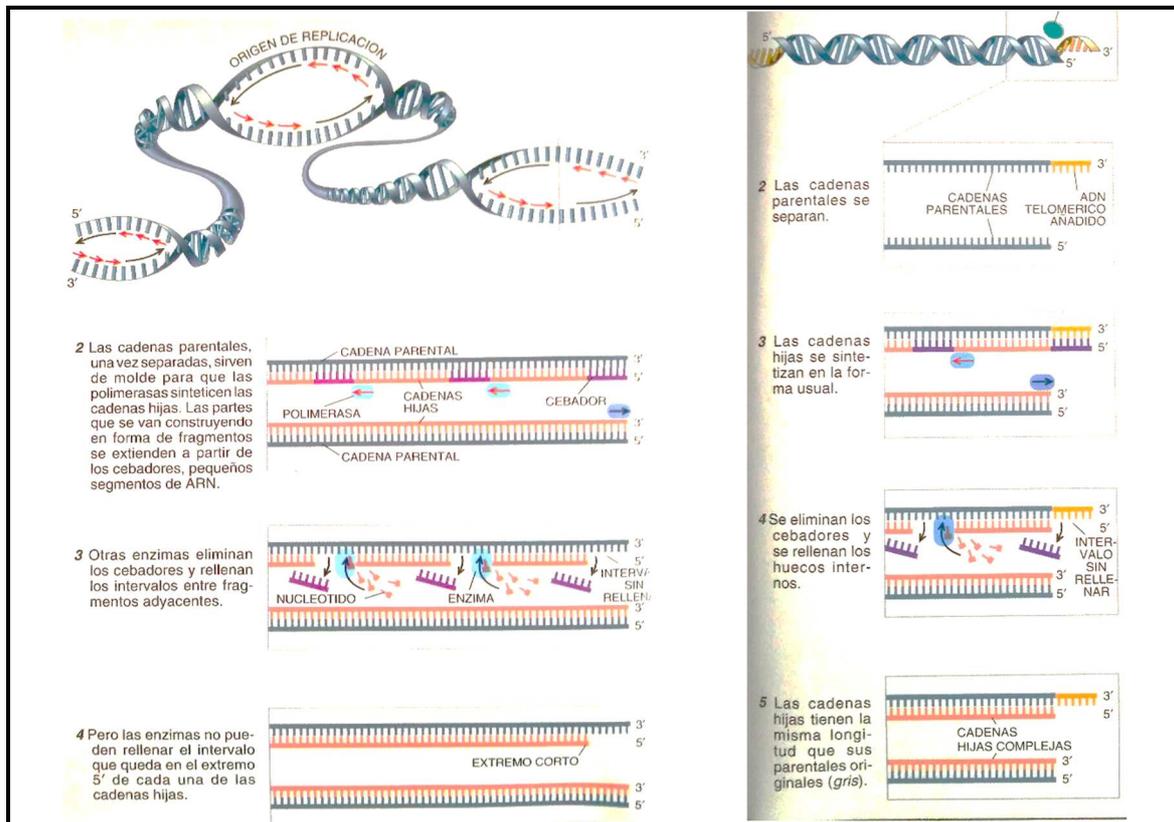


TELÓMEROS, TELOMERASA Y CÁNCER

Carol Greider y Elizabeth Blackburn

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 en los extremos de los cromosomas irradiados que, 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). Dos años más tarde, Bárbara McClintock, investigadora de la Universidad de Missouri, que se dedicaba al estudio de la genética del maíz (*Zeamays*), demostró que cuando suceden mutaciones cromosómicas, 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», catastróficos para la supervivencia celular.



El problema de la replicación de los extremos. Sin telomerasa (izquierda) con telomerasa (derecha)

No se reanudó el estudio de los telómeros hasta 30 años después cuando comenzaron a ser develados los mecanismos subyacentes a la replicación del ácido desoxirribonucleico (ADN), donde el trabajo de James Watson (el mismo que describió la estructura doble helicoidal del ADN) revistió una singular importancia. Watson 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.



