
ARTÍCULO DE REVISIÓN

El complejo proceso de la duplicación de los telómeros.

The complex process of telomeres replication.

Rolando A. Hernández Fernández.¹

Resumen

Introducción: Los telómeros constituyen estructuras nucleoproteínicas que forman los extremos de los cromosomas y son esenciales para la estabilidad de los mismos. Su duplicación durante el ciclo celular presenta grandes dificultades. Debido a esa complejidad se requiere el concurso de numerosas proteínas para que el proceso se lleve a cabo de forma eficiente y en un corto lapso de tiempo. **Objetivo:** Actualizar los conocimientos existentes en la literatura mundial acerca de la duplicación de los telómeros. **Método:** Se analizaron artículos de los últimos cinco años, disponibles en las bases de datos HINARI, PubMed y Perii y localizados mediante el sitio www.infomed.sld.cu. **Desarrollo:** Se comienza con el estudio de la estructura de los telómeros y de la telomerasa como la principal enzima del proceso. Se presenta una descripción detallada del proceso y se concluye con una referencia a las enfermedades producidas por fallas en el proceso. **Conclusiones:** Por la estructura peculiar de los telómeros y su importancia para la estabilidad genómica, el proceso de duplicación es de alta complejidad.

Palabras clave: Telómeros, telomerasa, duplicación de los telómeros, shelterinas, TERRA.

Abstract

Introduction: Telomeres are nucleoprotein structures at the end of chromosomes and they are essential for their stability. The process of their replication during cell cycle has a lot of difficulties. Because of this complexity, the process require a large number of proteins in order to carry out the duplication as efficiently as possible. **Objective:** To update the knowledge about telomere duplication. **Method:** Papers published during the last five years in national and international journals were analyzed. These articles are available in HINARI, PubMed, and Perii databases and were localized through www.infomed.sld.cu. **Main text:** First, the structure of telomeres and telomerase, the principal enzyme of this process, are presented. Last, the process of telomere replication is discussed and finally some aspects of telomeric diseases are described. **Conclusions:** The paper evidence that telomere replication is a real complex process.

Keywords: Telomere, telomerase, telomere replication, shelterins, TERRA.

¹ Profesor Titular. Especialista de Segundo Grado en Bioquímica Clínica. Departamento de Bioquímica. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Email: rolher@giron.sld.cu.

Introducción

A partir de 1960 los estudios sobre la duplicación del ADN avanzaron extraordinariamente. Sin embargo, al comenzar los estudios en las células eucariontes los científicos se tropezaron con un problema nuevo y singular. Los cromosomas de eucariontes son lineales. Esto dio lugar al llamado “problema de la duplicación de los extremos” propuesto por James Watson y Alexey Olovkinov.

La evolución de los cromosomas lineales de los eucariontes ha ocurrido a pesar de que esto plantea varios retos. En primer lugar, el mecanismo convencional de duplicación del ADN no puede copiar el extremo 3'-OH del ADN molde, lo cual conduce a la pérdida progresiva de material genético con cada proceso de duplicación. En segundo lugar, los extremos de los cromosomas se parecen a la roturas de la dos hebras que al ser reconocidos por la maquinaria molecular de la reparación conduciría a la fusión de los cromosomas. También los extremos del ADN son vulnerables a la acción destructiva de las nucleasas. La solución a esos problemas consistió en crear una estructura protectora de los telómeros, mediante la formación de estructuras secundarias peculiares del ADN y su asociación con proteínas específicas.

Hace 15 años publiqué un artículo sobre el tema donde se revisaron los incipientes conocimientos acerca de este mecanismo.¹ Desde entonces se han producido avances considerables en el conocimiento de los mecanismos moleculares de la duplicación de los telómeros que ameritan una nueva puesta al día sobre este tema tan complejo, apasionante y trascendente.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es describir los conocimientos actuales acerca del complejo proceso de duplicación de los telómeros. Para ello se hará especial referencia al proceso en los humanos.

Método

Se analizaron artículos de los últimos cinco años publicados en revistas nacionales y de circulación internacional, disponibles en las bases de datos HINARI, PubMed, Free Medical Journals y Perii y localizados mediante el sitio: www.infomed.sld.cu.

Desarrollo

Se comenzará por el estudio de la estructura de los telómeros y de la telomerasa como enzima clave en el mantenimiento de la estructura, después el proceso general de la duplicación y se finalizará con la presentación de algunas enfermedades en las cuales

se expresan anomalías en la estructura o duplicación de los telómeros.

Estructura de los telómeros

Los extremos de los cromosomas lineales de eucariontes, telómeros, son estructuras nucleoproteínicas altamente especializadas, esenciales para la estabilidad del genoma. En la década de los años treinta del siglo XX, H. Muller y B. McClintock reconocían que los telómeros debían tener como función sellar los extremos de los cromosomas. Los telómeros están formados por tres componentes, el ADN, las proteínas y el ARN teloméricos. Algunos autores al conjunto le denominan telomerosoma.

