### 1.4 COMPLEJO PROTEICO ASOCIADO AL TELÓMERO: SHELTERINA, COMPLEJO PROTECTOR O TELOSOMA

En los seres humanos, los telómeros van a encontrarse asociados a un complejo proteico llamado “shelterina”, “complejo protector” o “telosoma”.

El complejo protector va a encontrarse compuesto por TRF1 y TRF2; que a su vez interactúan con RAP1, TIN2, TPP1 y POT1 para asociarse al ADN telomérico de cadena simple y cadena doble (De Lange, 2005; Palm y De Lange, 2008).

Cabe destacar que la shelterina va a impedir la activación del mecanismo de reparación del ADN en los extremos de los cromosomas (telómeros) y que va a actuar en la actividad extensiva telomérica de la telomerasa (Greider, 1996).

**Proteínas TRF1:** presenta una secuencia C-terminal capaz de reconocer específicamente un fragmento de ADN telomérico, actuando como regulador negativo de la longitud telomérica. Es capaz de restringir la actividad de la enzima telomerasa (Van Steensel y De Lange, 1997).

**Proteína TRF2:** es un regulador negativo de la longitud telomérica. Además, va a tener función estabilizadora de la secuencia G repetitiva que sobresale, por lo que es capaz de prevenir la fusión de los telómeros. Además, TRF2 va a reclutar a la proteína RAP1 en los telómeros humanos.

**Proteína RAP1:** su sobreexpresión va a ser causante de un alargamiento telomérico, tratándose de un componente proteico del complejo shelterina en los telómeros mamíferos, aunque su papel *in vivo* en la biología telomérica es desconocido.

**Proteína TIN2:** presenta 2 isoformas derivadas del *slipicing* alternativo, sin conocerse cuál es su diferencia a nivel funcional. Su actividad va a encontrarse regulada indirectamente por la proteína TRF1.

TIN2 va a contribuir a la regulación de la longitud de los telómeros, aunque el papel exacto que desempeña en la protección de los telómeros no ha sido establecido.

Además, va a tratarse de un componente central del complejo protector que estabiliza a las proteínas TRF1 y TRF2, y que conecta TPP1/POT1 a los otros componentes del complejo shelterina.

**Proteína TPP1:** se trata de una proteína necesaria para el reclutamiento de la enzima telomerasa *in vivo*. Además, va a encontrarse implicado en la protección y elongación de los telómeros, por lo que preservan la función del telómero y previene la temprana aparición de enfermedades degenerativas.

TPP1 va a presentar un papel importante en la regulación de la longitud telomérica, ya que puede actuar como activador o inhibidor de la telomerasa en función de la posición de la proteína POT1 en el extremo 3' extendido.

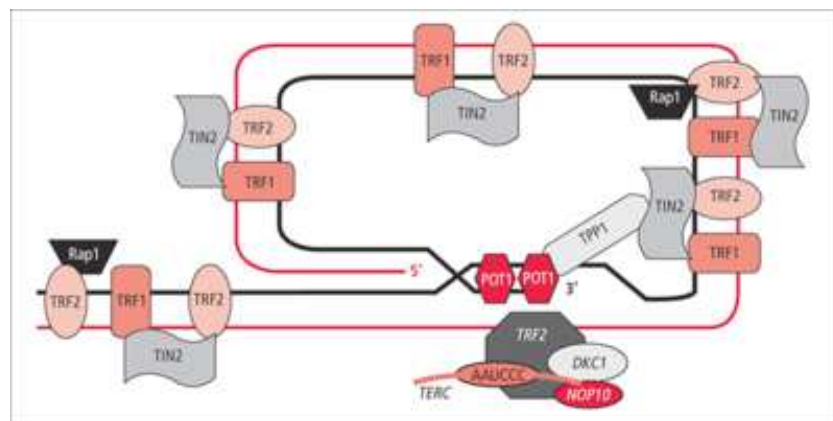


Figura 24. Diagrama esquemático de la disposición de las proteínas del complejo protector en los telómeros de mamíferos.

## 1.5 ENZIMA TELOMERASA

La telomerasa es una enzima retrotranscriptasa específica encargada de realizar el proceso de replicación de los extremos de los cromosomas eucariotas (telómeros), por lo que es capaz de asegurar que el extremo 3' del cromosoma pueda ser copiado.

Su actividad se observa principalmente en gametos, células madre y células tumorales. En las células somáticas humanas el potencial de proliferación es limitado, alcanzando la senescencia tras 50 – 70 divisiones celulares debido a que la ADN polimerasa no es capaz de copiar el ADN en los extremos de los cromosomas. Por el contrario, en la mayoría de las células tumorales el potencial de replicación es ilimitado debido al mantenimiento de la actividad telomerasa (Campisi, 2007).

La holoenzima (apoenzima y cofactor) telomerasa humana es una ribonucleoproteína (RNP) compuesta por la subunidad catalítica hTERT y proteínas accesorias (Mengual y cols., 2014).

- La subunidad catalítica hTERT contiene un componente de ARN (hTR) que actúa como molde para la adición de la secuencia corta repetitiva (TTAGGG) en el extremo 3' del ADN telomérico.
- Las proteínas accesorias regulan la biogénesis de la telomerasa, su localización subcelular y su función *in vivo*.

El análisis de telomerasa por afinidad a partir de células HeLa ha permitido identificar como componentes integrantes de la telomerasa humana a varias proteínas: disquerina, NHP2, NOP10, Pontin/Reptin, GAR1 y TCAB1.

Entre ellos, el heterotrímero formado por disquerina, NHP2 y NOP10 va a ser necesario para la estabilidad y la acumulación *in vivo* del componente ARN de la telomerasa humana (hTR). Además, el heterotrímero y GAR1 van a unirse a hTR, permitiendo que la ribonucleoproteína sea biológicamente funcional.

Con respecto a Pontin/Reptin, van a tratarse de dos ATPasas que interactúan con TERT en la fase S del ciclo celular, evidenciándose una regulación dinámica del TERT dependiente del ciclo celular. Cuando se produce una disminución de los niveles de Pontin/Reptin va a perjudicarse notoriamente la acumulación de la ribonucleoproteína telomerasa, por lo que dichas proteínas presentan un papel esencial en el montaje de la telomerasa *in vivo*.

Actualmente, el modelo arquitectónico funcional de la telomerasa va a contemplar a las proteínas disquerina y Pontin/Reptin como un andamio capaz de reclutar y estabilizar a hTR y con capacidad para permitir el ensamblaje de la ribonucleoproteína.

Una vez formado el complejo, las proteínas Pontin/Reptin van a disociarse del complejo y van a generar la liberación de la enzima telomerasa catalíticamente activa.

En cuanto a la localización subcelular de la telomerasa, parece encontrarse regulada por el factor TCAB1, aunque son necesarios más estudios para dilucidar el significado bioquímico y molecular de la enrevesada red de interacciones proteína-proteína y proteína-ácidos nucleicos dentro de la telomerasa.

Además, es importante investigar como varía la composición de la holoenzima en las etapas específicas del ciclo celular. Concretamente, las células normales diploides humanas que expresan hTERT de forma transitoria van a adquirir la actividad telomerasa, por lo que hTERT podría ser el componente limitante necesario para la restauración de la actividad de la enzima telomerasa.

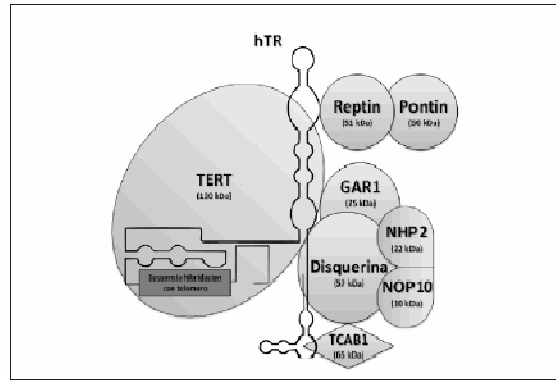


Figura 25. Holoenzima telomerasa. Complejo de proteínas asociadas a la subunidad catalítica de la telomerasa TERT (Imagen tomada de Mengual y cols., 2014).

