

No todos los extremos son malos: el caso de los telómeros

Jorge M. Vázquez Ramos y Javier Plasencia de la Parra¹

ABSTRACT (Not all extremes are bad, the case of telomeres)

The Nobel Prize in Physiology and Medicine was given to Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider and Jack Szostak for their discovery of chromosomal telomeres and the mechanism by which the enzyme telomerase synthesizes and protects telomeres after each DNA replication cycle. This is a conserved mechanism in eukaryotic cells, which possess a true nucleus, and the length of telomeres and telomerase activity have important implications in ageing, degenerative diseases and cancer.

KEYWORDS: Nobel Prize, telomeres, telomerase, cancer, ageing

La replicación del ácido desoxirribonucleico (ADN) es un proceso fundamental pues permite la duplicación del material genético que precede a la división celular. Para que ocurra la duplicación de esta macromolécula, la doble hélice se debe abrir exponiendo la secuencia de bases de cada una de las cadenas. De esta manera, la cadena expuesta funciona como molde para la síntesis de una cadena complementaria en una reacción catalizada por ADN polimerasas. Estas enzimas solo sintetizan la macromolécula en dirección 5'—3' (el fosfato en 5' de un nucleótido reacciona con el -OH en 3' del nucleótido anterior formando un enlace fosfodiéster), pero como es sabido, la doble hélice está formada por dos cadenas antiparalelas, por lo que una de ellas tendrá dirección 5'—3' mientras que la dirección de la otra será 3'—5' y por lo tanto, la duplicación del ADN de la cadena 3'—5' ocurrirá de manera continua pues sigue la dirección de apertura de la cadena, mientras que la duplicación de la cadena 5'—3' ocurrirá de manera discontinua, mediante la constante adición de pequeños fragmentos, llamados de Okazaki. Otra limitación de las ADN polimerasas es que no pueden llevar a cabo la síntesis solamente a partir del ADN molde, sino que debe ser iniciada por otra enzima, una ADN primasa que sintetiza un cebador, que es un oligonucleótido de ARN que aporta un extremo 3'OH, el cual es extendido por la ADN polimerasa. Los cebadores de ARN tendrán que ser removidos en algún momento de los múltiples fragmentos de Okazaki que forman la cadena discontinua y los ribonucleótidos eliminados serán sustituidos por desoxinucleótidos por una ADN polimerasa; será entonces cuando estos fragmentos se unan covalentemente y la cadena de ADN incremente su tamaño. En el caso de una molécula de ADN circular covalentemente cerrada como el cromosoma proca-

riote, cuando las horquillas de replicación se encuentren en el polo opuesto al origen, habrá los extremos 3'OH en las cadenas correspondientes que permitirán la remoción de los últimos cebadores y el rellenado de los huecos producidos para finalmente sellar covalentemente las dos nuevas cadenas de ADN producidas (figura 1a).

En contraste, esto representa un paradigma para los cromosomas lineales eucariontes pues la remoción del cebador de ARN implica que la cadena se iría acortando al menos en un "tamaño" de cebador en cada generación, dado que las ADN polimerasas no pueden extender a partir del extremo 5' remanente (figura 1b). De esta manera podría ocurrir que eventualmente, después de muchas generaciones, ¡los cromosomas se recortaran tanto que no fueran ya funcionales! Sin

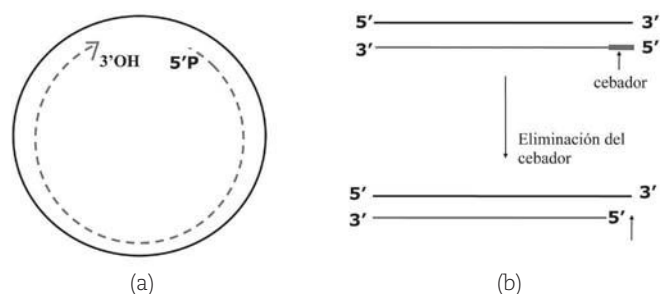


Figura 1. (a) Terminación de la replicación en procariontes. Después de la eliminación del cebador de ARN, dada la naturaleza circular del cromosoma procarionte, la cadena original funciona como molde para completar la síntesis de ADN a partir de la extensión del extremo 3'-OH remanente. (Nota: De hecho, la duplicación del ADN es bidireccional a partir del origen.) (b) Terminación de la replicación en eucariontes. La eliminación del cebador de ARN en los extremos de los cromosomas lineales eucariontes deja una cadena más corta que no puede ser extendida por ninguna ADN polimerasa.

