

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
CIEGO DE AVILA**

**Telomerasa. Enzima del futuro.  
Telomerasa. Enzyme of the future.**

Isnais Luna Rodríguez(1), Odania Mondeja Ortiz(2), Maritza Roque Tarife(3)

**RESUMEN**

El cáncer constituye una de las primeras causas de muerte en el mundo. Unos de los mayores desafíos de la medicina moderna es encontrar un tratamiento efectivo para esta enfermedad. Sin embargo el desconocimiento que ha existido acerca de su causa a nivel molecular ha impedido el desarrollo de estrategias terapéuticas. En estos momentos se vislumbran elementos esperanzadores debido a los avances obtenidos en la genética molecular y en técnicas como el ADN recombinante. El descubrimiento de la enzima telomerasa y su expresión diferencial en las células cancerosas la convierten en un blanco extremadamente atractivo para el desarrollo de estrategias terapéuticas. Por la importancia del tema y su actualidad a través de un trabajo bibliográfico referativo se interpretan los hallazgos más recientes sobre los mecanismos moleculares de regulación de la actividad de las telomerasas y su aplicación en el tratamiento del cáncer.

**Palabras clave:** TELOMERASA/enzima, CÁNCER/terapia.

1. Profesor Asistente de Bioquímica.
2. Profesor Instructor de Morfología Humana.
3. Profesor Instructor de Enfermería.

**INTRODUCCION**

El tratamiento efectivo del cáncer permanece aun como uno de los mayores desafíos de la medicina moderna. El cáncer sigue teniendo, tanto en el ámbito medico como popular, un funesto prestigio de enfermedad terrible. Esta imagen se fundamenta en su elevada letalidad, en su rápida y habitual evolución fatal, y en los aun limitados recursos terapéuticos disponibles para curarlo. La razón fundamental de esa limitación está dada por el desconocimiento que ha existido acerca de las causas a nivel molecular, de esta enfermedad. Sin embargo en las últimas décadas han comenzado a descubrirse algunos elementos esperanzadores, debido al desarrollo de la moderna tecnología de la genética molecular, que ha permitido el conocimiento de algunos mecanismos moleculares implicados en la génesis del cáncer.

En estos momentos está claro que la enzima telomerasa facilita la inmortalidad de las células en la mayoría de los tipos de cáncer permitiendo que estas se multipliquen de forma incontrolada, además se ha observado que existen una expresión diferencial entre las células cancerosas y las normales, esto convierte a las telomerasas en un blanco extremadamente atractivo para el desarrollo de estrategias terapéuticas contra el cáncer.

Por la importancia del tema y su actualidad este trabajo se propone interpretar a través de una revisión bibliográfica los hallazgos más recientes sobre los mecanismos moleculares de regulación de la actividad de las telomerasas.

## DESARROLLO

### TELOMERO: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN.

Por varios métodos genéticos se ha determinado que la célula humana contiene aproximadamente de 70000 – 100000 genes. Sin embargo el genoma haploide de una célula somática contiene aproximadamente  $3,5 \times 10^9$  pb. Si todo el genoma codificara proteínas, de aproximadamente 500 a cada uno, podrían sintetizarse más de 1000000 de proteínas teniendo en cuenta estas consideraciones se ha demostrado que solo aproximadamente el 10% del ADN contiene información para la síntesis de moléculas específicas. Por lo que la mayor parte del ADN está implicado en los mecanismos de regulación de la expresión genética o en otras funciones, muchas de ellas desconocidas.

Entre las secuencias nucleotídicas no codificantes se encuentran:

Los centrómeros que son los puntos de unión de los cromosomas.

Los telómeros que se localizan en los extremos de los cromosomas eucariontes.

Los telómeros fueron identificados por: H.J. Muller durante la década de los años 30. Desde entonces se ha profundizado extraordinariamente en el conocimiento de estas estructuras, gracias a la introducción de las modernas tecnologías de la genética molecular.

Un resumen de los principales trabajos realizados en los primeros años de aplicación de estas técnicas fueron publicados en 1984 por Blackburn y S. Zastack.