**Alargamiento de los telómeros mediante la enzima telomerasa:** la replicación de los telómeros es un proceso importante, ya que nos ha proporcionado una serie de claves nuevas para conocer la longevidad y duración de las células (Wu y cols., 2017).

La elongación de los telómeros va a presentar diferentes etapas:

1. Los nucleótidos del extremo 3' del ADN telomérico van a hibridarse con el extremo de ARN molde en el interior del dominio de ARN del complejo telomerasa; siendo la secuencia de ARN molde de 11 nucleótidos complementaria a casi dos repeticiones teloméricas.
2. La brecha en el extremo del molde va a completarse usando NTP como sustrato del sitio catalítico (hTERT) de la telomerasa.
3. La cadena sintetizada se transloca en dirección 5' y se permite la formación de una nueva brecha y la repetición del ciclo de alargamiento telomérico.

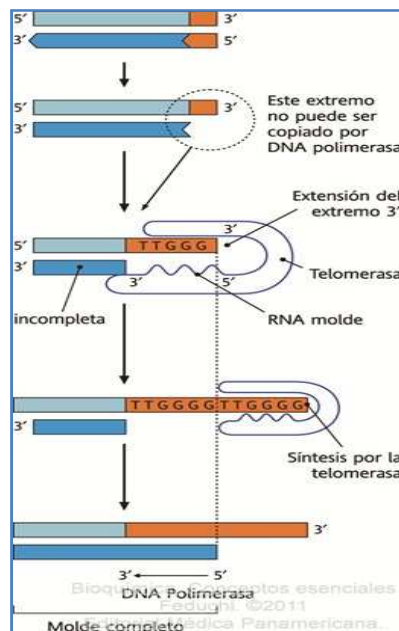


Figura 26. La telomerasa se encarga de la replicación de los extremos de los cromosomas (telómeros).

Las células que se encuentran en crecimiento van a presentar una elevada actividad telomerasa; mientras que la mayoría de las células somáticas, al tener una baja actividad telomerasa, van a sufrir el acortamiento de los cromosomas hasta que la célula muere.

Por ello, podría decirse que la “fecha de caducidad” de una célula va a depender de la actividad telomerasa (Cottliar y Slavutsky, 2000).

## 2. OBJETIVOS

Los objetivos de la revisión bibliográfica sobre “La enzima telomerasa como diana terapéutica” son:

1. Confección de una revisión bibliográfica que permita recopilar los principales avances en el conocimiento sobre la enzima telomerasa desde un punto de vista estructural y funcional.
2. Revisión bibliográfica sobre la implicación de la telomerasa en el envejecimiento.
3. Revisión bibliográfica sobre la implicación de la telomerasa en situaciones patológicas como el cáncer.
4. Revisión bibliográfica de los estudios que implican a los posibles moduladores de la actividad telomerasa para determinar su potencial uso terapéutico.
5. Establecer nexos entre diferentes estudios para futuras investigaciones.

## 3. METODOLOGÍA

Para el desarrollo de conceptos básicos de la introducción se han utilizado principalmente textos clásicos de Bioquímica y Biología Molecular como *Lehninger: Principios de Bioquímica* (Nelson y cols., 2015), *Biología Molecular e Ingeniería Genética* (Herráez, 2012) y *Biología Molecular de la Célula* (Albert y cols., 2010).

Para la revisión bibliográfica sobre “la enzima telomerasa como diana terapéutica” se emplearon bases de datos (Pubmed Central o Scielo) y algunos libros específicos.

Inicialmente, en la búsqueda se emplearon palabras clave como **Telomere** y **Telomerase**, que facilitaron la localización de artículos bibliográficos y/o experimentales que nos permitió un primer acercamiento al tema.

Posteriormente, se pasó a una búsqueda más concreta, centrándonos en los trabajos que abordan nuestro tema de interés mediante el uso de términos como: **Therapeutic and Telomerase, Telomerase and Cancer, Telomerase and Aging...**

Con estos criterios de búsqueda e intentando tomar las referencias más relevantes, es decir, seleccionando los artículos en función del número de veces citados, del prestigio de la revista o página en la que aparecían publicados y de la experiencia de los autores, se ha conseguido una completa revisión sobre el tema.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 TELÓMEROS Y TELOMERASA EN EL ENVEJECIMIENTO

Las células germinales van a presentar una enorme cantidad de enzima telomerasa, mientras que las células somáticas van a presentar muy poca o nula cantidad de enzima telomerasa (Wright y cols., 1996).

Como consecuencia, los cromosomas de las células somáticas en división van a irse acortando en cada ciclo de división celular hasta que la célula para de realizar el proceso de división celular y entra en senescencia (Allsopp y cols., 1995).

Se ha propuesto que dicho acortamiento telomérico limitaría la capacidad proliferativa de las células y contribuiría al proceso natural del envejecimiento (Kuilman y cols., 2010). Así mismo, se piensa que la reconstitución de la actividad telomerasa en tejidos podría ser empleada como una terapia génica de aquellas enfermedades asociadas al envejecimiento que estén caracterizadas por una disminución de la capacidad proliferativa y de regeneración celular (Tchkonia y cols., 2013).

Por ello, existe un gran interés en el estudio que relacione la longitud de los telómeros con el grado de envejecimiento. Por ejemplo, el síndrome de Werner es una enfermedad con un proceso de envejecimiento agudo prematuro que se debe a una mutación en el gen WRN. Esta mutación va asociada a un acortamiento de los telómeros, que genera inestabilidad cromosómica y fenotípicamente se manifiesta como envejecimiento prematuro.

El envejecimiento es un proceso complejo, acompañado por el detenimiento del ciclo celular, donde se produce una remodelación de la morfología celular y de la estructura de la cromatina, así como disminución funcional y grandes cambios en la expresión de genes y metabolismo (Pardo y Delgado, 2003).

El proceso de envejecimiento en las células humanas puede ser mediado por:

1. Vía de mecanismos relacionados con el estrés.
2. Vía de senescencia replicativa inducida por acortamiento telomérico.

Los diversos desencadenantes senescentes van a interactuar cooperativamente e inducir vías de señalización superpuestas (Campisi, 2011).

**Senescencia replicativa:** es inducida por desgaste telomérico, tratándose de un mecanismo específico del envejecimiento.

Se ha demostrado en algunos estudios (Fyhrquist y cols., 2013) una correlación inversa entre la longitud telomérica y el comienzo de las enfermedades asociadas con la edad, aunque la causalidad es un aspecto controvertido. Además, algunos estudios (Zhu y cols., 2011) han observado que un estilo de vida saludable se encuentra correlacionado con unos telómeros más largos, probablemente reflejándose frente a las enfermedades relacionadas con la edad.