¹ Facultad de Química, UNAM, Departamento de Bioquímica. Avenida Universidad y Copilco, México DF 04510, México.

embargo, en muchos tipos celulares, hay una alta tasa de división sin que ocurra acortamiento de los cromosomas. La solución de este paradigma fue el descubrimiento que les mereció el Premio Nobel de Fisiología y Medicina 2009 a Elizabeth Blackburn, Carol Greider y Jack Szostak: ¿Cómo evitan los cromosomas eucariontes la pérdida de su ADN después de cada duplicación? Los extremos de los cromosomas se llaman telómeros (unidades lejanas o extremas) y son secuencias de ADN de 6-8 pares de nucleótidos repetidas múltiples veces como lo demostró Blackburn en los años 70, trabajando con un protozoo presente en pozas de agua, *Tetrahymena thermophila*. El trabajo se extendió posteriormente al estudio de levaduras, donde unió fuerzas con Szostak, demostrando que las secuencias teloméricas de *Tetrahymena* protegen los extremos de los cromosomas de levadura. Actualmente se sabe que los cromosomas de todos los organismos eucariontes, incluidos humanos, poseen telómeros. Un telómero puede medir desde cientos hasta varios miles de pares de bases de largo y presentan una organización estructural muy compleja a la cual se unen muchas proteínas y partículas ribonucleoproteicas. Elizabeth Blackburn compara los telómeros con el plástico presente en los extremos de las agujetas de los zapatos, el que evita que las agujetas se deshilachen. Por las características de las secuencias teloméricas, una pregunta fundamental fue si éstas se sintetizan de la misma manera que cualquier otro ADN. La respuesta fue obtenida por Caroline Greider en 1984 cuando realizaba su tesis doctoral en el laboratorio de Elizabeth Blackburn. Aislaron y caracterizaron una enzima que es capaz de extender los telómeros y a la que llamaron telomerasa. Esta enzima tiene propiedades muy particulares y está formada por dos subunidades, la primera tiene actividad de ADN polimerasa que extiende el extremo 3'-OH de los telómeros y usa como molde a una molécula de

ARN que constituye la segunda subunidad de la telomerasa. El hecho de que el molde de ARN forme parte de la enzima y sea copiado en múltiples ocasiones explica la secuencia repetitiva de los telómeros (figura 2). Entonces la telomerasa es clasificada como una transcriptasa reversa ya que tiene actividad de ADN polimerasa que utiliza un molde de ARN.