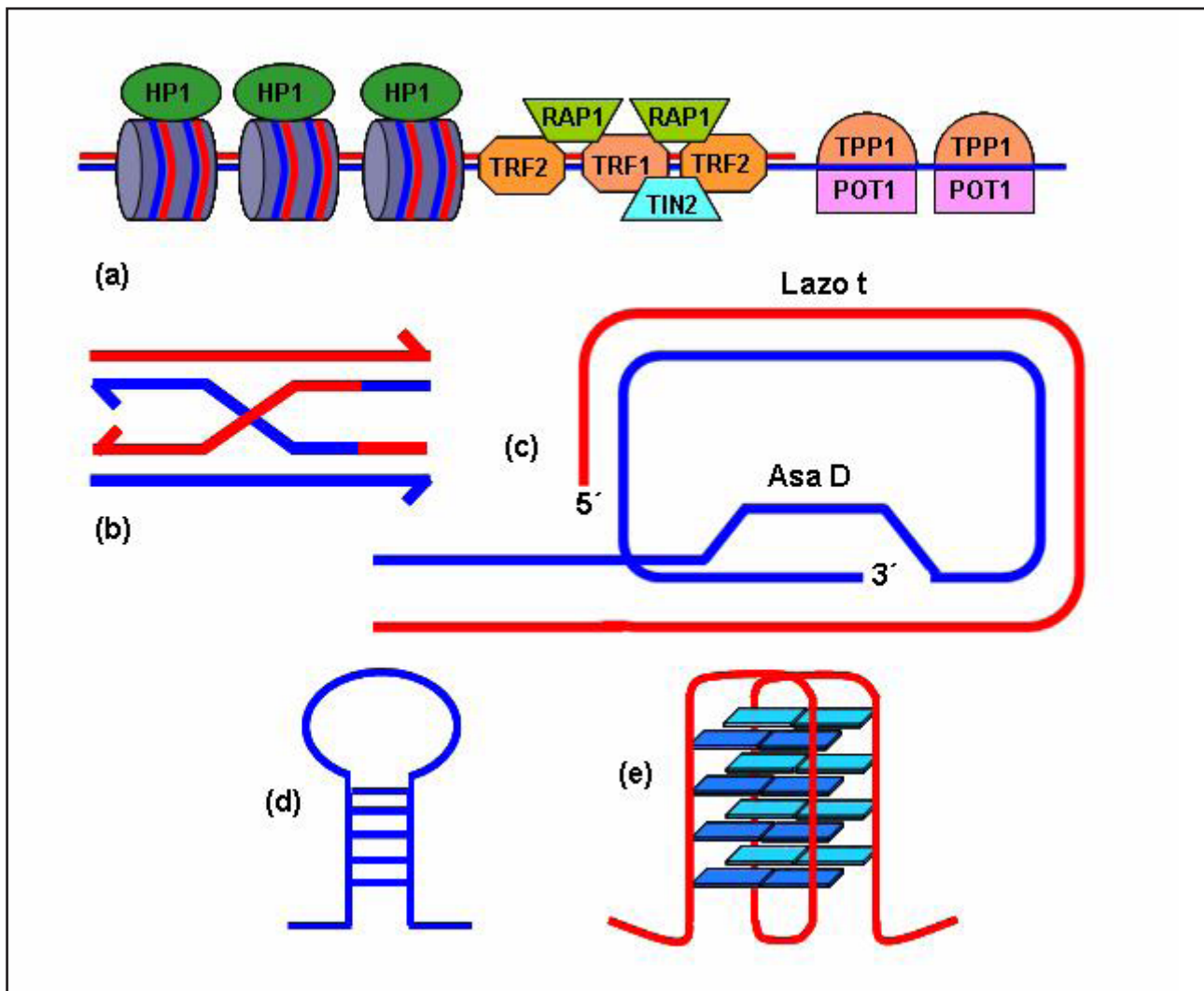
El ADN telomérico

En los telómeros el ADN se presenta en dos formas: la de doble hebra (ADNdc) y de cadena simple (ADNsc). En los humanos y otros vertebrados el ADNdc telomérico es un gran segmento de repeticiones en tándem de la secuencia 5'-TTAGGG-3'/5'-CCCTAA-3' con una extensión que varía de 2 a 50 kb. A la hebra rica en guanina se le denomina G y a la complementaria C. La hebra G se prolonga de 100 a 250 bases en forma de ADNcs.² La estructura de los telómeros se representa en la figura 1a.

Tanto en estado de reposo como durante el proceso de la duplicación el ADNcs puede formar diversas estructuras secundarias. Las más frecuentes de ellas es el lazo T (por Telomérico) y el asa D (por desplazamiento) (Figura 1c). Estas estructuras se forman cuando el ADNsc invade la doble hebra desplazando un segmento de ella y dando lugar a la formación de una estructura circular.² Otras estructuras secundarias frecuentes son las horquillas donde el ADNsc se pliega sobre sí mismo (Figura 1d) y los cuartetos G que se originan por el enfrentamiento de cuatro guaninas (Figura 1e). Por último la estructura de cuatro hebras similar al intermediario de Holliday durante la recombinación.² (Figura 1b).

En los mamíferos la mayor parte del ADN telomérico está organizado en nucleosomas muy empaquetados con un tamaño repetido que es ~40 pb más corto que el resto de los nucleosomas. Algunos de estos nucleosomas exhiben marcas de heterocromatina incluyendo sitios de unión a la proteína 1 de heterocromatina, HP1 (del inglés, Heterochromatin Protein-1) (Figura 1a). Además los telómeros humanos ejercen un efecto de posición sobre la expresión de los genes localizados en la región subtelomérica.³

Figura 1. Estructura de los telómeros.



En (a) se muestra la organización de los telómeros con las shelterinas asociadas. En (b) la estructura de cuatro hebras similar al intermediario de Holliday en la recombinación. En (c) aparece el círculo telomérico con sus características: el asa D y el lazo t. En (d) la estructura de un horquilla. En (e) la estructura de cuatro G.

Las proteínas teloméricas: las shelterinas.

El ADN telomérico está unido a un grupo especializado de proteínas protectoras que han sido llamadas colectivamente shelterinas (del inglés, shelter que significa amparo, protección, abrigo) algunas de las cuales reconocen al ADN de cadena simple y otras el de cadena doble.⁸ Este complejo nucleoproteínico protege el extremo de los cromosomas de ser identificado como una rotura de doble hebra. En la figura 1a se muestra un esquema de la estructura de los telómeros con las shelterinas asociadas.