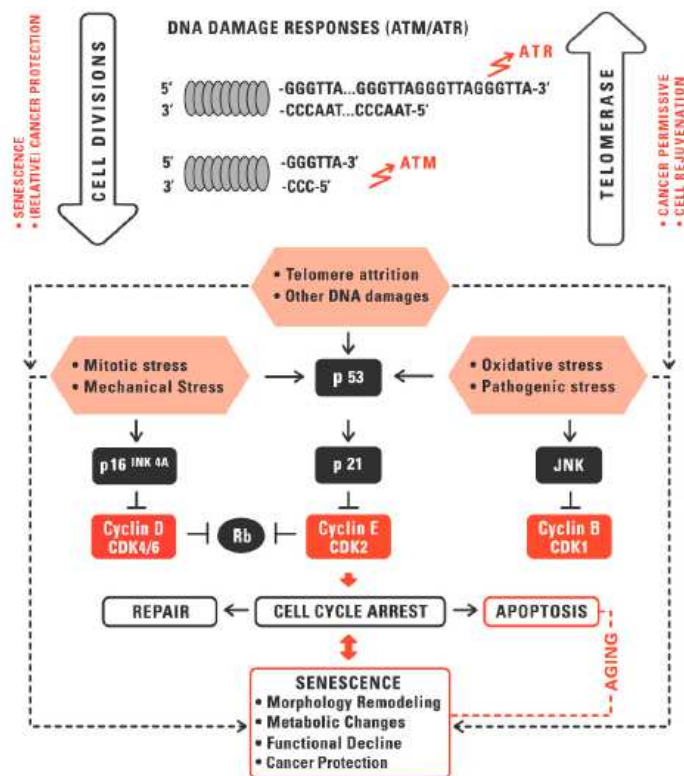


Figura 27. Relación entre longitud telomérica y envejecimiento.

Para que una célula desencadene una respuesta senescente tiene que detectarse alguna anomalía en el ADN, la cual es detectada mediante el complejo shelterina (permite distinguir entre telómeros y zonas con daño en ADN).

Como hemos visto en la introducción, el acortamiento telomérico se debe al llamado “problema del final de replicación”, donde el extremo 3’ de la hebra de ADN se acorta con cada división celular desde el momento en que la ADN polimerasa no es capaz de replicar completamente la hebra. De esta forma, al llegar a un cierto límite de desgaste telomérico, la desprotección del telómero va a facilitar la aparición de daños en el ADN. Entonces, el sistema daño-reparación va a reconocer la zona y produce la activación de inhibidores de división celular (p53 o p16INK4a) o apoptosis. Es decir, que el inicio de la senescencia en las células humanas involucra mecanismos comunes mediados por p53 y/o proteína del retinoblastoma (pRb), así como p21, postulándose que p16 limitaría el crecimiento (Jäger y Walter, 2016).

Asimismo, otros tipos de daños en las regiones teloméricas, también inducen esta respuesta. Así el triplete GGG de la secuencia telomérica humana (TTAGGG) es especialmente vulnerable a modificaciones químicas.



**Figura 28. El envejecimiento replicativo coopera con otros mecanismos de envejecimiento para activar a p53 y/o vía de señalización del Retinoblastoma (Rb) (Imagen tomada de Jäger y Walter, 2016).** ATM y ATR son sensores de la doble hebra de ADN y hebra simple de ADN capaces de detectar el daño inducido por la senescencia replicativa u otro daño en el ADN. La activación de ATM y ATR va a desencadenar un punto de control para inducir el detenimiento del ciclo celular. Una mayor estimulación de p53 puede conducir a la apoptosis mediante la activación de la vía mitocondrial de apoptosis. La longitud telomérica y función celular pueden ser preservadas mediante la telomerasa, que sintetiza el nuevo ADN telomérico a partir del modelo de ARN. La telomerasa puede ayudar a evitar la senescencia y a rejuvenecer los tejidos, pero también permite el cáncer. La senescencia puede ayudar a prevenir el crecimiento tumoral, pero también puede ser superada mediante un proceso llamado crisis y entonces tiene efectos paracrinos y otros efectos tumorigénicos.



A nivel celular, la senescencia va a servir como un mecanismo de supresión tumoral, ya que las células senescentes no van a ser capaces de replicarse y van a disminuir su metabolismo al mínimo; por lo que la senescencia puede prevenir la replicación de cromosomas anormales.

Mayor relevancia para el envejecimiento representa el hecho de que la respuesta senescente también resulta en cambios en la morfología y funcionalidad de la célula. Debido a la senescencia, algunos tipos celulares resisten ciertas señales apoptóticas (por lo que las células senescentes se acumulan en tejidos a medida que aumenta la edad) y que algunas células senescentes tienden a sobreexpresar moléculas de secreción (afectando en lugares distantes a su lugar de producción y al microentorno local).

**Mecanismos relacionados con el estrés:** las especies reactivas de oxígenos (ROS) y otros factores ambientales relacionados con el estrés pueden conducir al daño telomérico y acelerar el desgaste de los telómeros (Epel y cols., 2004). Así, un incremento de ROS va a producir una bajada de la actividad de hTERT, dando lugar al desgaste telomérico.

La variación en la longitud telomérica en individuos de la misma edad va a ser determinadas por factores genéticos y ambientales, que pueden llevar a un daño telomérico y al acelerado acortamiento de los telómeros.

Curiosamente la actividad telomerasa va a verse disminuida mediante el estrés psicológico. Además, en numerosos estudios se ha observado que un estilo de vida sano está correlacionado con telómeros más largos, por lo que probablemente refleje protección contra las enfermedades relacionadas con la edad.

Junto con la directa modulación de la actividad telomerasa por ROS y otros factores de estrés (Von Zglinicki, 2000), otro factor a tener en cuenta es la inflamación (Wolkowitz y cols., 2011), que contribuye al desgaste telomérico en las células del sistema inmunitario mediante la promoción del recambio de leucocitos y el agotamiento telomérico (O'Donovan y cols., 2011). Es importante tener en cuenta que el acortamiento de los telómeros está asociado con elevados niveles de IL-6 y proteína C reactiva (CRP) (De Martinis y cols., 2006).

## **4.2 TELÓMEROS Y TELOMERASA EN EL CÁNCER**

El cáncer consiste en un conjunto de enfermedades relacionadas, siendo causado por un proceso descontrolado en la división de las células corporales. Las células humanas crecen y se dividen para formar nuevas células a medida que el cuerpo humano lo requiere (cuando las células normales van dañándose o envejeciendo se generan nuevas células para reemplazarlas).

Sin embargo, dicho proceso ordenado va a ser modificado en el cáncer hasta ser un proceso descontrolado. Esto es debido a que las células viejas o dañadas sobreviven cuando deberían morir y las células nuevas se forman cuando no son necesarias. Entonces, se genera una determinada cantidad de células adicionales, que podrán comenzar a dividirse sin interrupción y dar lugar a una formación de masas tumorales.

Un aspecto relevante es que dichas masas tumorales pueden llegar a ser de carácter maligno, ya que pueden extenderse a tejidos cercanos e incluso invadirlos. Además, podrían extenderse a lugares más distantes del cuerpo humano por el sistema circulatorio y/o linfático.

Además, las células cancerosas van a ser capaces de ignorar la señal celular de muerte programada (apoptosis). Son capaces de evadir el sistema inmunitario, por lo que impiden su destrucción.

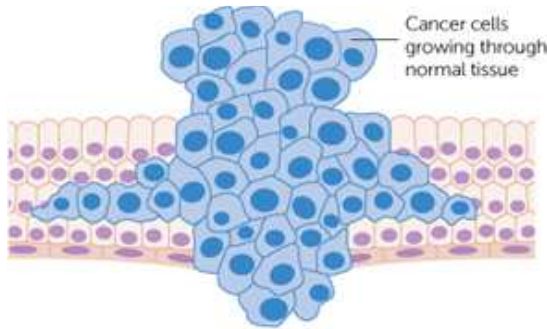


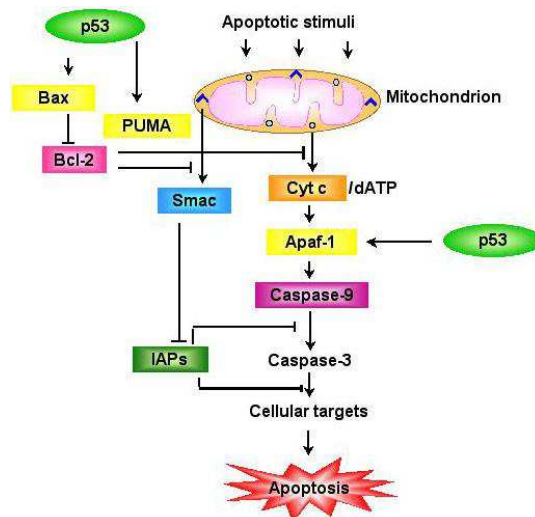
Figura 29. Células cancerosas creciendo a través de tejido normal.



