

## TELOMERASA Y TELÓMERO: SU ESTRUCTURA Y DINÁMICA EN SALUD Y ENFERMEDAD

DIEGO L. MENGUAL GÓMEZ, ROMINA G. ARMANDO, HERNÁN G. FARINA, DANIEL E. GÓMEZ

Laboratorio de Oncología Molecular, Departamento de Ciencia y Tecnología,  
Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina

**Resumen** La telomerasa es la enzima responsable del mantenimiento de la longitud de los telómeros mediante la adición de secuencias repetitivas ricas en guanina, y su actividad se observa principalmente en gametos, células madre y células tumorales. En las células somáticas humanas el potencial de proliferación es limitado, alcanzando la senescencia luego de 50-70 divisiones celulares, debido a que la ADN polimerasa no es capaz de copiar el ADN en los extremos de los cromosomas. Por el contrario, en la mayoría de las células tumorales el potencial de replicación es ilimitado debido al mantenimiento de la longitud telomérica dado por la telomerasa. Los telómeros tienen proteínas adicionales que regulan la unión de la telomerasa. De la misma manera la telomerasa también se asocia con un complejo de proteínas que regulan su actividad. Este trabajo se centra en la estructura y función del complejo telómero/telomerasa y a cómo las alteraciones en su comportamiento conducen al desarrollo de diversas enfermedades, principalmente cáncer. El desarrollo de inhibidores del sistema telómero / telomerasa podría ser un blanco con posibilidades prometedoras.

**Palabras clave:** telómero, regulación actividad telomerasa, cáncer

**Abstract** *Telomerase and telomere: their structure and dynamics in health and disease.* Telomerase is the enzyme responsible for the maintenance of telomere length by adding guanine-rich repetitive sequences. Its activity can be seen in gametes, stem cells and tumor cells. In human somatic cells the proliferative potential is limited, reaching senescence after 50-70 cell divisions, because the DNA polymerase is not able to copy the DNA at the ends of chromosomes. By contrast, in most tumor cells the replicative potential is unlimited due to the maintenance of the telomeric length given by telomerase. Telomeres have additional proteins that regulate the binding of telomerase, likewise telomerase associates with a protein complex that regulates its activity. This work focuses on the structure and function of the telomere/telomerase complex and how changes in its behavior lead to the development of different diseases, mainly cancer. Development of inhibitors of the telomere/telomerase complex could be a target with promising possibilities.

**Key words:** telomere, telomerase activity regulation, cancer

Los extremos de los cromosomas eucariotas tienen propiedades especiales en comparación con los extremos cromosómicos creados por fenómenos estocásticos. Hace más de 70 años Muller y McClintock establecieron que los extremos de los cromosomas eucariotas poseían una estructura especial necesaria para mantener la integridad de los cromosomas, a los que llamaron 'telómeros'<sup>1</sup>. Pocos años después, McClintock demostró que los telómeros poseen una función esencial para proteger la fusión de los extremos de los cromosomas. Décadas más tarde, diferentes técnicas moleculares revelaron que los extremos de los cromosomas consistían en repeticiones ricas en guanina<sup>3</sup>.

Cuando la célula se divide se copian todos sus cromosomas, de modo que cada célula hija recibe una copia idéntica de todos los cromosomas. En cada ronda de replicación el ADN telomérico pierde un centenar de bases debido a la imposibilidad de la ADN polimerasa de concluir por completo el proceso de copia. De este modo, los telómeros terminan limitando la cantidad de veces que una célula se puede dividir, ya que la proliferación celular se frena cuando la longitud de los telómeros alcanza un valor crítico que puede llevar a la muerte de las células y, consecuentemente, a la degeneración tisular relacionada con el envejecimiento. Sin embargo, una alternativa es que ese mismo proceso induzca la transformación tumoral, activando los mecanismos moleculares de mantenimientos de la longitud de los telómeros. Este mecanismo está mediado principalmente por la holoenzima telomerasa, un complejo ribonucleoproteico que es capaz de pegarse al telómero y alargarlo, añadiéndole secuencias teloméricas, con lo que se logra evitar el desgaste de las estructuras protectoras en esos tipos celulares y alcanzar una capacidad de proliferación prácticamente ilimitada<sup>4</sup>.