Los telómeros y la telomerasa como relojes moleculares

Organismos unicelulares, e individuales, como levaduras y protozoarios, tienen como fin último una continua proliferación, y la cantidad y actividad de la telomerasa se conserva de generación en generación, manteniendo un cierto tamaño de telómero. Por otro lado, los eucariontes que forman tejidos, como los animales, no pueden permitir que sus células tengan como propósito fundamental la continua proliferación, dado que esto destruiría su programa morfogénico, esto es, la programación genética de la estructuración de un cuerpo. Las células de estos organismos, al especializarse, o diferenciarse, pierden la capacidad de proliferar. Es así interesante el que la actividad de telomerasa en las células de los eucariontes superiores se manifieste principalmente en las etapas fetales y desaparezca posteriormente, generalmente al poco tiempo después del nacimiento. Las células diferenciadas, como las neuronas, no tienen actividad de telomerasa y el tamaño de su telómero será sensiblemente menor. Esto indicaría que las divisiones celulares durante el crecimiento y maduración de los organismos ocurren en ausencia de actividad de telomerasa, implicando con esto que los telómeros se irán recortando gradualmente; se ha reportado que los telómeros sufren un acortamiento progresivo que varía entre 50 y 200 pares de bases en cada división celular, dictando así el número de divisiones celulares que puede tener una célula antes de entrar a la fase de senescencia. De hecho, el telómero es asemejado a un reloj molecular: las células podrán multiplicarse sólo un cierto número de veces, hasta que el tamaño de telómero sea tal que las células entren en un estado de crisis que indique que la vida útil de esa célula ha llegado a su fin y se entrará en un proceso de senescencia del que las células ya no podrán salir, provocando su muerte. Ahora bien, no todas las células en el humano pierden la telomerasa al nacer, dado que sistemas como el inmune y el hematopoyético, que continuamente están produciendo nuevas células, deben mantener una cierta actividad de la enzima.

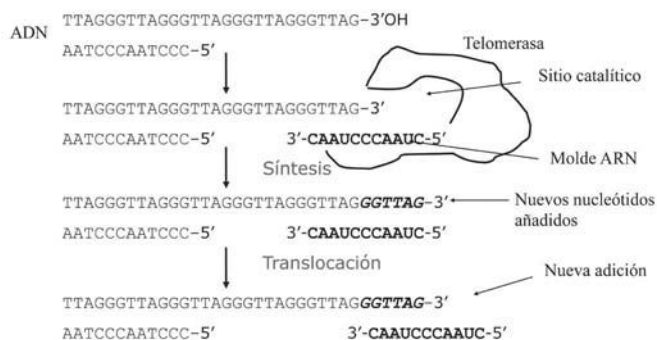


Figura 2. Actividad bioquímica de la telomerasa. La subunidad de ARN de la telomerasa contiene una secuencia corta complementaria a las repeticiones teloméricas que es usada por la enzima como molde y extiende el extremo 3'-OH del telómero. La enzima tiene una procesividad alta que le permite añadir muchas repeticiones al mismo sustrato de ADN a través de los ciclos de síntesis y translocación.

Enfermedades asociadas a los telómeros y telomerasa

El acortamiento de los telómeros provoca que éstos pierdan su capacidad de unir a una serie de proteínas que los protegen y de esta manera los extremos desnudos son reconocidos como regiones muy recombinogénicas, que pueden causar que los cromosomas, o partes de ellos se fusionen a otros cromosomas causando aberraciones cromosómicas que suelen ser letales, o bien crear síndromes fisiológicos muy complejos. Alternativamente, estos extremos pueden reconocerse como

zonas dañadas de ADN que pueden activar eventos de reparación. Esta respuesta podría acompañarse de la detención del ciclo celular y en casos extremos, de la activación del proceso de muerte celular llamado apoptosis. Esta pérdida de viabilidad de las células resalta una función importante de la telomerasa y de la longitud de los telómeros, y se ha asociado a la incidencia de enfermedades degenerativas en humanos, y de ahí el reconocimiento con el Premio Nobel en Fisiología y Medicina a un tipo de investigación básica que ha aportado muchas respuestas para explicar la fisiopatología de varias enfermedades así como del envejecimiento.

Concebir a la telomerasa y a los telómeros como un reloj molecular hizo abrigar esperanzas a los científicos preocupados por dos problemas medulares de los humanos: el envejecimiento y la aparición del cáncer. Ambos son contrastantes porque uno implica la pérdida de la capacidad de proliferación celular al entrar los organismos (y sus células) a una etapa irreversible de senescencia, mientras que el cáncer implica una capacidad irregular e irrefrenable de proliferación celular. ¿Y si se volviera a activar a la telomerasa en células que la perdieron? Quizás esto detendría, o por qué no, revertiría el proceso de envejecimiento. Y lo contrario, inhibir a la telomerasa en células cancerígenas quizás inhibiera la proliferación desregulada inherente al cáncer. Lo que parecía como el principio para obtener la fuente de la juventud eterna pronto se vio opacado por los resultados: sobreexpresar a la enzima telomerasa en células de ratones transgénicos pronto provocó que éstos fueran hipersensibles a agentes químicos y físicos que provocan daño al ADN y posteriormente cáncer. Por otra parte, tratar de controlar a las células cancerosas con agentes químicos que afectan principalmente a la acción de la telomerasa daña también de manera notable a los sistemas inmune y hematopoyético. Conclusión: se tiene aún que trabajar mucho para poder entender y regular el sistema.