Figura 30. Características generales del cáncer.

Los cambios genéticos que contribuyen al cáncer tienden a afectar a tres tipos de genes:

1. **Protooncogenes:** son genes implicados en el crecimiento y división celular normal. Codifican proteínas esenciales para que la célula se divida, pero cuando se alteran o son más activos de lo normal van a convertirse en oncogenes (genes causantes de cáncer) debido a que permiten que las células crezcan y sobrevivan cuando no deberían. Por ejemplo, algunos protooncogenes son RAS, WNT, MYC, ERK y TRK.
2. **Genes supresores de tumores:** dedicados al control del crecimiento y división celular. En condiciones normales inhiben el crecimiento celular, pero cuando se alteran pueden dar lugar a la división celular descontrolada. Por ejemplo, es el gen p53, que presenta un papel relevante en el control del ciclo celular y se encuentra implicado en numerosos tipos de cáncer. Además, va a producir la activación de la apoptosis en presencia de daño en ADN y tiene importantes implicaciones terapéuticas.
3. **Genes reparadores de ADN:** dedicados a reparar el ADN dañado. Cuando existen mutaciones en los genes reparadores de ADN va a tender a generarse mutaciones adicionales en otros genes, pudiendo dar lugar a ambas mutaciones a la generación de células cancerosas. Por ejemplo, son los genes BRCA1 y BRCA2 en cáncer de senos y ovarios.



**Figura 31. Relación entre el ciclo celular y apoptosis con la proteína P53 como enlace.**

Si pensamos en la relación entre telómeros/telomerasa y cáncer, hemos de tener en cuenta que cuando se produce una pérdida de la actividad telomerasa, no va a tener lugar el alargamiento de los telómeros. Como consecuencia, los telómeros van a alcanzar un tamaño crítico. Al acortarse los telómeros, puede producirse asociaciones teloméricas (TAS) debido a:

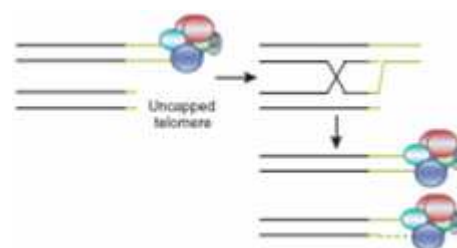
1. Unión de los extremos de los cromosomas
2. Al acortarse los telómeros es más difícil su separación durante mitosis

Entonces, va a producirse inestabilidad cromosómica relacionada con un aumento en la probabilidad de producir errores capaces de generar cambios genéticos de importancia para el proceso de desarrollo neoplásico (Counter y cols., 1992; Maciejowski y De Lange, 2017).

Si bien evolutivamente, se piensa que el límite en la división celular fue desarrollado como un mecanismo de supresión de tumores. Por ejemplo, en ratones con telómeros acortados hay un obstáculo para el crecimiento del cáncer (González-Suárez y cols., 2000).

La mayor parte de las células cancerosas (aproximadamente un 90%) van a presentar actividad telomerasa, por lo que presentan capacidad de mantenimiento de los telómeros. Por ello, se cree que una de las razones para que las células cancerígenas sean capaces de crecer indefinidamente y ser inmortales son debidas a la presencia de telomerasa. A pesar de que la telomerasa no es un oncogen, la inducción descontrolada de la enzima telomerasa en una célula va a permitir las carcinogénesis.

Cabe destacar que un 5-10 % de las células cancerígenas van a mantener sus telómeros mediante el alargamiento alternativo de los telómeros (ALT), donde la cromátidas hermanas intercambian sus telómeros mediante un evento de recombinación no recíproco.



**Figura 32. Alargamiento alternativo de los telómeros (ALT) mediante recombinación homóloga.**

La activación aislada de la enzima telomerasa no va a generar una proliferación neoplásica en la mayoría de las células, aunque parece ser que juega un papel importante en el desarrollo de neoplasias; llegando a ser un prerrequisito para la transformación cancerosa (ya que hace que las células se dividan indefinidamente y puedan considerarse “inmortales”).

Por ello, la inhibición de la enzima telomerasa en tumores sería una manera efectiva de frenar el crecimiento tumoral (Hahn y cols., 1999; Ivancich y cols., 2017).

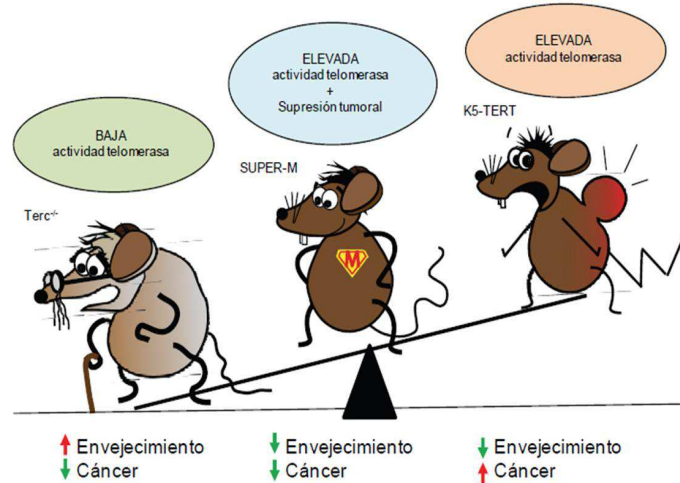


Figura 33. Relación entre cantidad de telomerasa con el cáncer y envejecimiento.

### 4.3 TELOMERASA COMO DIANA TERAPÉUTICA

En el siguiente esquema se representan los puntos en los que puede modularse la actividad de la enzima telomerasa:

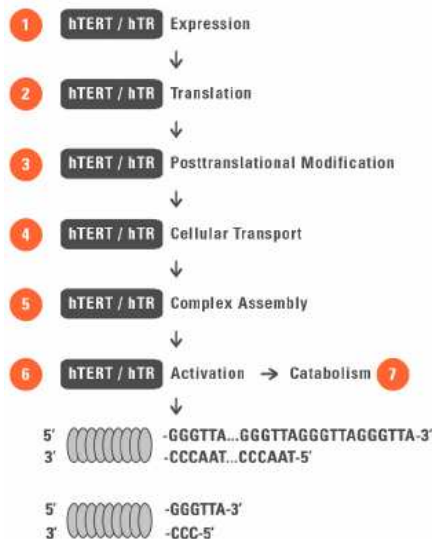


Figura 34. La telomerasa es una diana terapéutica (Imagen tomada de Jäger y Walter, 2016). La telomerasa es el

objetivo potencial como antitumoral y para el rejuvenecimiento.

1. Inhibición/Activación de transcripción genética.
2. Inhibición/Activación de síntesis proteica.
3. Modulación de la actividad mediante modificaciones postraduccionales.
4. Modulación de la actividad telomerasa mediante secuestro celular.
5. Interferencia con el complejo de la telomerasa.
6. Modulación de las vías de señalización y moléculas involucradas en la activación de la enzima.
7. Modulación del catabolismo del complejo de la telomerasa.