Entre las shelterinas se incluyen los factores 1 y 2 de unión a repeticiones teloméricas, TRF1 (del inglés, Telomere Repeat binding Factor 1), TRF2, que se

unen a las repeticiones en el ADNdc y la proteína 1 represora/activadora, RAP1 (del inglés, Repressor/Activator Protein 1) que estabiliza la unión de TRF1 y TRF2 al ADNdc. Además TRF1 y TRF2 participan en procesos de remodelación y protección contra las uniones de Holliday, mientras que Rap1 inhibe la puesta en marcha del mecanismo de recombinación por unión de extremos no homólogos.⁴

A su vez la proteína nuclear 2 que interactúa con TRF1, TIN2 (del inglés, TRF1-Interacting Nuclear protein 2) une la zona de ADNcd con el ADNcs. Por último, proteína 1 protectora de telómeros, POT1 (del inglés, Protection Of Telomeres 1) y proteína 1 que interactúa con TIN2, TPP1 (del inglés, TIN2 [TRF1-interacting nuclear Protein]-Interacting Protein 1) se unen

específicamente a las repeticiones en el ADNcs.⁵ Además de la función protectora de los telómeros, el dímero POT1-TPP1 potencializa la procesividad de la telomerasa disminuyendo la disociación del iniciador y favoreciendo el desplazamiento de la enzima.⁶ La presencia de POT1-TPP1 impide la unión de la proteína duplicativa A con lo cual se activaría el mecanismo de reparación de rotura de hebras, que podría conducir a la fusión de cromosomas por los telómeros.⁷

La combinación de shelterinas intactas con telómeros de larga longitud es suficiente para evitar que los extremos cromosómicos activen la respuesta al ADN dañado, la degradación dañina del ADN por las nucleasas o la participación en eventos de recombinación y fusión que producen inestabilidad genómica.

Otro complejo relevante conocido como CST por estar compuesto por tres proteínas: componente 1 conservado de protección del telómero, CTC1 (del inglés, Conserved Telomere protection Component 1), el supresor 1 de Cdc13, STN1 (del inglés, Suppressor of cdc Thirteen 1) y la proteína de la vía telomérica con STN1, TEN1 (del inglés, Telomeric pathway with STN1). El complejo CTS parece estar relacionado con el proceso de la duplicación.⁸ También se ha reportado recientemente que la proteína HOT1 (HMBOX1; Homeobox Telomere-binding protein 1) es necesaria para el reclutamiento y la actividad de la telomerasa.⁹

El ARN telomérico

Los telómeros contienen además un ARN no codificante que contiene repeticiones teloméricas que ha sido denominado TERRA (del inglés, Telomeric Repeat-containing RNA) que es transcrito por la ARN polimerasa II. TERRA es un ARN heterogéneo que consiste en una combinación de secuencias teloméricas y subteloméricas y se expresa en la mayoría de los tejidos.¹⁰ TERRA se localiza en los telómeros, donde contribuye a la estabilidad genómica y sus alteraciones conducen a anomalías teloméricas.¹¹ Se ha demostrado que, al menos in vitro, los ADN y ARN teloméricos pueden formar estructura de cuartetos G intermoleculares estables al calor. Varios hallazgos indican que TERRA pudiera regular la acción de la telomerasa.¹⁰

Las telomerasas

En 1985, Carol Greider y Elizabeth Blackburn descubrieron una actividad enzimática en el núcleo de *Tetrahymena* capaz de alargar telómeros sintéticos. El tratamiento con ARNasa inactivaba a la enzima lo que sugería que un ARN aportaba el molde para

la adición de los nucleótidos. Greider y Blackburn, junto con Jack Szostak, recibieron el Premio Nobel en Fisiología o Medicina en 2010, por sus aportes al conocimiento de la estructura y duplicación de los telómeros.

El componente catalítico, formado por dos proteínas (p123 y p43) fue identificado en 1996 por J. Lingner y T. Cech. Casi al mismo tiempo, el grupo de Victoria Lundblad identifica, esta vez en levaduras, mutantes cuyo fenotipo se caracterizaba por telómeros cada vez más cortos y que denominaron EST (del inglés, Ever-Shorter Telomere). Análisis posteriores mostraron que Est2 era homóloga a p123 y ambas presentaban un dominio similar a las transcriptasas inversas. Un año más tarde se identificó la subunidad catalítica en humanos y se le denominó TERT (del inglés, Telomere Reverse Transcriptase).¹²

Las telomerasas son ADN polimerasas especializadas que sintetizan nuevas secuencias teloméricas en los extremos de los cromosomas. Están formadas por dos componentes muy conservados: la proteína central, TERT que contiene el dominio de transcriptasa inversa y un ARN esencial, TR (del inglés, Telomeric RNA), también llamado TERC (del inglés, Telomeric RNA Component). Un hecho único de la telomerasa, entre todas las transcriptasas inversas, es que el ARN que sirve de molde para la síntesis del ADN, es un componente integral de la holoenzima.¹³

La proteína de la telomerasa

El gen de la telomerasa ha sido localizado en la región cromosómica 5p15.33 y codifica una proteína de 1 132 aminoácidos para una masa molecular aparente superior a los 100 kDa. Está formada por cuatro dominios estructurales: (i) el dominio esencial de telomerasa hacia el extremo N-terminal; (ii) el dominio de unión al ARN; (iii) el dominio catalítico de transcriptasa inversa; y (iv) una extensión hacia el extremo C-terminal.¹⁴

El dominio (i) muestra afinidad de unión al ADNsc telomérico y contiene residuos necesarios para la actividad de la enzima. Probablemente este dominio facilita la síntesis de las repeticiones al capturar el sustrato y mantenerlo asociado con el producto.¹⁵ El dominio (ii) confiere la especificidad de interacciones entre hTR (la “h” significa humano) y TERT. Estas regiones son importantes para la velocidad de copia de la enzima durante el alargamiento de los telómeros. Estos dos dominios están unidos por una región larga y carente de estructura secundaria, que puede ser importante para conceder flexibilidad conformacional a la holoenzima.¹⁵

El dominio catalítico es el mejor caracterizado y

contiene siete motivos conservados evolutivamente y esenciales para la actividad enzimática. Está organizado en dos subdominios que semejan los dedos y la palma de una mano típicos de las de las transcriptasas inversas. Contiene tres residuos de ácido aspártico invariantes que participan directamente en la adición de nucleótidos mediante un mecanismo de dos iones metálicos. Este dominio también coloca el molde en la posición adecuada y la alineación del extremo 3' del sustrato.¹⁵

Por último, el dominio C-terminal muestra poca conservación evolutiva, lo que hace pensar que tiene funciones características de la especie. Pudiera potenciar la asociación con el ácido nucleico o contribuir a la función del dominio catalítico o a ambos.¹⁵

El ARN telomerásico

El gen del ARN telomerásico, TERC se localiza en 3q26.2 y es transcrito por la ARN polimerasa II. TERC contiene 451 nucleótidos con una estructura secundaria donde abundan las horquillas y que es estabilizada por su asociación con proteínas accesorias.

