

## Telómeros y Telomerasa: breve recuento de una historia iniciada por Hermann Müller y Bárbara McClintock

LILIAN CHUAIRE, M.Sc.\*

### RESUMEN

¿Cuál es la naturaleza del reloj biológico que determina el envejecimiento de las células? ¿De qué manera se explica la génesis de las enfermedades asociadas con el envejecimiento? Las anteriores son sólo algunas de las preguntas cuya respuesta puede ser hallada en el marco del *modus operandi* de la dupla telómeros-telomerasa, convertida en objeto de estudio para un sinnúmero de hombres y mujeres de ciencia, desde los pioneros Hermann Müller y Bárbara McClintock hasta los más recientes Jack Szostak, Elizabeth Blackburn y Carol Greider, entre otros.

*Palabras clave:* Relojes biológicos; Investigadores; Historia.

*Telomere and Telomerase: Brief review of a history initiated by Hermann Müller and Barbara McClintock*

### SUMMARY

What is the nature of the biological clock that determines the cells aging? What is the way to explain the genesis of diseases associated in aging? The above are only some of the questions whose answer could be found within the *modus operandi* frame of the telomere-telomerase pair, which had become in objective of study for a number of science men and women since the pioneers Hermann Müller and Barbara McClintock, until the most recent Jack Szostak, Elizabeth Blackburn and Carol Greider, among others.

*Keywords:* Biological clocks; Research personnel; History.

Cuando en 1938, el joven genetista norteamericano Hermann J. Müller trabajaba en el Instituto de Genética Animal de Edimburgo (Reino Unido) con moscas de la especie *Drosophila melanogaster* expuestas a rayos X, no alcanzó a vislumbrar la trascendencia que más adelante tendrían sus hallazgos en el campo de la biología molecular y de la genética. Acababa de observar que en los extremos de los cromosomas irradiados, a diferencia del resto del genoma, no había cambios como deleciones o inversiones, gracias a la presencia de un casquete protector que él mismo inicialmente llamó «gen terminal» y después «telómero», del griego «telos» (fin) y «meros» (parte)<sup>1</sup>.

Dos años más tarde, Bárbara McClintock, investigadora de la Universidad de Missouri (Columbia, Missouri), que se dedicaba al estudio de la genética del maíz (*Zea mays*), describió cómo la ruptura de los cromosomas resultaba en adhesión y fusión de sus extremos, con la consecuente formación de cromosomas dicéntricos. Demostró

que a pesar del daño, los extremos se podían restaurar gracias a la adquisición de nuevo telómero. Según sus conclusiones, los telómeros jugaban un papel crucial en la integridad de los cromosomas, pues prevenían la aparición de ciclos de «ruptura-fusión-puente», catastróficos para la supervivencia celular<sup>2</sup>.

El término «telómero» acuñado por Müller tuvo en apariencia carácter premonitorio: aunque todo apuntaba hacia un futuro inmediato promisorio, el escepticismo predominante en la época hacia lo que tuviera relación con el campo de la genética, hizo que la investigación sobre la importancia de los extremos de los cromosomas en la replicación y la integridad de la célula cesara abruptamente. No se reanudó sino 30 años después cuando comenzaron a ser develados los mecanismos subyacentes a la replicación del ácido desoxirribonucleico (ADN), hecho donde el trabajo de James Watson (el mismo que describió la estructura doble helicoidal del ADN) revistió una singular

\* Profesora Principal, Escuela Ciencias de la Salud, Universidad del Rosario, Bogotá DC, Colombia.  
e-mail: lchuaire@urosario.edu.co

Recibido para publicación agosto 28, 2005 Aceptado para publicación septiembre 8, 2006

importancia. Él identificó el «problema de la replicación terminal», consistente en la incapacidad de las células para copiar por completo los extremos del ADN lineal. Postulaba Watson que, por las especiales características en la síntesis de la cadena rezagada del ácido nucleico, que hacen que la ADN polimerasa no pueda replicar por completo su extremo 3', los telómeros y por tanto los cromosomas se acortaban. Propuso además la existencia de un mecanismo de protección para prevenir el acortamiento cromosómico<sup>3</sup>.

Por la misma época, Alexsei Matveevich Olovnikov, un desconocido científico ruso, halló el eslabón entre el problema de la replicación terminal -enunciado por Watson- y la senescencia celular, a su vez previamente descrita por Leonard Hayflick. Según Hayflick y Moorhead<sup>4</sup>, la senescencia correspondía a un estado de detención de la proliferación, al que ingresaban las células somáticas humanas con signos de alteraciones bioquímicas y morfológicas como producto de haber sobrepasado su capacidad límite de división.