#### 4.3.1 TELOMERASA COMO DIANA EN MEDICINA REGENERATIVA

Como la actividad telomerasa es nula o presenta niveles muy bajos en tejidos somáticos, hay situaciones y enfermedades crónicas en las que el rejuvenecimiento transitorio mediante la immortalización de la telomerasa podría ser una opción terapéutica (Bodnar y cols., 1998).

Existen muchas posibles estrategias para reconstruir o mejorar la actividad enzimática para uso terapéutico:

1. Terapia génica clásica con transfección de secuencia de telomerasa: puede ser empleado para ingeniería tisular, para la optimización *in vitro* del trasplante de células madre en células donantes con telómeros cortos y, en principio, para el tratamiento de enfermedades crónicas, siempre que la inducción de la telomerasa sea limitada en el tiempo.
2. Re-expresión de telomerasa silenciada: la diferenciación celular suele conducir a la regulación negativa de la transcripción de telomerasa. Sin embargo, la regulación negativa de la telomerasa puede ser revertida, por ejemplo, mediante los agonistas de los receptores de estrógenos.
3. Activación de la actividad enzimática residual: es posible en célula con actividad telomerasa residual, como las células madre de tejidos regenerativos y los linfocitos. Por ejemplo, en linfocitos se activa mediante fosforilación enzimática y translocación nuclear, aunque dicha función disminuye con la edad.
4. Modulación de la localización intracelular: el secuestro de la telomerasa es otro posible nivel de la regulación en la actividad de la telomerasa, implicando la localización de la telomerasa como una diana potencial en farmacoterapia. Por ejemplo, la telomerasa puede translocarse entre núcleo y citosol, por lo que podemos encontrar hTERT en la mitocondria. Cabe destacar que la expresión ectópica de telomerasa fue empleada en una gran variedad de células, como fibroblastos, queratinocitos, etc.

La reconstrucción de la telomerasa se ha propuesto para el tratamiento de enfermedades con distorsión en la actividad enzimática de telomerasa. Como ejemplo están la anemia aplásica y disqueratosis congénita (Townsend y cols., 2014).

Asimismo, se ha propuesto la activación transitoria de la telomerasa para el tratamiento de otras enfermedades crónicas. Por ejemplo, enfermedad del músculo cardíaco, aterosclerosis, inmunodeficiencia y fracaso de médula ósea, enfermedad hepática, fibrosis pulmonar, defectos degenerativos del cartílago, cataratas, artritis reumatoide, trasplante de órganos o tratamientos asociados con la formación acelerada de células senescentes como la terapia anticancerosa o el VIH (Jäger y Walter, 2016).

Se ha demostrado que las células adrenocorticales bovinas modificadas con TERT pueden transplantarse en ratones con inmunodeficiencia severa combinada (SCID) y que dichos clones celulares se comportan como sus homólogos normales y forman el tejido funcional tras el trasplante (Thomas y cols., 2000). Este tejido es histológicamente similar al tejido formado a partir de células normales y muestra una tasa similar de división celular, lo que implica un papel terapéutico de la telomerasa en el xenotrasplante.

En cuanto al desarrollo y estudio de moléculas con capacidad de inducir la telomerasa, bien por inducir la expresión de hTERT y/o hTR, mejorar la actividad enzimática y/o influir en la localización celular; existen en la actualidad varios ejemplos:

1. Cicloastragenol: comercialmente TA-65, que se obtiene de la raíz de *Astragalus membranaceus*. Es una molécula simple capaz de activar transitoriamente a la telomerasa en los linfocitos T, por lo que se propuso su empleo en el tratamiento de la inmunosenescencia acelerada en pacientes con VIH debido a que aumentaría el número de células T CD8 de memoria senescente (Fauce y cols., 2008; Dock y Effros, 2011). Además, el TA-65 fue vendido como suplemento alimenticio desde 2013 y ha sido identificado como un activador eficaz de la telomerasa en células inmunes, queratinocitos neonatales y fibroblastos (Harley y cols., 2011). Por ejemplo, ha sido empleado en pequeños estudios para el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad (Dow y Harley, 2016).
2. Resveratrol: es un activador de la telomerasa en el tejido mamario y células progenitoras endoteliales, aunque el conocimiento actual sobre los posibles efectos a largo plazo es incompleto (Yang y cols., 1999; Pearce y cols., 2008; Sprouse y cols., 2012).
3. N-acetilcarnosina: es un activador de la telomerasa empleado para el tratamiento de las cataratas, ya que la longitud reducida de los telómeros está íntimamente implicada en la opacificación de la lente (Babizhayev y Yegorov, 2014).
4. Ginkgo biloba: es un activador de la telomerasa mediante la inducción de la vía de señalización PI3K/Akt (Dong y cols., 2007).
5. N-acetilcisteína: es un antioxidante. ROS produce un daño directo sobre los telómeros (por daño al triplete GGG de la secuencia repetitiva de los telómeros) e indirecto (mediante la modulación de la actividad telomerasa y la localización celular) (Passos y cols., 2007).

N-acetilcisteína emplea una estrategia indirecta para aumentar la actividad telomerasa mediante el bloqueo de la exportación de la telomerasa nuclear al citosol (Haendeler y cols., 2004).

Otro ejemplo, son los fármacos inhibidores de la enzima Hidroximetilglutaril CoA reductasa (HMG-CoA reductasa), como las estatinas, que pueden presentar efectos de alargamiento telomérico al interferir con el equilibrio redox de las células y al aumentar la expresión de la proteína estabilizadora de los telómeros, TRF-2 (Spyridopoulos y cols., 2004).

**Regulación positiva de telomerasa en enfermedades de la piel:** la piel es un órgano para el cual ya existen aproximaciones terapéuticas prometedoras sobre la telomerasa. Se han propuesto varias estrategias terapéuticas basadas en la estimulación, *in vivo* o *ex vivo*, de células

madre/progenitoras para expresar el componente de ARN de hTERT, para el reemplazo de piel perdida o disfuncional. Recientemente, se han descrito condiciones de cultivo tridimensionales optimizadas con niveles de expresión mejorados de hTERT, proliferación y multipotencia de células madre/progenitoras dérmicas humanas (Zhang y Fu, 2008).

**Regulación positiva de telomerasa en aterosclerosis:** los hallazgos experimentales en cultivos celulares y animales sugieren que el acortamiento del telómero contribuye a la patogénesis de la aterosclerosis en edad avanzada. Además, numerosos hallazgos en humanos han demostrado que el acortamiento telomérico se correlaciona con el grado de aterosclerosis *in vivo* (Nazari-Shafti y Cooke, 2015).

Algunos estudios (Matsushita y cols., 2001) han demostrado que una expresión de hTERT estable en las células endoteliales asegura un fenotipo más joven e induce la mejora de la enzima endotelial óxido nítrico sintasa (NOS).

El desarrollo de estos enfoques terapéuticos se encuentra en un nivel experimental, debido al temor de los efectos secundarios que promueven el cáncer en el uso sistémico.

**Regulación positiva de telomerasa en trastornos psiquiátricos:** basándose en datos clínicos experimentales y preliminares, se planteó la hipótesis de que el modo de acción de muchos fármacos psicofarmacológicos está mediado, al menos en parte, por su influencia en la actividad telomerasa.

Se ha demostrado que en ratones existe una estrecha correlación entre el estrés dependiente de la actividad telomerasa y el comportamiento depresivo. Mediante la aplicación de Fluoxetina, se invirtieron los síntomas clínicos y aumentó la actividad telomerasa en el hipocampo, lo que plantea que los efectos de los fármacos puedan estar mediados por neurogénesis dependiente de telomerasa (Zhou y cols., 2011).