Recibido: 14-V-2013

Aceptado: 5-VIII-2013

**Dirección postal:** Dr. Diego L. Mengual Gómez, Laboratorio de Oncología Molecular, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Roque Sáenz Peña 352, 1876 Bernal, Buenos Aires, Argentina  
Fax: (54-11) 4365-7132 e-mail: dmengualgomez@gmail.com



TIN2 es una proteína que presenta dos isoformas derivadas de *splicing* alternativo, de las cuales se desconocen las diferencias a nivel funcional. La actividad de TIN2 está regulada indirectamente por TRF1. A su vez TIN2 contribuye a la regulación de longitud de los telómeros, pero su papel exacto en la protección de los telómeros todavía no se ha establecido. Sin embargo, se sabe que es un componente central de la shelterina que no solo conecta TPP1/POT1 a los otros componentes sino que también estabiliza TRF1 y TRF2<sup>25</sup>.

TPP1 es una proteína necesaria para el reclutamiento de la telomerasa *in vivo*. Además posee una función dual en la protección y la elongación de los telómeros, dando lugar a la preservación de la función del telómero y a la prevención de la aparición temprana de enfermedades degenerativas<sup>26</sup>. Esta proteína presenta un papel importante en la regulación de la longitud telomérica, ya que actúa como un activador o inhibidor de la telomerasa dependiendo de la posición de POT1 en el extremo 3' extendido<sup>27</sup>.

Otro factor estructural que determina la función del telómero es la presencia de ARNs, llamados TERRAs (*telomere repeat containing RNAs*)<sup>28</sup>. Estos ARN se crean a partir de los telómeros, a través de la transcripción de las islas CpG con la actividad del promotor presente en las regiones subteloméricas<sup>29</sup>. Se cree que la transcripción de TERRAs está mediada por TRF1, a partir de una interacción con la ARN polimerasa II. Funcionalmente los TERRAs están implicados en la formación de heterocromatina telomérica, la protección de los telómeros y la regulación negativa de la telomerasa, ya que pueden hibridar con hTR, el ARN de telomerasa, con alta afinidad e interactuar con la subunidad catalítica hTERT.

Los componentes de shelterina se asocian cuantitativamente con los telómeros, requieren las repeticiones TTAGGG para el montaje y están presentes en los telómeros en todo el ciclo celular. Sin embargo, la shelterina ejerce sus funciones en los telómeros a través del acople transitorio de factores accesorios<sup>30</sup>. Entre estos factores asociados se destaca principalmente la tankirasa, asociada a TRF1 y TRF2. La tankirasa se une a TRF1 y añade cadenas de poli-ADP-ribosa a los residuos de Glu<sup>31</sup>. Esta modificación post-traducciona conduce a una disminución en la afinidad de TRF1 para el ADN, y en la degradación proteosómica de la proteína. Por lo tanto, la tankirasa es un regulador positivo de la longitud de los telómeros a través de su acción de eliminar eficazmente TRF1 de los telómeros. La tankirasa 1 tiene un homólogo estrechamente relacionado llamado tankirasa 2; las dos moléculas comparten un grado muy alto de homología en sus dominios y una similar función<sup>32</sup>.

PINX1 es un inhibidor indirecto de la telomerasa, ya que esta función se desarrolla por interacción con TRF1 cuando se encuentra asociado a la telomerasa<sup>33</sup>. La unión con TRF1 es muy específica, mientras que con TRF2 no

se encontró asociación detectable. PINX1 es capaz de interactuar simultáneamente con la subunidad catalítica de la telomerasa proporcionando a la enzima un enlace físico con TRF1<sup>34</sup>. Se ha demostrado que PINX1 es capaz de mediar en el control de longitud de los telómeros a través de la inhibición de la telomerasa, con el consecuente acortamiento telomérico.