En los mamíferos los telómeros se presentan formando nucleosomas hacia la zona más externa, a diferencia de los ciliados cuyos cuerpos macronúcleos pueden contener de 40000 a 1000000 de telómeros. Esto evidencia que existen diferencias estructurales de diferentes especies. Sin embargo los telómeros son esenciales para la vida de las células ya que participan en funciones celulares tan importantes como:

Garantizan la integridad y estabilidad del ADN (Protegen los extremos de los cromosomas de la adhesión y de la recombinación con otras secuencias nucleotídicas, evitando fusión cromosómica).

Participan en la meiosis (Permiten el apareamiento de los cromosomas homólogos y el entrecruzamiento durante la profase de la meiosis 1).

Participan en la mitosis formando secuencias expandibles al final de cada cromosoma durante la replicación semiconservativa del ADN.

Sirven como reloj metálico que mide y regula el número de divisiones celulares.

### REGULACIÓN DE LA PROLIFERACIÓN CELULAR DE LOS TELOMEROS

El conocimiento de la estructura y función de los telómeros plantearon nuevos problemas a la ciencia moderna entre ellos están dilucidar los mecanismos moleculares que vinculan los telómeros con la regulación de la proliferación celular en lo cual se ha trabajado en los últimos años.

Las células somáticas están limitadas en el número de divisiones mitóticas, esto ha llevado a los científicos a postular que los telómeros pudieron actuar como un reloj mitótico que mide y regula el número de divisiones celulares.

Esto llevó a otros investigadores a realizar un experimento en el cual células cultivadas fueron inducidas a dividirse por encima del límite de HAYFLICK por la expresión de oncogénesis. Durante este proceso de oncogénesis se demostró que los telómeros continúan acortándose con cada división y en cierto punto las células entran en una crisis donde la mayoría de las células mueren debido a la fusión cromosómica y/o ruptura cromosómica provocándose

aberraciones cromosómicas y apoptosis. Los clones que emergen de esta crisis expresan la enzima telomerasa.

Una vez activada esta enzima se mantiene la longitud del telómero compatible con la proliferación celular, por lo que se inmortalizan las células cancerosas.

## TELOMERASA. ESTRUCTURA Y FUNCION

Los primeros estudios sobre las telomerasas comenzaron en 1990 por Rufer y colaboradores, desde entonces se realizan grandes esfuerzos para el conocimiento de su estructura y de los mecanismos que regulan su actividad en las células. Debido a su relación con enfermedades proliferativas especialmente el cáncer.

La telomerasa es una ribonucleoproteína que consiste en un componente de ARN denominado HTR human telomerase RNA este consiste en una cadena molde de ARN que sirve para la síntesis del ARN telomérico y en una subunidad proteica con funciones catalíticas y que actúan como una transcriptasa inversa semejante a la transcriptasa inversa viral denominada HTERT human telomerase inverse transcriptase

Estos dos componentes son necesarios y suficientes para la actividad de la telomerasa in vitro, aunque en el 2002 Bachan y colaboradores y Mosutomi y colaboradores, demostraron que varias moléculas adicionales son necesarias para la actividad funcional de la telomerasa in vivo ya que estos componentes tienen un papel esencial en la regulación de actividad de esta enzima. Por ejemplo, la proteína TRF1, TRF2, tanquirasa, TIN2,RAP1, POT1 están involucrados en la interacción con el telómero y regulan la apertura y cierre del telómero permitiendo el acceso al telómero de otros complejos proteicos tales como las telomerasas.

Una variedad de proteínas y ribonucleoproteínas incluyendo HSP90 así como DKC1, L22, P23, GAR1, también participan en el ensamblaje de la telomerasa y facilitan la interacción de la telomerasa con el telómero, otras proteínas tales como MR11A, NBS1,KU70,KU80, DNAPK y ATM funcionan en la detección de telómeros cortos y disponen las vías de respuestas para la reparación de las secuencias teloméricas.