En la misma época, Alexsei Olovnikov, un científico ruso de la era soviética, decidió comprobar si en las células humanas los cromosomas se acortaban con el paso del tiempo.

Se acortaban. La mayoría de las células somáticas normales que examinó perdía segmentos de sus telómeros a medida que se dividían en el cultivo. Paralelamente se encontró que los telómeros de algunos tejidos humanos normales se acortaban conforme la gente envejecía (un hecho tranquilizador era que los telómeros se mantenían intactos en la línea germinal)

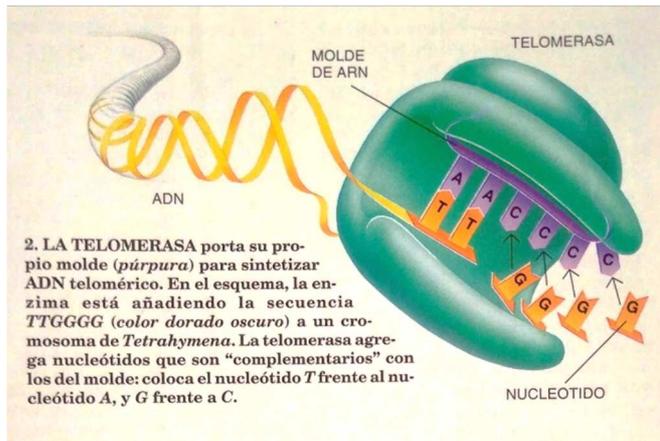
Estos resultados sugerían que las células humanas podían “contar” divisiones siguiendo el número de repeticiones teloméricas que perdían, y detenían su división cuando los telómeros alcanzaban una longitud crítica. Pero la prueba definitiva no se había obtenido todavía.

¿Podía el encogimiento de los telómeros y la merma de capacidad proliferativa a lo largo del tiempo ser una causa del envejecimiento humano? Probablemente sí. El funcionamiento de un cuerpo más viejo puede verse comprometido por el envejecimiento de un subgrupo de células. Por ejemplo, una herida puede cicatrizar mal si en el sitio donde se ha producido el daño se reduce el número de células capaces de generar piel nueva. De la misma manera, una merma de cierto tipo de leucocitos podría contribuir a fallos inmunitarios relacionados con la edad. Además, se sabe que la aterosclerosis se desarrolla allí donde las paredes de los vasos sanguíneos han sufrido daños. Cabe la posibilidad de que las células de los sitios repetidamente dañados terminen por “agotar” su capacidad replicativa, de suerte que las venas sean incapaces de reemplazar las células perdidas.

Se había hallado 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, la senescencia correspondía a un estado en el que se detenía de la proliferación y reproducción celular, en el que entraban 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.

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.

Al igual que James Watson, Aleksei Olovnikov pensaba que los organismos debían poseer una estrategia para mantener la longitud telomérica durante la replicación del ADN en las células germinales. No tardó mucho tiempo en descubrirse que esa estrategia tenía nombre propio. Era la telomerasa, enzima transcriptasa inversa, 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 habitante de las charcas de agua dulce. Fue entonces posible determinar su secuencia de ADN, en cuyos extremos aparecieron múltiples repeticiones del polinucleótido CCCCAA. Sin embargo, el hallazgo trajo consigo dudas ¿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 habían sido 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 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 hibridación analizaron los extremos del ADN 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. 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. 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 construcción de los primeros cromosomas artificiales de levadura, los famosos YAC, 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. 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 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 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.