También hay factores asociados a TRF2, entre los que se destacan Apollo, el complejo MRN, WRN/FEN1 y ORC complejo TERRA. La interacción de Apollo con los telómeros es completamente dependiente de TRF2, y presumiblemente contribuye a la formación del extremo 3' extendido en la cadena líder de los telómeros, y la replicación eficaz a través del tracto telomérico<sup>35</sup>. Otro factor asociado a TRF2 es el complejo MRN con una acción similar a Apollo<sup>36</sup>. El complejo MRN también podría promover la elongación de los telómeros por la regulación negativa de TRF1.

WRN y FEN1 actúan como una pareja uniéndose ambos a TRF2. Las mutaciones en el locus WRN se asocian con el síndrome de Werner, un cuadro caracterizado por el envejecimiento prematuro, la alta incidencia de diabetes y enfermedades cardiovasculares, así como un fenotipo celular de senescencia prematura, alta inestabilidad cromosómica y disfunción de los telómeros<sup>37</sup>.

La interacción del ORC (*origin recognition complex*) con el ARN TERRA genera un complejo capaz de evitar defectos replicativos a nivel telomérico. Además, la presencia de los TERRAs le brinda estabilidad a una interacción entre TRF y ORC formando un complejo ternario<sup>38</sup>. El agotamiento de TERRAs conduce a un cambio en la estructura de la cromatina detectable por modificaciones de las histonas<sup>39</sup>. Actualmente, se considera que TERRA es importante para el mantenimiento de la heterocromatización de los telómeros.

Además de los sitios de anclaje situados dentro de la propia telomerasa, se ha sugerido que las proteínas asociadas con la telomerasa poseen un vínculo físico con componentes del complejo shelterina, lo que proporciona nueva información sobre el mecanismo de síntesis de los telómeros.

## Mantenimiento celular de los telómeros

Una función fundamental de los telómeros es la de actuar como amortiguador en la erosión de los extremos de ADN cromosómico debido al problema de la replicación terminal. Las ADN polimerasas convencionales son unidireccionales y no pueden copiar todas las bases en el extremo 3' después de la eliminación del cebador. Como resultado, en cada ciclo de replicación el cromosoma no puede ser sintetizado por completo y se pierde el extremo 3'. De no resolverse el problema replicativo, el contenido genético completo no podría transferirse de generación en generación. Como consecuencia, todas las especies

deben tener, al menos a nivel de las células germinales, un mecanismo que permita la replicación completa de sus genomas.

Diferentes organismos han adquirido evolutivamente distintos métodos para prevenir la pérdida del ADN en los extremos de sus cromosomas; sin embargo, la mayoría de los mamíferos usan una retrotranscriptasa específica, denominada telomerasa.

Existen líneas celulares humanas que carecen de actividad telomerasa, pero son capaces de mantener o alargar sus telómeros por medios alternativos, a los que se denominaron ALT (*alternative lengthening of telomeres*)<sup>40</sup>. En mamíferos que exhiben actividad ALT, las secuencias de ADN se copian de un telómero a otro, lo que sugiere que este tipo de mecanismos implicarían procesos de recombinación homóloga<sup>41</sup>.