En humanos, pequeños estudios piloto sugieren una estrecha correlación entre la actividad telomerasa, síntomas clínicos y respuestas a los antidepresivos (Simon y cols., 2015).

Con respecto a pacientes con trastorno bipolar, la longitud de los telómeros se correlacionó con la duración de la terapia (Martinsson y cols., 2013). Los fármacos antipsicóticos también pueden tener alguna influencia positiva en la longitud de los telómeros (Yu y cols., 2008).

#### **4.3.2 TELOMERASA COMO DIANA EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER**

Dado que la actividad telomerasa se encuentra expresada en tumores malignos, pero no en la mayoría de las células normales, esta enzima se ha convertido en una diana terapéutica atractiva (Morin, 1995). La telomerasa es expresada en más del 85% de las células tumorales. Las células tumorales con potencial metastásico pueden tener una elevada actividad telomerasa, lo que les permite escapar de la inhibición de la proliferación celular debido al acortamiento de los telómeros (Shay y Wright, 2002).

Puesto que los niveles de ARNm de hTERT están directamente relacionados con la actividad telomerasa, se considera una diana terapéutica más adecuada que hTR.

La restricción de hTERT es una opción terapéutica potencial porque los componentes del complejo telomerasa tienen una regulación positiva en la mayoría de células tumorales. Además, la telomerasa es una buena diana terapéutica, ya que las células somáticas carecen o tienen un bajo nivel de actividad telomerasa. Así, la inactivación selectiva de la expresión de telomerasa en células cancerígenas no influye en la mayoría de células sanas.

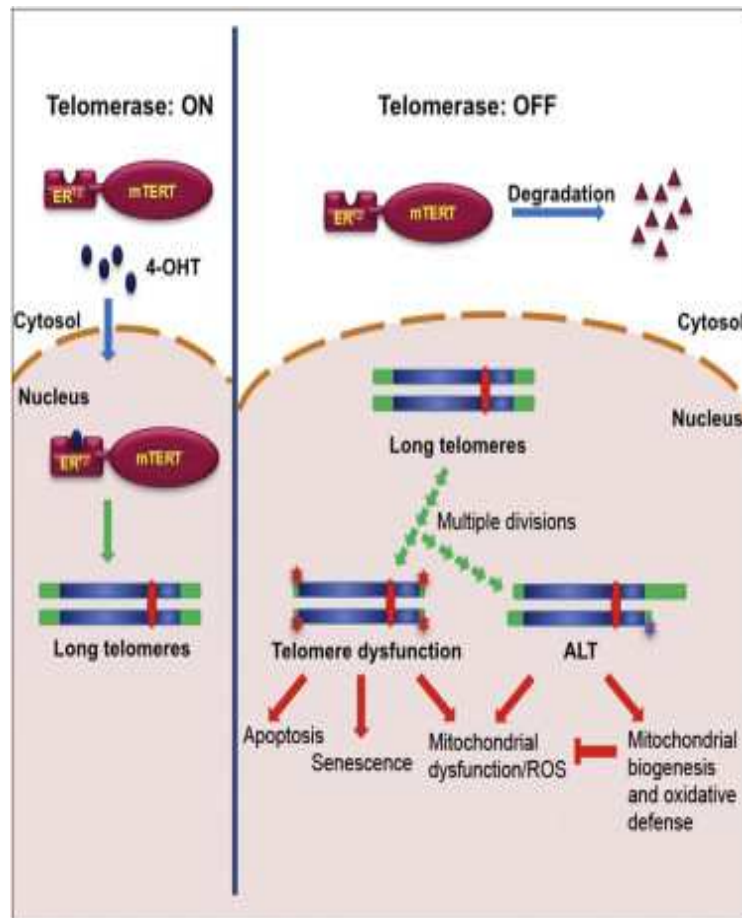


Figura 35. Esquema diferenciador de células con actividad telomerasa y células sin actividad telomerasa con vía ALT.

Sin embargo, los efectos del tratamiento a largo plazo de los inhibidores de la telomerasa todavía no han sido investigados y actualmente no hay información sobre sus efectos en las células normales que expresan transitoriamente telomerasa (células germinales).

La limitación del potencial de crecimiento de los tumores ha sido el foco de la intervención quimioterapéutica durante décadas. Debido a su expresión selectiva en neoplasias y crecimiento, la telomerasa y los telómeros se han convertido en objetivos atractivos y novedosos para la terapéutica anticancerígena. Sin embargo, como hemos comentado, en algunos cánceres las células mantienen la homeostasis de la longitud telomérica a través de la vía de alargamiento alternativo de los telómeros (ALT), que es independiente de la acción de la enzima telomerasa. Por lo tanto, dichos tipos de cáncer van a ser resistentes a terapias basadas en actuar sobre la telomerasa.

Además, se cree que la resistencia al tratamiento mediante inhibidores de la telomerasa puede producir una activación de las vías ALT en algunos cánceres (Bryan y cols., 1995).

Diferentes estrategias de regulación de la enzima telomerasa están en investigación para el tratamiento del cáncer (Holt y cols., 1996):



**Inhibidores de oligonucleótidos:** los oligonucleótidos antisentido y los ácidos nucleicos químicamente modificados van a inhibir a la telomerasa e inducen el acortamiento telomérico asociado con el subsiguiente inicio de senescencia y/o apoptosis. Estos inhibidores actúan directa o indirectamente (induciendo la apoptosis), siendo sus objetivos las plantillas de ARN, la proteína hTERT y el complejo proteico asociado.

Imetelstat (GRN163L) es un fármaco inhibidor de la telomerasa, siendo uno de los más ampliamente desarrollados y posiblemente es el más exitoso. Es un oligonucleótido 13-mer que actúa como inhibidor directo de la telomerasa mediante un antagonismo vinculante al elemento hTR de la telomerasa (Röth y cols., 2009).

Los estudios preclínicos con Imetelstat han mostrado una inhibición eficaz de la telomerasa. Concretamente, en el cáncer de mama demostró una reducción en la tumorigenicidad celular e invasividad.

**Moléculas pequeñas inhibitoras de la telomerasa:** a partir de inhibidores naturales de telomerasa, como epigallocatequina-3-galato (EGCG), se intentan diseñar nuevas moléculas.

La rapamicina es un inmunosupresor inhibidor de mTOR (Bae-Jump y cols., 2006), que va a inhibir la actividad telomerasa y contrarrestar el cáncer de endometrio (Zhou y cols., 2003).

**Enfoque inmunoterápico:** el sitio activo de la telomerasa en las células cancerígenas es una posible diana para desarrollar vacunas. Así, la terapia celular adoptiva, con el uso de linfocitos T reactivos de alta avidéz frente a la telomerasa, ha sido empleada exitosamente en el adenocarcinoma de próstata de ratones (Ugel y cols., 2010). A pesar del marcado agotamiento temporal de células B como efecto secundario, dicha terapia no fue asociada con significantes descensos de inmunoglobulinas o infecciones.

Sin embargo, el enfoque inmunoterápico presenta un éxito limitado debido al desarrollo de autotolerancia, al limitado tamaño del receptor del precursor de células T, a los efectos negativos de los microentornos de tumores inmunosupresores de células T y a las diferencias interindividuales.

**Terapia génica dirigida a telomerasa:** los promotores de la telomerasa en las células cancerígenas son dianas para las terapias génicas específicas del tumor, ya que se puede atacar selectivamente a las células cancerígenas y no dañar a las células normales al expresarse en las células cancerígenas altas concentraciones de esta proteína.

Para ello, se desarrollan adenovirus que, mediante el uso de un promotor de hTERT, se replican selectivamente en las células cancerígenas y las mata (Nemunaitis y cols., 2010).