Para Olovnikov, el problema de la replicación terminal era la causa del acortamiento progresivo de los telómeros, que a su vez, actuaba como un reloj interno para determinar el número de divisiones que la célula podía experimentar a lo largo de su existencia y, por ende, para controlar el proceso de envejecimiento<sup>5,6</sup>. El modelo propuesto demostró tener una impresionante exactitud; en la actualidad se acepta no sólo que el acortamiento telomérico es la principal causa de la senescencia celular, sino que en realidad el reloj molecular cuenta el número de ciclos que la célula puede soportar<sup>7</sup>.

Al igual que James Watson, Aleksei Olovnikov pensaba que la célula poseía una estrategia para mantener la longitud telomérica durante la replicación normal del ADN. No tardó mucho tiempo en descubrirse que esa estrategia tenía nombre propio. Era la telomerasa, enzima transcriptasa reversa, en cuyo descubrimiento jugó más tarde un papel crucial Elizabeth Blackburn, investigadora oriunda de Tasmania.

Blackburn y Joseph Gall, biólogo de la Universidad de Yale iniciaron en 1975 su trabajo con *Tetrahymena thermophila*, protozoo ciliado que, a diferencia de otros organismos eucariotas, posee además de un micronúcleo con los cromosomas normales, un macronúcleo donde se encuentran cromosomas fragmentados en múltiples segmentos pequeños de ADN con el mismo gen codificante para ARN ribosomal. Fue entonces posible determinar la

secuencia del ADN<sub>r</sub> extracromosómico en cuyos extremos aparecieron múltiples repeticiones del hexanucleótido CCCCAA, que también se encontraron en el micronúcleo<sup>8</sup>. Sin embargo, el hallazgo trajo consigo dudas: ¿se trataba acaso de una rara propiedad de un gen extracromosómico en un organismo ciliado que además no formaba parte de la línea evolutiva principal eucariota? ¿o era quizá una auténtica secuencia telomérica?

La cuestión quedó sin resolverse hasta que Blackburn decidió asociarse con Jack Szostak, biólogo molecular y genetista de la Escuela de Medicina de Harvard, en unión ciertamente venturosa que por último condujo al descubrimiento de las secuencias teloméricas y de la enzima que las sintetiza. El trabajo de Szostak, infructuoso hasta ese momento, consistía en construir cromosomas artificiales que permitieran clonar grupos grandes de genes humanos en una sola molécula lineal de ADN de levadura como vector. Los resultados fueron desalentadores, por cuanto los cromosomas así generados eran inestables y no se replicaban, debido quizá a la carencia de telómeros. Pero cuando Szostak decidió probar si las secuencias repetitivas descubiertas por Blackburn y Gall podrían actuar como telómeros en su experimento con *Saccharomyces cerevisiae*, los resultados fueron contundentes: los plásmidos lineales de la levadura -ensamblados a partir del vector y de los extremos teloméricos del ADN<sub>r</sub> de *T. thermophila*- se replicaron de manera estable. Blackburn y Szostak concluyeron que si la levadura era capaz de reconocer y utilizar tales extremos propios de un organismo tan distante evolutivamente, este hecho constituía evidencia razonable acerca de la alta conservación evolutiva de los mecanismos de replicación de los telómeros. El hallazgo estaba ligado a otro no menos importante: cuando mediante mapas de restricción y ensayos de hibridización analizaron los extremos del ADN<sub>r</sub> de *T. thermophila*, así como los fragmentos de levadura que suponían podrían actuar como telómeros, encontraron que las secuencias teloméricas eran comunes a ambos organismos<sup>9,10</sup>. Por otra parte, los plásmidos replicados tenían una mayor longitud, explicable si se consideraba que la estrategia de las células de levadura quizás consistía en añadir nuevas secuencias repetitivas a los extremos de las secuencias repetitivas de *T. thermophila*. Así, Blackburn y Szostak sugirieron que la elongación de los telómeros se debía a la actividad de una enzima desconocida que sintetizaba telómero, después llamada telomerasa<sup>11</sup>.

Habían creado pues Blackburn y Szostak no sólo el

primer ensayo funcional para telómeros del que se tenga noticia, sino también sentado las bases para la ulterior construcción de los primeros cromosomas artificiales de levadura, los famosos YACs<sup>12</sup>, que se emplearon más adelante en el desarrollo del Proyecto Genoma Humano, con el objeto de clonar segmentos grandes de ADN humano, que se pudieran secuenciar posteriormente<sup>13,14</sup>.