### Arquitectura funcional de la telomerasa

En la mayoría de los mamíferos, el mantenimiento de la longitud telomérica se lleva a cabo principalmente por una retrotranscriptasa específica, llamada telomerasa, que inicialmente se identificó en ciliados<sup>7</sup>. La holoenzima telomerasa humana es una ribonucleoproteína (RNP) compuesta por la subunidad catalítica hTERT, un componente de ARN (hTR) que actúa como molde para la adición de la secuencia corta repetitiva d(TTAGGG) en el extremo 3' del ADN telomérico, y proteínas accesorias específicas<sup>42</sup>. Estas proteínas accesorias regulan la biogénesis de la telomerasa, su localización subcelular, y la función *in vivo*. El análisis de la telomerasa purificada por afinidad a partir de células HeLa ha permitido identificar como componentes integrales de la telomerasa humana a varias proteínas, tales como disquerina, NHP2; NOP10, Pontin / Reptin, GAR1 y TCAB1 (Fig. 2). El heterotrímero disquerina, NHP2 y NOP10 es necesario para la estabilidad y la acumulación *in vivo* del ARN de la telomerasa humana (hTR)<sup>43</sup>. La asociación del heterotrímero y GAR1 a hTR permite una RNP biológicamente funcional. Pontina y reptina son dos ATPasas que interactúan con TERT en

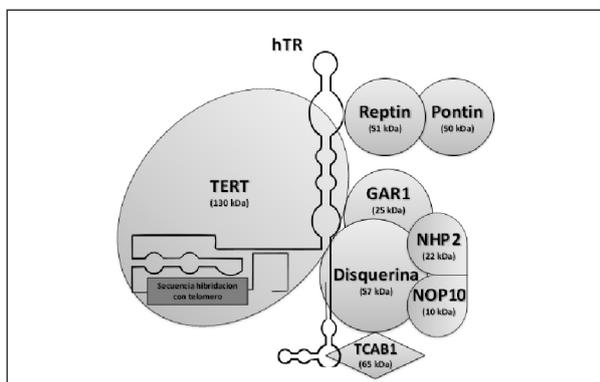


Fig. 2.- Holoenzima telomerasa. Complejo de proteínas asociadas a la subunidad catalítica de la telomerasa TERT.

la fase S del ciclo celular, evidenciando una regulación dinámica de TERT dependiente del ciclo celular. La depleción de pontina y reptina perjudica notablemente la acumulación de la RNP telomerasa, lo que indica que estas proteínas tienen un papel esencial en el montaje de la telomerasa *in vivo*. El modelo actual contempla a disquerina, pontina y reptina como un andamio que recluta y estabiliza a hTR, y permite el ensamblado de la ribonucleoproteína telomerasa. Una vez formado este complejo, se cree que pontina y reptina se disocian del complejo y liberan la enzima catalíticamente activa<sup>44</sup>. Pontina y reptina tienen múltiples roles, incluyendo la regulación transcripcional, reparación de daños en el ADN y la actividad de la telomerasa. También pueden interactuar con los principales actores oncogénicos tales como  $\beta$ -catenina y c-myc y regular su función oncogénica.

La ubicación subcelular de la telomerasa parece estar regulada por el factor TCAB1<sup>45</sup>, pero se necesitan más estudios para dilucidar el significado bioquímico y molecular de la intrincada red de interacciones proteína-proteína y proteína-ácidos nucleicos dentro de la holoenzima telomerasa. Además, será importante investigar cómo varía la composición de la holoenzima en las etapas específicas del ciclo celular. Las células normales diploides humanas que expresan hTERT en forma transitoria, adquieren actividad telomerasa, lo que demuestra que hTERT podría ser el componente limitante necesario para la restauración de la actividad de la telomerasa<sup>46</sup>.

Además de su asociación con la telomerasa, la disquerina es una proteína nucleolar altamente conservada que forma parte de una RNP nucleolar especializada en la catálisis de la pseudo-uridilación de residuos específicos en los ARN ribosomales recién sintetizadas y en los snRNA del spliceosoma<sup>47</sup>.