**Fitoquímicos:** una amplia variedad de compuestos químicos que se generan naturalmente en plantas han sido sugerido como inhibidores de la actividad telomerasa en varios tipos de cáncer (D'Incalci y cols., 2005). Dichas sustancias contienen alicina (organofosforado derivado del ajo), curcumina (fenol presente en cúrcuma), sibilina (flavolignano, que es un organosulfurado derivado de crucíferas) y EGCG (catequina del té verde).

Curcumina, genisteína, EGCG y sulforafano fueron probados en células cancerígenas de pecho (Aggarwal y cols., 2008). Su modo de acción solo se conoce parcialmente: inhibición de la translocación de hTERT al núcleo, disociación de una chaperona de hTERT y disminución de la expresión o actividad de hTERT.

El desafío actual es aprender a intervenir en el proceso de alargamiento telomérico por la telomerasa para aumentar el poder de diagnóstico y tratamiento de las neoplasias malignas.

## **5. CONCLUSIONES**

Los resultados de la revisión bibliográfica sobre la enzima telomerasa permiten establecer una serie de conclusiones:

1. El acortamiento de los telómeros se asocia a la senescencia replicativa y al envejecimiento celular.
2. El acortamiento de los telómeros puede generar mecanismos TAS que provocan alteraciones cromosómicas y con ello aumenta la probabilidad de generar un proceso oncogénico.
3. La telomerasa es una enzima clave para mantener la integridad de los telómeros y, como consecuencia, de los cromosomas en eucariotas.
4. La disminución de la actividad telomerasa se asocia con el envejecimiento y las patologías asociadas al mismo.
5. La mayoría de las células cancerosas presentan elevada la actividad telomerasa.
6. Por todo ello, la telomerasa es una diana terapéutica interesante en la terapia antitumoral, así como en envejecimiento y las patologías asociadas al mismo.
7. Hasta el momento, las terapias dirigidas a la telomerasa como diana son prometedoras experimentalmente, incluso ya existen fármacos de uso clínico. Entre ellos, encontramos: Imetelstat, Rapamicina, Cicloastragenol, etc.
8. Además, existen compuestos fitoquímicos de acción sobre telomerasa, como es el caso de EGCG, Curcumina, Genisteína etc.
9. Sin embargo, el mantenimiento de la integridad de los telómeros es un proceso complejo en el que no solo interviene la telomerasa, por lo que no puede considerarse a la telomerasa como único regulador de la senescencia replicativa.
10. Los resultados en el desarrollo de terapias basadas en la enzima telomerasa son prometedores, si bien se necesitan más estudios que aclaren algunos puntos que aún no se controlan.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, Tharakan ST, Sung B y cols. Potencial of spice-derived phytochemicals for cancer prevention. *Planta Med.* 2008; 74(13): 1560-1569.
2. Albert B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Biología molecular de la Célula*. 5ª ed. Barcelona: Omega; 2010.
3. Allsopp RC, Chang E, Kashefi-Aazam M, Rogaev EI, Piatyszek A y cols. Telomere shortening is associated with cell division in vitro and in vivo. *Cell.* 1995; 220: 194-200.
4. Babizhayev MA, Yegorov YE. Biomarkers of Oxidative Stress and Cataract, Novel drug delivery therapeutic strategies targeting telomere reduction and the expression of telomerase activity in the lens epithelial cells with N-Acetylcarnosine lubricant eye drops: anti-cataract which helps to prevent and treat cataracts in the eye of dogs and other animals. *Current Drug Delivery.* 2014; 11: 24-61.
5. Bae-Jump VL, Zhou C, Gehrig PA, Whang YE, Boggess JF. Rapamycin inhibits hTERT telomerase mRNA expression, independent of cell cycle arrest. *Gynecologic Oncology.* 2006; 100(3): 487-494.
6. Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature.* 1991; 350: 569-573.
7. Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M y cols. Extension of life span by introduction of telomerase into normal cells. *Science.* 1998; 279: 349-352.
8. Bryan TM, Englezou A, Gupta J, Bacchetti S, Reddel RR. Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity. *EMBO J.* 1995; 14(17): 4240-4248.
9. Buchkovich K, Duffy LA, Harlow E. The retinoblastoma protein is phosphorylated during specific phases of the cell cycle. *Cell.* 1989; 58: 1097-1105.
10. Campisi J. Cellular senescence: putting the paradoxes in perspective. *Science.* 2011; 21(1): 107-112.
11. Campisi J, D'adda F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nature.* 2007; 8: 729-740.
12. Cottliar ASH, Slavutsky IR. Telómeros y actividad de telomerasa: su participación en el envejecimiento y el desarrollo neoplásico. *Medicina (Buenos Aires).* 2000; 60: 335-342.
13. Counter CM, Avilion AA, Le Feuvre CL, Stewart NG, Greider CW, Harley CB y cols. Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J.* 1992; 11: 1921-1929.
14. De Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev.* 2005; 19: 2100-2110.

15. De Martinis M, Franceschi C, Monti D, Ginaldi L. Inflammation markers predicting frailty and mortality in the elderly. *Experimental and Molecular Pathology*. 2006; 80(3): 219-227.
16. D'Incalci M, Steward WP, Gescher AJ. Use of cancer chemopreventive phytochemicals as antineoplastic agents. *The Lancet Oncology*. 2005; 6(11): 899-904.
17. Dock JN, Effros RB. Role of CD8 T cell replicative senescence in human aging and HIV-mediated immunosenescence. *Aging Dis*. 2011; 2(5): 382-397.
18. Dong XX, Hui YJ, Xiang WX, Rong ZF, Jian S y cols. Ginkgo biloba extract reduces endothelial progenitor-cell senescence through augmentation of telomerase activity. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2007; 49(2): 111-115.
19. Dow CT, Harley CB. Evaluation of an oral telomerase activator for early age-related macular degeneration – A pilot study. *Clin Ophthalmol*. 2016; 10: 243-249.
20. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, Adler NE y cols. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *PNAS*. 2004; 101(49): 17312-17315.
21. Fauci SR, Jamieson BD, Chin AC, Mitsuyasu RT, Parish ST y cols. Telomerase-based pharmacologic enhancement of antiviral function of human CD8+ T lymphocytes. *J Immunol*. 2008; 181(10): 7400-7406.
22. Fyhrquist F, Saijonmaa O, Strandberg T. The role of senescence and telomere shortening in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2013; 10: 274-283.
23. González-Suárez E, Samper E, Flores JM, Blasco MA. Telomerase-deficient mice with short telomeres are resistant to skin tumorigenesis. *Nature America*. 2000; 26: 114-117.
24. Gorgoulis VG, Leandros-Vassilios F, Vassiliou F, Karakaidos P, Zacharatos P y cols. Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions. *Nature*. 2005; 434: 907-913.
25. Greider CW. Telomere length regulation. *Annu Rev Biochem*. 1996; 65: 337-365.
26. Haendeler J, Hoffmann J, Diehl JF, Vasa M, Spyridopoulos I y cols. Antioxidants inhibit nuclear export of telomerase reverse transcriptase and delay replicative senescence of endothelial cells. *Molecular Medicine*. 2004; 94(6): 768-775.
27. Hahn WC, Stewart SA, Brooks MW, York SG, Eaton E. Inhibition of telomerase limits the growth of human cancer cells. *Nature Medicine*. 1999; 5(10): 1164-1170.
28. Harley CB, Liu W, Blasco M, Vera E, Andrews WH y cols. A natural product telomerase activator as part of a health maintenance program. *Rejuven Res*. 2011; 14(1): 45-46.
29. Hernández RA. Telómeros y telomerasas. *Invest Biomed*. 1999; 18(2): 121-129.
30. Herráez Á. *Biología Molecular e Ingeniería Genética*. 2ª ed. Barcelona: Elsevier; 2012.
31. Holt SE, Wright WE, Shay JW. Regulation of telomerase activity in immortal cell line. *Mol Cell Biol*. 1996; 16(6): 2932-2939.