Por tanto la regulación de la actividad de la enzima in vivo es sumamente compleja, de igual modo, sucede con la regulación de la expresión genética de los genes que codifican para la síntesis de las subunidades enzimáticas

## MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA

Aunque la historia es tan larga como compleja en los últimos años se han podido dilucidar algunos mecanismos de regulación, los cuales convergen a través de diferentes vías modulando la actividad de la holoenzima.

Tanto en las células normales como cancerosas estos mecanismos regulan la actividad funcional de la telomerasa. La complejidad de estos mecanismos de regulación permiten diseñar estrategias terapéuticas contra enfermedades proliferativas como el cáncer.

Estos mecanismos de regulación son capaces de modificar la actividad enzimática en repuestas a cambios que se producen en el medio interno variando la capacidad funcional de la enzima.

Existen dos mecanismos moleculares básicos.

LA regulación de la expresión genética, que modifica la cantidad de enzima a sintetizar a través de mecanismos de inducción y represión genética y la modificación cualitativa de la enzima, a través de mecanismos moleculares como la regulación covalente que varía el status de fosforilación de la enzima, aumenta o disminuye la actividad enzimática y la regulación alostérica que modifica la conformación de la enzima variando la actividad enzimática. En la enzima telomerasa no se ha estudiado este mecanismo de regulación.

Los niveles de regulación más estudiados en esta enzima son:

- El nivel transcripcional
- El nivel postranscripcional
- El nivel postraducciona

El nivel transcripcional es un factor determinante que regula el aumento de la actividad de la telomerasa en las células normales y cancerosas. Al permitir la expresión o no, de los genes específicos que forman el complejo enzimático.

Aunque falta mucho por aclarar, la clonación de las regiones promotoras de los genes que codifican para las subunidades principales de la telomerasa HTR y HTERT, han permitido la identificación de varios reguladores positivos y negativos de la actividad de la telomerasa. En este sentido han trabajado investigadores de EEUU, Inglaterra y Japón, entre ellos W. Recal Keith en el 2002, Alon Belalon y colaboradores en el 2003 y T. R. Jeffry Evons en el 2000

En el nivel postranscripcional uno de los enfoques más utilizados ha sido el de bloquear el funcionamiento del ARN mensajero de la subunidad HTR y HTERT de la telomerasa mediante el uso de ribozimas. Enzimas con actividad ribonucleasa contra secuencias trinucleotídicas preferentemente G, U, C.

Como el ARN mensajero de HTR y HTERT son ricos en esta secuencia, son un blanco directo para la acción de estas enzimas. Varios grupos han desarrollado ribozimas dirigidos contra estas secuencias. La facilidad de estas moléculas de inhibir la actividad de la telomerasa ha sido demostrado por Shay, J. W, y colaboradores en el 2002, Chiv, C.P y colaboradores en el 2003. En dos líneas de carcinoma endometrial. Sin embargo estos estudios no concluyeron sobre el efecto que tiene la inhibición de la telomerasa sobre la proliferación y la regulación de la longitud del telómero.

Estudios más recientes de Yokayama y colaboradores demostraron que el Splicing, corte y empalme del ARN mensajero de la subunidad catalítica de la telomerasa provoca la eliminación de dominios importantes para la actividad catalítica de la enzima.

Al nivel postraducciona se ha demostrado que aunque la enzima solo necesita dos subunidades para presentar actividad funcional in vitro, su actividad funcional está supeditada al ensamblaje del complejo telomérico. Algunos constituyentes de este complejo tienen función reguladora intrínseca entre ellos la proteína tanquirasa, que facilita el ensamblaje del complejo telomérico demostrándose que este es uno de los principales mecanismos de regulación

postraduccional implicados no sólo en la regulación de la enzima telomerasa, sino también de proteínas involucradas en los mecanismos de respuesta de daños del ADN.