El TERC de vertebrados muestra tres dominios conservados: (i) el dominio del molde con un pseudonudo, (ii) el dominio CR4/CR5 (por Conserved Regions) y (iii) un dominio con motivo H/ACA (stem-Hinge-stem-ACA (H/ACA)), consistente en dos horquillas separadas por un segmento flexible que funciona como bisagra.

El dominio de molde es esencial para la actividad de la enzima y contiene una secuencia complementaria a 1,5 repeticiones del ADN telomérico. Asimismo, contiene los elementos limitantes en los extremos 5' y 3' que evitan la incorporación de nucleótidos no determinados por el molde. Adyacente al molde se encuentra una estructura de pseudonudo, estabilizada por la formación de una triple hélice. La región 3' del molde alinea el ADN sustrato mientras la porción 5' es copiada.¹⁶

El TERC humano contiene motivos específicos de vertebrados necesarios para la biogénesis de TERC maduro, el ensamblaje de la nucleoproteína, el tráfico subcelular y la regulación. El extremo 5' contiene varias guaninas que pueden adoptar la estructura de cuartetos G. La mitad 3' adopta un plegamiento similar a la familia H/ACA de ARN. En la telomerasa madura, cada horquilla de H/ACA sirve para la asociación con proteínas.

El dominio H/ACA se une a TCAB1 (del inglés, Telomerase Cajal Body Protein 1) y propicia la

concentración de la ribonucleoproteína en los cuerpos de Cajal, además coopera en la acumulación de la ribonucleoproteína madura, lo que se demuestra por el hecho de que mutaciones en esa estructura no permiten que TR se separe del sitio de la transcripción y el extremo 3' no sea procesado.¹⁶ Una representación de la estructura del ARN telomerásico se muestra en la figura 2a.