32. Ivancich M, Schrank Z, Wojdyla L, Leviskas B, Kuckovic A, Sanjali A y cols. Treating cancer by targeting telomeres and telomerase. *Antioxidants (Basel)*. 2017; 6(1): 15.
33. Jäger K, Walter M. Therapeutic targeting of telomerase. *Genes*. 2016; 7(7): 39.
34. Kastan MB, Canman CE, Leonard CJ. P53, cell cycle control and apoptosis: implications for cancer. *Cancer Metast Rev*. 1995; 14(1): 3-15.
35. Kuilman T, Michaloglou C, Mooi WJ, Pepper DS. The essence of senescence. *Genes Dev*. 2010; 24: 2463-2479.
36. Maciejowski J, De Lange T. Telomeres in cancer: tumour suppression and genome instability. *Nat Rev Mol Cell Bio*. 2017; 18: 175-186.
37. Martinsson L, Wei Y, Xu D, Melas PA, Mathé AA y cols. Long-term lithium treatment in bipolar disorder is associated with longer leukocyte telomeres. *Transl Psychiatry*. 2013; 3(5): e261.
38. Matsushita H, Chang E, Glassford AJ, Cooke JP, Chiu CP y cols. eNOS activity is reduced in senescent human endothelial cells preservation by hTERT immortalization. *Circ Res*. 2001; 89: 793-798.
39. Mengual DL, Armando RG, Farina HG, Gómez DE. Telomerasa y telómero: su estructura y dinámica en salud y enfermedad. *Medicina (B. Aires)*. 2014; 74 (1): 69–76.
40. Morin GB. Is telomerase a universal cancer target? *Journal of the National Cancer Institute*. 1995; 87(12): 859-861.
41. Nazari-Shafti TZ, Cooke JP. Telomerase therapy to reerve cardiovascular senescence. *Methodist Debakey Cardiovasc J*. 2015; 11(3): 172-175.
42. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger: Principios de Bioquímica*. 6ª edición. Barcelona: Omega; 2015.
43. Nemunaitis J, Tong AW, Nemunaitis M, Senzer N, Phadke AP y cols. A phase I study of telomerase-specific replication competent oncolytic adenovirus (telomelysin) for various solid tumours. *Mol Ther*. 2010; 18: 429-434.
44. O'Donovan A, Pantell MS, Puterman E, Dhabhar FS, Blackburn EH y cols. Cumulative inflammatory load is associated with short leukocyte telomere length in the health, aging and body composition study. *Plos One*. 2011; 6(5): e19687.
45. O'Sullivan RJ, Karlseder J. Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. *Nat Rev Mol Cell Bio*. 2010; 11: 171-181.
46. Palm W, De Lange T. How shelterin protects mammalian telomeres. *Annu Rev Genet*. 2008; 42: 301-334.
47. Pardo A, Delgado H. Senescencia celular y envejecimiento. *Rev Cub Invest Bioméd*. 2003; 22 (3): 204-212.

48. Passos JF, Saretzki G, Ahmed S, Nelson G, Richter T y cols. Mitochondrial dysfunction accounts for the stochastic heterogeneity in telomere-dependent senescence. *PLOS Biol.* 2007; 5: e110.
49. Pearce VP, Sherrell J, Lou Z, Wright WE, Shay JW. Immortalization of epithelial progenitor cells mediated by resveratrol. *Oncogene.* 2008; 27(17): 2365-2374.
50. Rodríguez L, Hernández E, Reyes JA. El ciclo celular: características, regulación e importancia en el cáncer. *Biotecnología Aplicada.* 2004; 21(2): 60-69.
51. Röth A, Harley CB, Baerlocher GM. Imetelstat (GRN163L) – Telomerase-based cancer therapy. *Small Molecules in Oncology.* 2009; 184: 221-234.
52. Saltman D, Morgan R, Cleary M y cols. Telomeric structure in cell with chromosome end associations. *Chromosoma.* 1993; 102(2): 121-128.
53. Shay JW, Wright WE. Telomerase: a target for cancer therapeutics. *Cancer Cell.* 2002; 2(4): 257-265.
54. Simon NM, Walton ZE, Prescott J, Hoge E, Keshaviah A y cols. Telomere length and telomerase in a well characterized-sample of individuals with mayor depressive disorder compared to controls. *Psychoneuroendocrinology.* 2015; 58: 9-22.
55. Sprouse AA, Steding CE, Herbert BS. Pharmaceutical regulation of telomerase and its clinical potential. *Journal of Cellular and Molecular Medicine.* 2011; 16(1): 1-7.
56. Spyridopoulos I, Haendeler J, Urbich C, Brummendorf TH, Oh H y cols. Statins enhance migratory capacity by upregulation of the telomere repeat binding factor TRF2 in endothelial progenitor cells. *Circulation.* 2004; 110: 3136-3142.
57. Tchkonina T, Zhu Y, Van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest.* 2013; 123(3): 966-972.
58. Thomas M, Yang L, Hornsby PJ. Formation of functional tissue from transplanted adrenocortical cells expressing telomerase reverse transcriptase. *Nat Biotechnol.* 2000; 18: 39-42.
59. Townsley DM, Dumitriu B, Young NS. Bone marrow failure and the telomeropathies. *Blood.* 2014; 124(18): 2775-2783.
60. Ugel S, Scarselli E, Iezzi M, Mennuni C, Pannellini T y cols. Autoimmune B-cell lymphopenia after successful adoptive therapy with telomerase-specific T lymphocytes. *Blood.* 2010; 115: 1374-1384.
61. Van Steensel B, De Lange T. Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. *Nature.* 1997; 385(6618): 740-743.
62. Von Zglinicki T. Role of oxidative stress in telomere length regulation and replicative senescence. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2000; 908(1): 99-110.

63. Watson JD, Crick F. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953; 171(4356): 737–738.
64. Weinberg RA. The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell*. 1995; 81: 323-330.
65. Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Developmental Genetics*. 1996; 18: 173-179.
66. Wolkowitz OM, Mellon SH, Epel ES, Lin J, Dhabhar FS y cols. Leukocyte telomere length in mayor depression: correlations with chronicity, inflammation and oxidative stress- preliminary findings. *Plos One*. 2011; 6(3): e17837.
67. Wu RA, Upton HE, Vogan JM, Collins K. Telomerase mechanism of telomere synthesis. *Annu Rev Biochem*. 2017; 86: 4.1-4.22.
68. Yang J, Chang E, Cherry AM, Bangs CD, Oei Y y cols. Human endothelial cell life extension by telomerase expression. *The Journal of Biological Chemistry*. 1999; 274: 26141-26148.
69. Yu WY, Chang HW, Lin CH, Cho CL. Short telomeres in patients with chronic schizophrenia who show a poor response to treatment. *J Psychiatry Neurosci*. 2008; 33(3): 244-247.
70. Zhang CP, Fu XB. Therapeutic potential of stem cells in skin repair and regeneration. *Chin J Traumatol*. 2008; 11(4): 209-221.
71. Zhou C, Gehrig PA, Whang YE, Boggess JF. Rapamycin inhibits telomerase activity by decreasing the hTERT mRNA level in endometrial cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2003; 2: 789-795.
72. Zhou QG, Hu Y, Wu DL, Zhu LJ, Chen C y cols. Hippocampal telomerase is involved in the modulation of depressive behaviors. *J Neurosci*. 2011; 31(34): 12258-12269.
73. Zhu H, Blecher M, Van der Harst P. Healthy aging and disease: role for the telomere biology? *Clin Sci*. 2011; 120: 427-440.