El estudio de los mecanismos moleculares de regulación de la telomerasa plantea nuevos desafíos a la ciencia moderna, entre ellos:

- 1- Dilucidar los mecanismos moleculares que vinculan los telómeros con la regulación de la proliferación celular
- 2- Establecer los mecanismos que modulan la actividad de la enzima telomerasa.
- 3- Desarrollar estrategias terapéuticas que permitan la aplicación de los conocimientos moleculares en el tratamiento de enfermedades proliferativas (cáncer).

## **CONCLUSIONES**

- 1- Los telómeros actúan como un reloj mitótico que mide y regula el número de divisiones celulares.
- 2- La expresión de la enzima telomerasa provoca la inmortalidad de la célula cancerosa.
- 3- Los mecanismos de regulación de la actividad de la telomerasa in vivo se producen en niveles diferentes de regulación de la actividad enzimática.
- 4- La especificidad de los mecanismos de regulación de la telomerasa permiten el desarrollo de estrategias terapéuticas en enfermedades proliferativas, especialmente el Cáncer.

## **ABSTRACT**

The cancer constitutes one of the first causes of death in the world. Of the greater challenges of the modern medicine it is to find an effective treatment for this disease. Nevertheless the ignorance that has existed about its cause at molecular level has prevented the development of therapeutic strategies. At the moment hopeful elements due to the advances obtained in the molecular genetics and techniques like the recombinant DNA glimpse. The discovery of the enzyme telomerasa and its expression differential in the cancerous cells turn it an extremely attractive target for the development of therapeutic strategies. By the importance of the subject and its present time through a referative bibliographical work the most recent findings are interpreted on the molecular mechanisms of regulation of the activity of telomerasas and their application in the treatment of the cancer.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

1. Alon B. Of transcriptional regulatory sequences of telomerase (hTER and hTERT) for selective killing of cancer cells. *Mol Ther* 2003;2:539-544.
2. Blakburn SZ. Telomere dynamics and telomerase activity in in vitro immortalised human cells. *Eur J Cancer* 1997;33:767-773.
3. Cardenella L, Hernández R, Upmanno, Vicedo A, Pérez A, Sierra S et al. Editores. *Bioquímica Médica /s.d./*; 1999.
4. Keblusek P. Telomerase activity and immortalizes human cell. (en línea) 2000 (fecha de acceso 20 de marzo de 2005) URL disponible en: <http://www.molecular-telomerase.mtr.ger/GIB>.
5. Masutomi, K. Telomerase activity reconstituted in vitro with purified human telomerase reverse transcriptase and human telomerase RNA component. *J Biol Chem* 2002; 275: 22568-22573.
6. Recal K. Molecular modeling studies on G-quadruplex complexes of telomerase inhibitors: structure-activity relationships. *J Med Chem* 2002; 42: 4538-4546.

7. Robbins MD, Stanley V, Nay MD, Ranzinn S. Proteínas del shock térmico. En: Fredenrick J, editor. Proteínas. 6 ed. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana, 2000. p. 237-289.
8. Rufer Soder AI. Tumour specific regulation of telomerase RNA gene expression visualized by in situ hybridization. *Oncogene* 2002;16: 979-983.
9. Rufer N. Transfer of the human telomerase reverse transcriptase (TERT) gene into T lymphocytes results in extension of replicative potential. *Blood* 2001; 20:1342-56.
10. Smith CD, Blackburn EH. Uncapping and deregulation of telomeres lead to detrimental cellular consequences in yeast. *J Cell Biol* 2001;145: 203-2146.
11. Smith S. Tankyrase, a poly (ADP-ribose) polymerase at human telomeres. *Science* 1998; 282: 1484-1487.
12. Yokoyama Y. Attenuation of telomerase activity by a hammerhead ribozyme targeting the template region of telomerase RNA in endometrial carcinoma cells. *Cancer Res* 1998; 58: 5406-5410.
13. Welsh MJ, Ransey BW, Accurso F. Las bases moleculares de las enfermedades hereditarias. En: Welsh MJ, Ransey BW, Accurso F. *Genética Medica*. 8 ed. Madrid:Mc Graww Hill; 2000. p. 1543-1585.