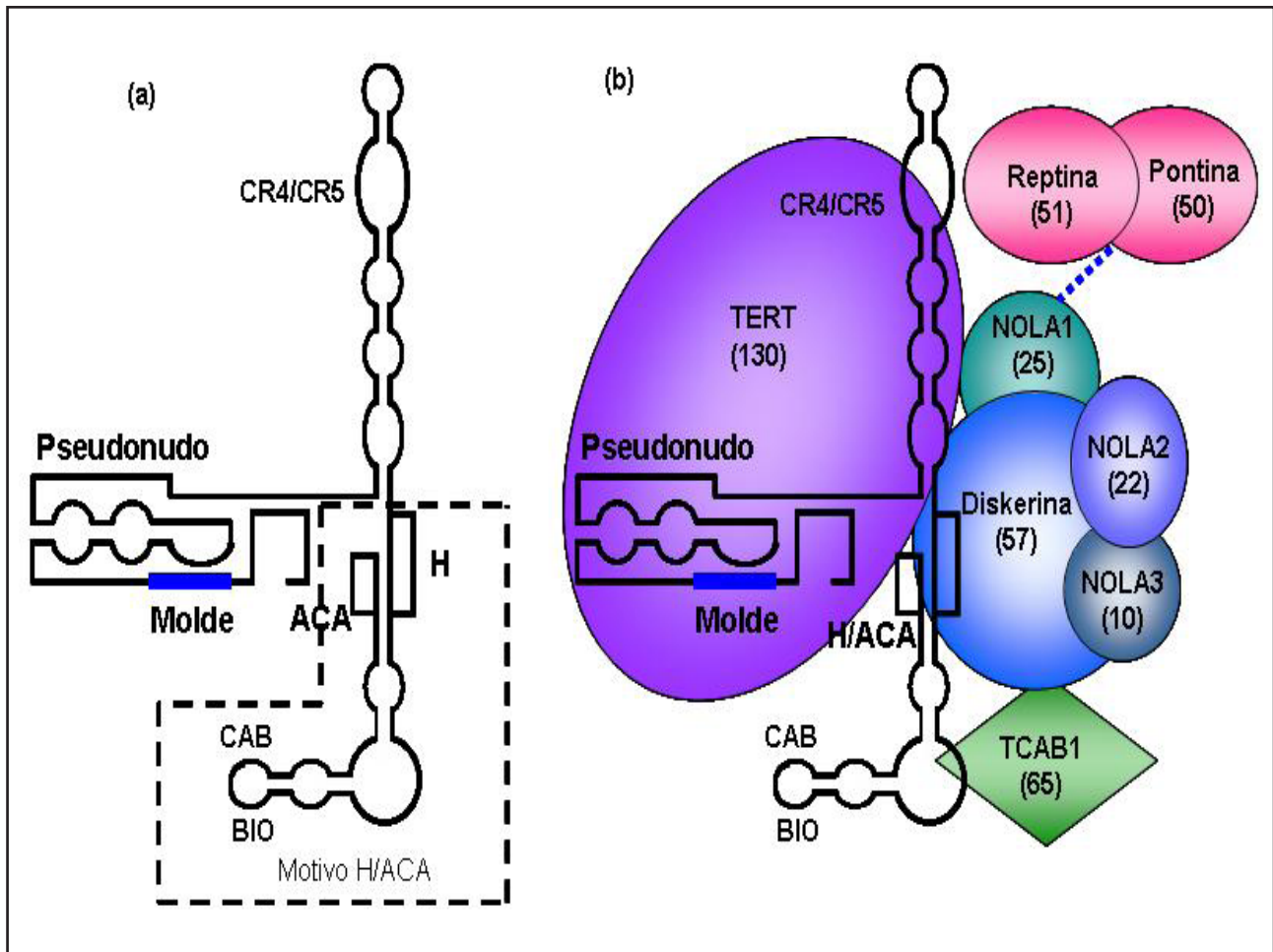
La holoenzima

La holoenzima humana de la telomerasa es un complejo multiproteínico con una masa molecular aparente superior a 500 kDa. Los componentes proteínicos integrales de la telomerasa humana han sido identificados en células HeLa.¹⁷ Ellas son la diskarina y tres miembros de la familia A de proteínas nucleolares NOLA (del inglés, Nucleolar Protein FamilyA) NOLA1, NOLA2 Y NOLA3, el complejo pontina/reptina y TCAB1. La diskarina, NOLA2 y NOLA3 son necesarias para la estabilidad y la acumulación de TERC in vivo. La unión de estas proteínas se realiza por el lazo H/ACA del TERC. Este proceso ocurre en los cuerpos de Cajal a donde llegan y se acumulan los componentes mediados por la proteína TCAB1. La pontina y la reptina son dos ATPasas estructuralmente relacionadas necesarias para la estabilidad de la diskarina. El modelo actual propone que la diskarina, la pontina y la reptina forman una plataforma que recluta y estabiliza a hTR y ensambla la partícula ribonucleoproteínica de la telomerasa. Una vez que este complejo se ha formado, la pontina y la reptina se disocian produciendo la holoenzima catalíticamente activa.¹⁸ La figura 2b muestra un esquema sobre la estructura de la holoenzima.

En 1989, Greider y Blackburn propusieron un modelo que ha resultado ser muy exacto. Según ellas, la telomerasa se une al telómero de manera que el TR quede alineado con el ADN mediante la formación de pares de bases; la enzima alarga el telómero tomando como molde la secuencia de TERC que es complementaria a la repetición; por último se disocia del ADN y da inicio a un nuevo ciclo.¹⁹

Sin embargo, la presencia del dímero POT1-TPP1 modifica el proceso, pues permite que la telomerasa, una vez alargado el iniciador en varios nucleótidos, se desplace e incorpore otros más y así sucesivamente hasta alcanzar la cifra de ~40 nucleótidos y entonces se disocia y debe reasociarse para comenzar un nuevo ciclo.²⁰ Este mecanismo básico se representa en la figura 3.

Figura 2. Componentes de la holoenzima.



En (a) se muestra un esquema de la estructura del ARN telomérico mostrando los diferentes dominios. En (b) los componentes de la holoenzima y su posible ubicación alrededor de TR. La reptina y la pontina solamente se asocian en el momento de la formación de la holoenzima. Los números entre paréntesis indican la masa molecular en kDa.