El alargamiento de los telómeros por la telomerasa es un proceso que ocurre en diferentes etapas. En primer lugar, los nucleótidos del extremo 3' del ADN telomérico se hibridan con el extremo de ARN molde en el interior del dominio de ARN del complejo telomerasa. La secuencia molde de 11 nucleótidos es complementaria a casi dos repeticiones teloméricas. En segundo lugar, la brecha en el extremo del molde se completa por síntesis, utilizando nucleótidos trifosfato en el sitio catalítico de la enzima (hTERT). Por último, la cadena sintetizada se transloca en dirección 5' con el fin de permitir la formación de una nueva brecha y la repetición del ciclo

### Telómeros y cáncer

Los primeros estudios demostraron que las células sin telomerasa presentaban un acortamiento de los telómeros en relación directa con el aumento de divisiones celulares. Esto sugirió que la pérdida de los telómeros podría explicar la senescencia celular después de un determinado número de duplicaciones *in vitro*<sup>48</sup>.

Estudios en cultivos celulares han indicado que la longitud telomérica sería la mejor forma de predecir la capacidad replicativa de las células<sup>49</sup>. Se ha propuesto que la pérdida de repeticiones teloméricas, al alcanzar una longitud telomérica crítica, induce una señal de daño en el ADN que resulta en la salida del ciclo celular y la senescencia replicativa<sup>50</sup>. De acuerdo con este modelo, los telómeros actúan como un reloj mitótico que determina la vida replicativa de una célula<sup>51</sup>. Bodnar y colaboradores dieron la prueba más definitiva demostrando que la reintroducción del compuesto catalítico de la telomerasa, en células que carecían de actividad telomerasa, alarga las repeticiones teloméricas dando como resultado un aumento significativo en su capacidad replicativa<sup>46</sup>.

La "hipótesis telomérica" de la senescencia y la inmortalización celular describe la posible relación entre dinámica telomérica e inmortalización<sup>49</sup>. La telomerasa se expresa en las células de la línea germinal que tienen telómeros largos (~ 10 kb)<sup>52</sup>; en las células somáticas normales, la telomerasa es reprimida y los telómeros se acortan hasta una longitud crítica en donde las células dejan de dividirse<sup>50</sup>.

La detención del ciclo celular que se impone en estas células se mantiene por medio de señales que activan las vías de los genes supresores de tumores p53 y Rb. Este límite en la etapa de mortalidad (M1) podría ser alterado por la transformación con agentes virales tales como SV40 o el antígeno T que inactivan los genes p53 o Rb y permiten a las células sufrir otras divisiones celulares adicionales. Estas células, sin embargo, no pueden dividirse indefinidamente y no se consideran inmortales, ya que seguido por la erosión telomérica ulterior, las células alcanzan una segunda etapa de la mortalidad (M2), con los telómeros críticamente cortos (~3kb)<sup>53</sup>. En esta etapa de crisis, las células podrían continuar proliferando, pero con altas tasas de apoptosis, desencadenadas por importantes aberraciones cromosómicas, donde no hay aumento neto en el número de células. La progresión más allá de este punto es un evento muy raro que requiere la alteración por la mutación de oncogenes adicionales y genes supresores de tumores. Sin embargo, las células que tienen éxito en la superación de M2 se correlacionan fuertemente con la reactivación de la actividad de la telomerasa, la estabilización de los telómeros y la adquisición de un fenotipo inmortal. La telomerasa es activa en la línea germinal, así como en células madre, pero es inactiva en la mayoría de las células somáticas. Por otro lado, la telomerasa está activa en la mayoría de líneas celulares inmortalizadas y en 85-90% de los tumores humanos. En un estudio en células en cultivo (representando 18 tipos de tejidos humanos), se encontró que el 98% de células inmortales presentaban actividad telomerasa positiva, mientras que fue negativa en el 100% de las poblaciones de células mortales. De la misma manera, se encontró actividad telomerasa positiva en 90 de 101 biopsias (12

tipos de tumores humanos), pero ninguno de los 50 tejidos somáticos normales fue positivo<sup>54</sup>.