Sin contar aún con una explicación satisfactoria para aclarar la verdadera razón por la que los plásmidos replicados en su trabajo con Szostak tuvieron una mayor longitud, Elizabeth Blackburn y su estudiante Carol Greider emprendieron años más tarde en la Universidad de California el memorable trabajo que las llevó a proponer la existencia de una actividad enzimática a la que no dudaron en llamar «transferasa telómero terminal», en realidad la misma telomerasa. Utilizaron extractos de células de *T. thermophila* y primers o cebadores sintéticos constituidos por secuencias idénticas a las presentes en los telómeros de células de levadura y de *T. thermophila*. Sus resultados demostraron la síntesis *de novo* de las repeticiones en tándem TTGGGG, que se añadían a los oligonucleótidos iniciadores de la elongación, gracias a la actividad de la nueva enzima por ellas descrita<sup>15</sup>.

Los resultados obtenidos por Blackburn y Greider<sup>15</sup> marcaron un hito en la investigación de la biología de los telómeros, pues dilucidaron la aparente contradicción entre dos hechos comprobados de manera irrefutable: primero, el acortamiento progresivo de los telómeros durante cada división celular y segundo su replicación, proceso que ocurre en forma independiente a la del resto del ADN cromosómico. Mientras el ADN no telomérico utiliza para su replicación la enzima ADN polimerasa, el ADN de los telómeros se vale de un templete constituido por ARN que adiciona nuevas repeticiones teloméricas. Éste forma parte integral de la molécula de telomerasa y es en realidad el molde sobre el que se genera la copia del telómero, en un proceso denominado transcripción reversa. Además de la subunidad ARN (TR), la telomerasa presenta una subunidad catalítica (TERT). Ausente o poco expresada en las células somáticas, la telomerasa se encuentra en las células embrionarias, las germinativas (ovogonias y espermatogonias), así como en la mayoría de las células transformadas (líneas celulares inmortalizadas y células cancerosas), donde contrarresta el problema de la ausencia de replicación en los extremos teloméricos<sup>16,17</sup>.

En la actualidad se acepta que la longitud de los telómeros y la expresión de la enzima telomerasa varían

considerablemente con la edad y con el tipo celular, lo que ha justificado su utilización como biomarcadores que permitan evaluar la historia y el potencial replicativo en tejidos y en grupos etáreos diferentes. Así, en la mayoría de éstos, ha sido posible identificar un patrón aproximado de dinámica telomérica y de expresión de telomerasa. Al respecto, es interesante resaltar que en la génesis de ciertas entidades como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad coronaria y el cáncer, entre otras<sup>16-22</sup>, juega un papel clave la diferencia entre la edad biológica (predicha con base en la longitud telomérica) y la edad cronológica. Por otra parte, la expresión de la telomerasa se ha asociado mediante sólida evidencia, con la oncogénesis y con la inmortalización celular, razones poderosas que han servido para proponerla no sólo como elemento diagnóstico sino además como blanco terapéutico en el tratamiento del cáncer<sup>23</sup>.

En las células normales, el acortamiento que sufren los telómeros durante la división celular constituye un mecanismo supresor tumoral que «obliga» a que las células salgan del ciclo celular y entren en un estado irreversible de senescencia<sup>24</sup>, donde cesan de dividirse y finalmente mueren. No obstante, en el proceso de transformación tumoral, la senescencia es también un importante factor de riesgo<sup>25,26</sup>: existe amplia evidencia que demuestra que puede ser eludida por célula con telómeros cortos que han comenzado a expresar telomerasa. En este caso, la célula «fugitiva» adquiere un nuevo status, pues se transforma no sólo en maligna, sino además en inmortal, gracias a la acción estabilizadora que la enzima ejerce sobre los telómeros<sup>27</sup>. Pero la senescencia no es sólo un estado de detención del crecimiento celular: también implica cambios en la expresión de ciertos genes y torna las células resistentes a la apoptosis<sup>25,28</sup>. Esto explica por qué las células senescentes pueden acumularse en los tejidos y contribuir así tanto al proceso de envejecimiento, como a la génesis de las enfermedades asociadas. Cuando esto ocurre, se manifiestan alteraciones patológicas hiperplásicas o premalignas, lo que favorece la teoría que propone el desarrollo del cáncer como dependiente de la edad, quizá debido a la suma de múltiples mutaciones<sup>29,30</sup>. Así pues, la senescencia ejerce un efecto protector contra el cáncer a edades tempranas mientras que, a mayores edades promueve el fenotipo típico del envejecimiento<sup>25</sup>.