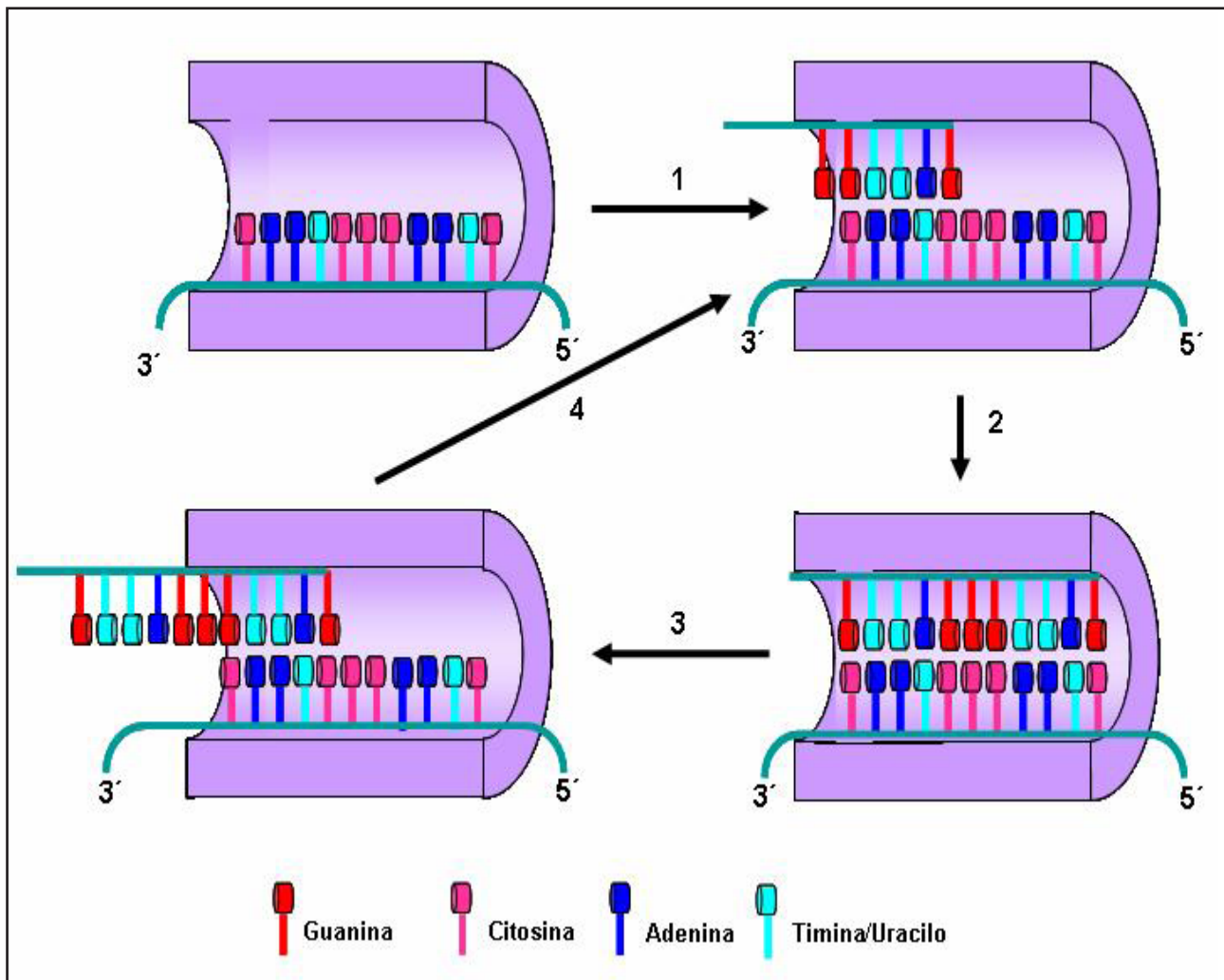
La duplicación de los telómeros

La duplicación de los telómeros es un evento crítico del ciclo de división celular, pues fallas en el proceso conduciría a una catástrofe al activar la respuesta al ADN dañado con la consiguiente inestabilidad genómica. La duplicación se realiza en varias etapas durante las cuales la horquilla de duplicación pasa a lo largo del ADNdc seguido del procesamiento de los extremos del ADN, lo que genera el extremo 3' monofibrilar necesario para la unión de las shelterinas, la formación del lazo t, la acción de la telomerasa y el mantenimiento general de la longitud de los telómeros. La formación de la zona monofibrilar implica la digestión por nucleasas, la extensión de la cadena G por las telomerasas y el llenado de la hebra C por la polimerasa α /iniciadora.

La duplicación del ADNdc presenta un problema

debido posiblemente a su naturaleza repetitiva y la potencialidad para formar estructuras secundarias. Debido a ello se hace necesaria la participación de un grupo adicional de proteínas que las que participan en la duplicación del resto del ADN. Entre ellas pueden mencionarse al TRF1, las helicasas, como RTEL (del inglés, Regulator of Telomere Length) o miembros de la familia RecQL, WRN (deficiente en el síndrome Werner) y BLM (deficiente en el síndrome Bloom), la nucleasa FEN-1 (del inglés, Flat-ENdonucleasa) y subunidades del complejo CST. La deficiencia de cualquiera de esas proteínas conduce a la pérdida de los telómeros, alteraciones en su empaquetamiento o ambos. De hecho, una de las funciones de las shelterinas es facilitar la duplicación del ADN telomérico. Es interesante que, en ausencia de TRF1, los telómeros se comporten como sitios frágiles.²¹

Figura 3. Mecanismo de acción de la telomera.



La enzima se asocia al extremo de la hebra G mediante apareamiento de bases con el ARN telomérico (1). El extremo 3' de la hebra G se alarga tomando como molde al ARN telomérico (2). La enzima se desplaza sin disociarse del sustrato (3). Comienza un nuevo ciclo de alargamiento (4).

En 2012 el grupo de Wright proporcionó la aproximación más detallada hasta la fecha de los eventos que tienen lugar en los extremos cromosómicos que completan la duplicación semiconservativa del ADN.²²

Es bueno recordar que la duplicación del ADN se realiza por mecanismos diferentes en cada una de las hebras. Con relación a los telómeros, la hebra C (rica en citosina) se duplica de forma continua (hebra conductora) mientras la hebra G (rica en guanina) lo hace de forma discontinua (hebra conducida) mediante la formación de los fragmentos de Okazaki.

En líneas generales el proceso ocurre de la siguiente forma. Cerca del telómero se activa un origen de duplicación y da comienzo a la síntesis de la hebra conductora (duplicación de la hebra C). Esta hebra aportará el extremo 3' de la nueva molécula de ADN

que tendrá los extremos romos, es decir, estarán al mismo nivel el extremo de la hebra molde y el de la neosintetizada. Este extremo debe ser procesado para generar el segmento monofibrilar. El proceso es similar a la resección del ADN durante la reparación de la rotura de las dos hebras. En humanos el complejo MRN, formado por las proteínas Mre11 (del inglés, Meiotic-REcombination protein), Rad50 (del inglés, Radiation Arrested Delayed) y Nbs1 (del inglés, Nijmegen Breakage Syndrome) reconoce el extremo del ADN y recluta hacia ese sitio a la nucleasa Apolo que se asocia a los telómeros mediante interacciones con TRF2. Apolo actúa en coordinación con WRN (o BLM) para cortar el extremo 5' y crear la hebra monofibrilar 3'-OH.²³

El procesamiento del ADN y la generación del segmento monofibrilar son independientes de la

presencia de la telomerasa. Si la enzima está presente el segmento es alargado con nuevas repeticiones. Al parecer la telomerasa llega a su sitio de acción asociada a los cuerpos de Cajal, los cuales a su vez establecen interacciones con TPP1.²⁴ Cada telómero crece de 50 a 60 nucleótidos en cada ciclo de alargamiento debido a la acción de POT1-TPP1 sobre la procesividad de la enzima.⁶

Una vez concluida la acción de la telomerasa la hebra complementaria (hebra C) debe ser llenada dando a la zona monofibrilar entre 40 y 400 nucleótidos. El complejo CST se une a la hebra rica en guanina y recluta a la ADN polimerasa α /iniciadora que va rellenando la hebra complementaria. Posteriormente se retira el ARN iniciador y se genera la secuencia 3'-CCAATC-5' que se encuentra al final de la mayoría de los telómeros humanos.²²