En cuanto a la incidencia de enfermedades degenerativas en humanos se pueden mencionar a la disqueratosis y la anemia de Fanconi; éstas son dos tipos de anemia aplásica caracterizada por niveles bajos de células hematopoyéticas. Ambas enfermedades son congénitas y en el caso de la disqueratosis la patología se explica por una mutación en un gen que codifica una partícula ribonucleoproteica que se asocia con la telomerasa. Su ausencia provoca una reducción en la actividad de la telomerasa que se refleja en telómeros muy cortos en las células hematopoyéticas de los pacientes. En otra forma de disqueratosis se identificó una mutación en el gen de la subunidad de ARN de la telomerasa que es la que funciona como molde para la actividad de extensión del ADN por la enzima.

Otra asociación clínica de la telomerasa es el hecho de que esta enzima se encuentra en niveles elevados en el 85% de los distintos tipos de células cancerosas que incluyen varias clases de tumores. En los tejidos, estos niveles altos de telomerasa se localizan específicamente en las células tumorales y contrasta con los bajos niveles encontrados en los tejidos circundantes. A pesar de que esta activación de la telomerasa extiende la vida de las células cancerosas, no se considera un oncogen clásico pues no altera otras propiedades fenotípicas de las células que están asociadas con la regulación del crecimiento. Los niveles de telomerasa en fluidos biológicos funcionan como marcador diagnóstico para algunos tipos de tumores, mostrando una sensibilidad comparable a la de otros marcadores. Asimismo, se ha estudiado como factor de prognosis para pacientes con meningiomas y neuroblastomas, y se ha observado que una alta actividad de telomerasa correlaciona con un pobre pronóstico, mientras que una actividad baja predice un diagnóstico favorable.

Recientemente se ha trabajado en el desarrollo de terapias antitumorales más específicas. Una de las estrategias más prometedoras para este fin es el GRN163, que es un oligonucleótido N3' → P5' tiofosforamidato que contiene una secuencia complementaria a la de la subunidad de ARN de la telomerasa que funciona como molde. Esta molécula inhibe eficientemente la actividad de telomerasa provocando un acortamiento de los telómeros en las células cancerosas. Se han hecho modificaciones sobre esta molécula, como adición de un residuo de palmitato que facilita su penetración a las células. A pesar de que este fármaco es prometedor y se encuentra en las primeras fases de ensayos clínicos, no puede ser usado como primera línea de defensa contra tumores pues su efecto es retardado, ya que deben ocurrir varias divisiones de las células cancerosas para que se acorten los telómeros. Otra limitación de esta estrategia son los efectos secundarios del fármaco pues afectan la producción de células hematopoyéticas, por lo que se deberá definir la ventana terapéutica de este fármaco.

Otra estrategia que se ha explorado para manipular la longitud del telómero para retardar el envejecimiento y tratar enfermedades degenerativas relacionadas con el envejecimiento prematuro es la terapia génica. En distintos modelos celulares se ha demostrado que la sobreexpresión de la subunidad de transcriptasa reversa de la telomerasa humana puede extender la vida y función de los tejidos como el músculo esquelético, corazón, huesos y el tejido conectivo. El reto de esta estrategia, como en todo tipo de terapia génica, es la transformación eficiente y específica de los tipos celulares correctos para lograr el efecto terapéutico.