No deja de sorprender que mecanismos supresores tumorales como el acortamiento telomérico y por ende la senescencia, puedan estimular el desarrollo del cáncer en

las etapas tardías de la vida. Esta aparente paradoja ha llevado en la última década a que muchos hombres y mujeres de ciencia escudriñen en el dúo telómeros-telomerasa, con el fin de descubrir la hasta ahora oculta clave de la inmortalidad o bien, de develar el secreto de la malignidad que tan celosamente guarda.

## REFERENCIAS

- Müller HJ. The remaking of chromosomes. *Collecting Net* 1938; 13: 181-198.
- McClintock B. The stability of broken ends of chromosomes in *Zea mays*. *Genetics* 1941; 26: 234-282.
- Watson JD. Origin of concatemeric T7 DNA. *Nat New Biol* 1972; 239: 197-201.
- Hayflick L Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961; 25: 585-621.
- Olovnikov AM. Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides. *Dokl Akad Nauk SSSR* 1971; 201: 1496-1499.
- Olovnikov AM. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol* 1973; 41: 181-190.
- Wright WE, Shay JW. Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: the essential role of counting. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 98-103.
- Yao MC, Blackburn E, Gall J. A hexanucleotide of Tetrahymena rDNA is present elsewhere in the genome and may be related to the alteration of the somatic genome. A hexanucleotide of Tetrahymena rDNA is present elsewhere in the genome and may be related to the alteration of the somatic genome. *J Cell Biol* 1981; 90: 515-520.
- Szostak JW, Blackburn EH. Cloning yeast telomeres on linear plasmid vectors. *Cell* 1982; 29: 245-255.
- Birmingham K, Elizabeth Blackburn. *Nature Med* 2001; 7: 520.
- Shampay J, Szostak JW, Blackburn EH. DNA sequences of telomeres maintained in yeast. *Nature* 1984; 310: 154-157.
- Brown WRA. Molecular cloning of human telomeres in yeast. *Nature* 1989; 338: 774-776.
- Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001; 291: 1304-1351.
- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409: 860-921.
- Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell* 1985; 43: 405-413.
- Wai LK. Telomeres, telomerase and tumorigenesis. A review. *Med Gen Med* 2004; 6: 19.
- Polychronopoulou S, Koutroumba P. Telomere length and telomerase activity: variations with advancing age and potential role in childhood malignancies. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26: 342-350.
- Bischoff C, Petersen HC, Graakjaer J, Andersen-Ranberg K, Vaupel JW, Bohr VA, Kølvrå S, et al. No association between telomere length and survival among the elderly and oldest old. *Epidemiology* 2006; 17: 190-194.
- Jenkins EC, Velinov MT, Ye L, Gu H, Li S, Jenkins Jr. EC, et al. Telomere shortening in T lymphocytes of older individuals with Down syndrome and dementia. *Neurobiol Aging* 2006; 27: 941-945.
- Tristano A, Chollet ME, Willson ML, Adjounian H, Correa MF, Borges A. Actividad de la telomerasa en leucocitos de sangre periférica de pacientes con hipertensión arterial esencial. *Med Clin (Barc)* 2003; 120: 365-369.
- Brouillette S, Singh RK, Thompson JR, Goodall AH, Samani NJ. White cell telomere length and risk of premature myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 842-846.
- Wu X, Amos CI, Zhu Y, Zhao W, Grossman BH, Shay JW, et al. Telomere dysfunction: A potential cancer predisposition factor. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1211-1218.
- Mu J, Wei LX. Telomere and telomerase in oncology. *Cell Res* 2002; 12: 1-7.
- Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9363-9367.
- Campisi J. Aging, tumor suppression and cancer: High-wire act! *Mech Ageing Dev* 2005; 126: 51-58.
- Wright WE, Shay JW. Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: the essential role of counting. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 98-103.
- Blasco MA. Mammalian telomeres and telomerase: why they matter for cancer and aging. *Eur J Cell Biol* 2003; 82: 441-446.
- Krtolica A, Campisi J. Cancer and aging: a model for the cancer promoting effects of the aging stroma. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34: 1401-1414.
- Campisi J. Cancer and ageing: rival demons? *Nature Rev Cancer* 2003; 3: 339-349.
- Campisi J. Cellular senescence and apoptosis: how cellular responses might influence ageing phenotypes. *Exp Gerontol* 2003; 38: 5-11.