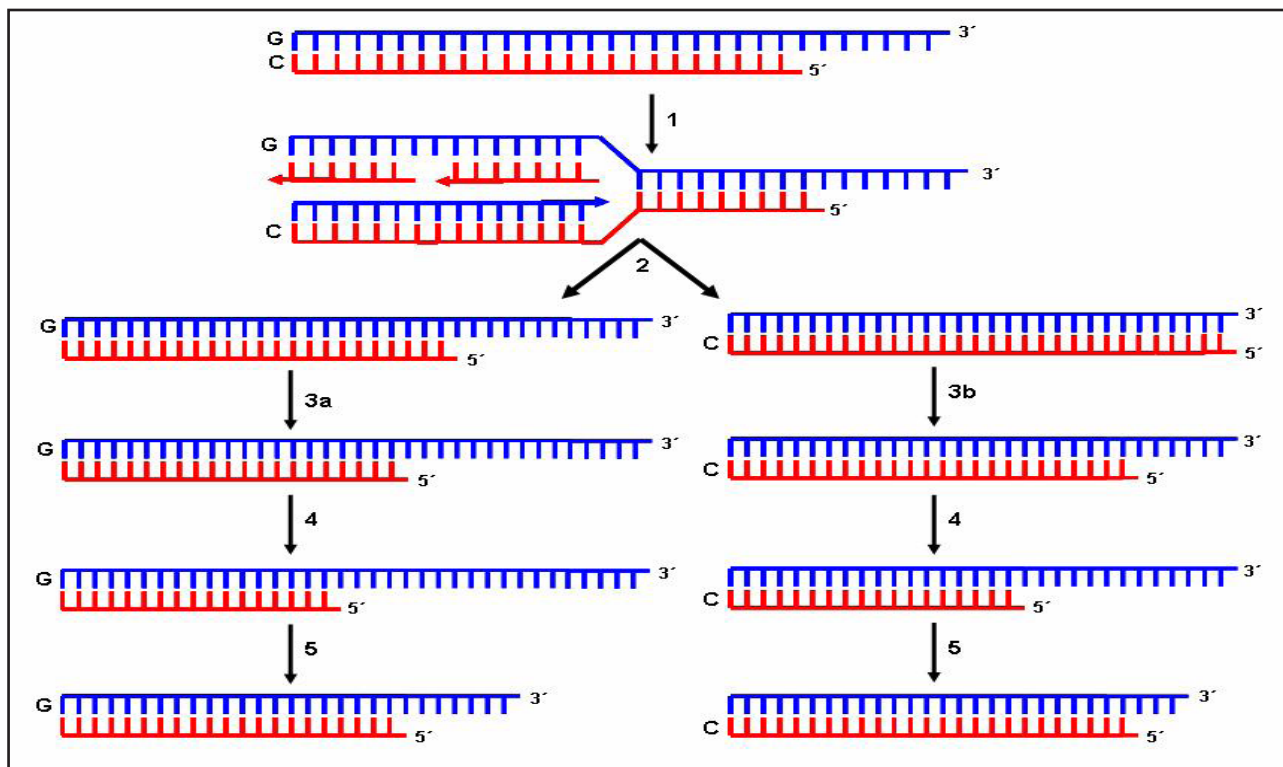
A medida que este proceso transcurre se va generando la hebra conducida por fragmentos de Okazaki que deben ser procesados. La síntesis por la pol- α comienza a una distancia de 70 a 100 nucleótidos del extremo

de la hebra (hebra G). La pol- α sintetiza el ARN iniciador de unos 10 ribonucleótidos y después lo alarga con desoxinucleótidos. Esta hebra puede crecer por la pol- δ hasta alcanzar el ADN sintetizado por la horquilla vecina. El procesamiento de este fragmento lleva a la eliminación del ARN, posiblemente por la ribonucleasa H, y de esta forma queda formada la hebra monofibrilar.²²

Como el inicio del fragmento de Okazaki está situado a ~70 a 100 nucleótidos del extremo, esto significa que en cada ciclo de duplicación pueden quedar hasta 100 nucleótidos sin duplicarse en cada hebra conducida. En la figura 4 se representa el proceso esquemáticamente.

Es interesante que en los humanos los telómeros sean duplicados durante la fase S y la extensión del segmento monofibrilar ocurre durante ese periodo.²⁵ Sin embargo, el relleno de la hebra C no está acoplado a este proceso y se produce en la transición de S a G2.

Figura 4. Modelo simplificado de la duplicación de los telómeros.



En la región subtelomérica se activa un origen de duplicación (1). La hebra rica en citosina (C) se duplica de forma continua y la rica en guanina (G) de forma discontinua. El proceso transcurre hasta que la hebra C se duplica totalmente formando extremos romos. Por su parte la hebra G ya contiene el extremo monofibrilar (2). El ARN iniciador se retira de la hebra complementaria G (3a) y el extremo 5' es resecado por Apolo en la hebra C (3b). Si hay telomerasa (4) las hebras monofibrilares se alargan. Si no hay telomerasa (5) las hebras monofibrilares se acortan por acción de nucleasas en cada ciclo duplicativo, lo cual da como resultado el acortamiento progresivo de los telómeros. En la figura se han identificado las hebras C y G de la molécula original.

Sin embargo, en los humanos solamente las células que están en constante proliferación, como las células madres, pueden recibir el beneficio de la telomerasa. En la mayoría de los tejidos la actividad de telomerasa es reprimida lo cual da como resultado una lenta erosión de los extremos cromosómicos con cada ciclo de división celular. Los telómeros demasiado cortos no disfrutan de la protección de las shelterinas, lo cual activa la respuesta al ADN dañado lo que conduce bien a la muerte por apoptosis, bien a la senescencia celular. Aún en células con alta actividad de telomerasa como las células madres hematopoiéticas, los telómeros se acortan con cada ciclo celular, sin embargo, en las células germinales masculinas la longitud de los telómeros se mantiene estable e incluso se incrementa con la edad.

Enfermedades teloméricas

Varias condiciones clínicas han sido asociadas a trastornos en la dinámica de los telómeros, entre ellas la diskeratosis congénita, anemia aplásica adquirida, la fibrosis pulmonar y algunas hepatopatías.²⁶

La primera descubierta y mejor estudiada es la diskeratosis congénita que se caracteriza por una pigmentación anormal de la piel, distrofia de la uñas y una anomalía de la mucosa bucal conocida como leucoplasia. Hasta el momento se han identificado menos de 100 pacientes. Las complicaciones fatales más frecuentes son la falla de la médula ósea, la fibrosis pulmonar y el cáncer.²⁷