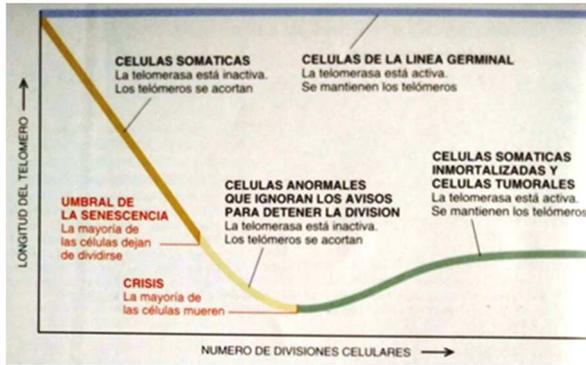
Los resultados obtenidos por Blackburn y Greider marcaron un hito en la investigación de la biología de los telómeros, pues dilucidaron la aparente contradicción entre dos hechos comprobados de manera irrefutable: primero, el acortamiento progresivo de los telómeros durante cada división celular y segundo su replicación, proceso que ocurre en forma independiente a la del resto del ADN cromosómico. Mientras el ADN corriente utiliza para su replicación la enzima ADN polimerasa, el ADN de los telómeros se vale de un molde 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 inversa.

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.

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 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, 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. 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, donde cesan de dividirse y finalmente mueren. No obstante, en el proceso de transformación tumoral, la senescencia es también un importante factor de riesgo: 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.

En sus investigaciones, Harley detectó telomerasa en 90 de las 101 muestras analizadas que representaban a 12 tipos de tumores distintos. Una evidencia más que sólida que demuestra que la telomerasa es la herramienta necesaria para que una célula tumoral se convierta en inmortal.



La presencia de telomerasa en diversos tipos de cánceres humanos y su ausencia en muchas células normales significa que la enzima puede ser un buen blanco de drogas anticáncer. Los agentes capaces de obstaculizar la telomerasa podrían matar a las células tumorales sin alterar el funcionamiento de muchas células normales (la mayoría de las terapias actuales contra el cáncer no sólo destruyen a las células malignas sino también a

muchas normales. Suelen ser, pues, bastante agresivas). Además, como se ha detectado telomerasa en muchos tipos de tumores, tales agentes podrían intervenir en cánceres muy dispares. Ante posibilidades tan apasionantes, los laboratorios farmacéuticos no se han cruzado de brazos. Sin embargo, urge dar respuesta a varios interrogantes. Debe determinarse, por ejemplo, qué células normales (además de las ya identificadas) fabrican telomerasa y qué importancia reviste en esas células. Si la telomerasa es allí crucial, las drogas que la bloqueen pueden resultar tóxicas y, por tanto, inaceptables. Debe determinarse cómo se une la enzima al ADN, cómo “decide” cuántas subunidades teloméricas debe añadir y más cuestiones que todavía resultan misteriosas.

Mucho es lo que se ha avanzado desde que se identificó el ADN repetitivo en los telómeros de un humilde ciliado unicelular. La elongación de los telómeros por la telomerasa, considerada en su inicio un mecanismo “astuto” mediante el cual algunos organismos unicelulares mantenían sus cromosomas, ha resultado ser algo distinto de lo que parecía. De hecho, la telomerasa es el principal medio con el que cuentan las células nucleadas de la mayoría de los organismos eucariotas para proteger sus cromosomas. Además, el estudio del proceso está detrás de nuestro envejecimiento y puede permitir el desarrollo de estrategias innovadoras contra el cáncer. Todo esto nos recuerda que, en la aproximación científica a la naturaleza, nunca puede predecirse cuándo y dónde se descubrirán procesos fundamentales. Nunca sabes en qué momento te darás cuenta de que una roca es en realidad una piedra preciosa.

CUESTIONES.

- 1- ¿Qué son los telómeros y de qué están compuestos?
- 2-¿Cómo se las arreglan los seres unicelulares y las células germinales de los pluricelulares para evitar la pérdida de los telómeros al cabo de sucesivas mitosis?
- 3-¿Cómo funciona la telomerasa?
- 4-¿Qué relación puede tener la pérdida de telomerasa y el envejecimiento del individuo pluricelular?
- 5-¿Qué relación existe entre la telomerasa y el cáncer? Según dicha relación ¿Cuél sería el tratamiento ideal contra el cáncer?