Varios genes han sido implicados en la génesis de

la diskeratosis congénita, principalmente tres que codifican elementos esenciales de la holoenzima de la telomerasa. Las familias con mutaciones en estos genes presentan el fenómeno de “anticipación”, lo cual significa que la enfermedad se presenta cada vez en edades más tempranas en las generaciones sucesivas de la misma familia. Esto pudiera explicarse por el hecho de que las células germinales tendrían telómeros progresivamente más cortos. Al recibir los descendientes telómeros más cortos se reduciría el número de divisiones en sus células, que traería como resultado células germinales con telómeros aún más cortos y así sucesivamente.²⁶

Conclusiones

La estructura peculiar de los telómeros y su importancia para la estabilidad genómica hacen de su duplicación durante el ciclo celular un proceso de singular importancia para la supervivencia celular. Evolutivamente se han ido creando mecanismos complejos con la participación de un número considerable de proteínas que garantizan la eficiencia del proceso. No es de extrañar que en un proceso donde participan un gran número de productos génicos existan fallas debido a mutaciones que den lugar a la aparición de enfermedades. La poca frecuencia de esas enfermedades es un indicador indirecto de la alta eficacia del proceso. Aunque falta mucho por conocer, el estado actual del conocimiento nos permite tener una visión bastante aproximada de un proceso tan complejo como la duplicación de los telómeros.

Referencias bibliográficas

1. Hernández Fernández RA.: Telómeros y Telomerasas. *Rev Cubana Invest Biomed.* 1999;18(2):121-9
2. Giraud-Panis MJ, Pisano S, Poulet A, Le Du MH, Gilson E.: Structural identity of telomeric complexes. *FEBS Lett.* 2010; 584:3785-3799.
3. Schoeftner S, Blasco MA.: A ‘higher order’ of telomere regulation: telomere heterochromatin and telomeric RNAs. *EMBO J.* 2009;28:2323–2336.
4. de Lange T.: How shelterin solves the telomere end-protection problem. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology.* 2010;75:167-177.
5. Yang D, Xiong Y, Kim H, He Q, Li Y, Chen R, Songyang Z.: Human telomeric proteins occupy selective interstitial sites. *Cell Research.* 2011;21:1013-1027.
6. Latrick CM, Cech TR.: POT1-TPP1 enhances telomerase processivity by slowing primer dissociation and aiding translocation. *EMBO J.* 2010;29:924–933.
7. Flynn RL, Chang S, Zou L.: RPA and POT1. Friends or foes at telomeres? *Cell Cycle.* 2012;1(4):652-657.
8. Stewart JA, Wang F, Chaiken MF, Kasbek C, Chastain II PD, Wright WE, Price CM.: Human CST promotes telomere duplex replication and general replication restart after fork stalling. *EMBO J.* 2012;31:3537–3549.
9. Kappei D, Butter F, Benda C, Scheibe M, Drašković I, Stevance M, et al.: HOT1 is a mammalian direct telomere repeat-binding protein contributing to telomerase recruitment. *EMBO J.* 2013;32:1681–1701.
10. Luke B, Lingner J.: TERRA: telomeric repeat-containing RNA. *EMBO J.* 2009;28:2503–2510.
11. Zhang L, Ogawa Y, Ahn J, Namekawa S, Silva S, Lee JT.: Telomeric RNAs mark sex chromosomes in stem cells. *Genetics.* 2009;182:685–698.
12. Gomez DE, Armando RG, Farina HG, Menna PL, Cerrudo CS, Ghiringhelli PD, Alonso DF.: Telomere structure and telo-

- merase in health and disease (Review). *Internat J Oncol.* 2012;41:1561-1569.
13. Sauerwald A, Sandin S, Cristofari G, Scheres SHW, Lingner J, Rhodes D.: Structure of Active, Dimeric Human Telomerase. *Nat StructMol Biol.* 2013;20(4):454-460.
 14. Robart AR, Collins K.: Investigation of human telomerase holoenzyme assembly, activity, and processivity using disease linked subunit variants. *J BiolChem.* 2010;285:375-4386.
 15. Collins K. Physiological assembly and activity of human telomerase complexes. *Mech Ageing Dev.* 2008;129:91-98.
 16. Zhang Q, Kim NK, Feigon J.: Architecture of human telomerase RNA. *ProcNatlAcadSci.* 2011;108:20325-20332.
 17. Artandi SE, DePinho RA.: Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis.* 2010;31:9-18.
 18. Podlevsky JD, Chen JJ.: It all comes together at the ends: Telomerase structure, function, and biogenesis. *Mutat Res.* 2012; 730:3-11.
 19. Collins K.: Single-stranded DNA repeat synthesis by telomerase. *Curr Opin Chem Biol.* 2011;15:643-648.
 20. Zaug AJ, Podell ER, Nandakumar J, Cech TR.: Functional interaction between telomere protein TPP1 and telomerase. *Genes Devel.* 2010;24:613-622.
 21. Sfeir A, Kosiyatrakul ST, Hockemeyer D, MacRae SL, Karlseder J, Schildkraut CL, de Lange T. Mammalian telomeres resemble fragile sites and require TRF1 for efficient replication. *Cell.* 2009;38:90-103.
 22. Chow TT, Zhao Y, Mak SS, Shay JW, Wright WE.: Early and late steps in telomere overhang processing in normal human cells: The position of the final RNA primer drives telomere shortening. *Genes Dev.* 2012;26:1167-1178.
 23. Wu P, van Overbeek M, Rooney S, de Lange T. Apollo contributes to G overhang maintenance and protects leading-end telomeres. *Mol Cell.* 2010;39:606-617.
 24. Nandakumar J, Cech TR.: Finding the end: recruitment of telomerase to telomeres. *Nature Rev Mol Cell Biol.* 2013;14: 69-82.
 25. Zhao Y, Sfeir AJ, Zou Y, Buseman CM, Chow TT, Shay JW, Wright WE. Telomere extension occurs at most chromosome ends and is uncoupled from fill-in in human cancer cells. *Cell.* 2009;138:463-475.
 26. Calado RT, Young NS.: Telomere Diseases. *N Engl J Med.* 2009;361(24):2353-2365.
 27. Armanios M.: Syndromes of Telomere Shortening. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2009;10:45-79.