La experiencia clínica en pacientes con cáncer indica que algunos cánceres primarios y lesiones metastásicas se someten a un período de latencia antes de entrar en una etapa de crecimiento progresivo. Aunque este podría ser el paso más importante en la progresión del cáncer, los mecanismos subyacentes a la conversión entre un estado latente y uno en proliferación activa no se han dilucidado. Pocos estudios se han centrado en el papel de la telomerasa en la latencia del cáncer. Gauthier y colaboradores<sup>55</sup> encontraron actividad telomerasa en el 73% de los pacientes en etapa IIIB y IV de cáncer de pulmón de células no pequeñas, con células tumorales diseminadas, y en el 72% de los pacientes con cáncer de colon en etapas Dukes C y D. Por otro lado, se encontró actividad telomerasa en sangre periférica en 21 de 25 pacientes con cáncer de mama en estadio IV<sup>56</sup>. En ambos estudios, la actividad de la telomerasa no se detectó en las células de voluntarios sanos. Por lo tanto, la detección de actividad de la telomerasa en sangre o médula ósea parece ser altamente sugerente de células cancerosas diseminadas.

Pfizenmaier y colaboradores se centraron en buscar actividad telomerasa positiva en células tumorales diseminadas en sangre periférica o médula ósea<sup>57</sup>. El objetivo de ese estudio fue aislar grupos homogéneos de células epiteliales diseminadas, a partir de médula ósea de pacientes con cáncer de próstata clínicamente localizado, obtenido antes de la prostatectomía radical (PR). Sobre esas células se realizaron ensayos de actividad telomerasa, y asociaciones con variables clínicas. Este estudio muestra la factibilidad de aislar células cancerosas diseminadas y poder desarrollar una comparación entre células individuales y agrupadas. La tinción de tejidos permitió detectar actividad telomerasa en aproximadamente el 85% de las muestras, mientras que en las células tumorales diseminadas los índices de actividad telomerasa fueron más bajos (49%). Las células telomerasa-negativas pueden proporcionar información sobre la latencia celular, dado que la telomerasa es un marcador de la proliferación celular en células cancerosas e inmortales. Por su parte, las células telomerasa-positivas podrían utilizarse para predecir la recurrencia temprana de la enfermedad.

En general, se ha aceptado que el acortamiento telomérico es responsable de limitar la vida media de los fibroblastos humanos normales, así como la expresión de la telomerasa en las células es suficiente para superar la senescencia replicativa para otorgarle la inmortalidad. Aunque los mecanismos implicados en la regulación de la telomerasa no se han resuelto por completo, su comprensión progresiva es la base necesaria para la manipulación de la actividad de la telomerasa como un potencial blanco terapéutico contra el cáncer.

## Papel de la telomerasa en otras entidades patológicas

La primera enfermedad asociada con mutaciones en la telomerasa humana fue identificada en pacientes aquejados de un trastorno poco común, llamado disqueratosis congénita<sup>58</sup>. Generalmente las manifestaciones clínicas de la disqueratosis congénita aparecen durante la infancia e incluyen una tríada sintomatológica: pigmentación anormal de la piel, distrofia de las uñas, y leucoplasia oral. Los síntomas son acompañados por un espectro de otras anomalías somáticas tales como retraso en el desarrollo, pérdida prematura del cabello e incapacidad funcional de diversos órganos, siendo la insuficiencia de la médula ósea la principal causa de mortalidad prematura. Recientemente se han detectado mutaciones en telomerasa en el contexto de anemia aplásica<sup>59</sup>, síndrome de Hoyeraal-Hreidarsson<sup>60</sup> y la fibrosis pulmonar idiopática<sup>61</sup>. La anemia aplásica es un trastorno hematológico caracterizado por la reducción de los recuentos de glóbulos rojos, fallo de médula ósea, y enfermedad hepática y pulmonar. El síndrome de Hoyeraal-Hreidarsson es un trastorno multisistémico caracterizado por alteraciones de la médula ósea, inmunodeficiencia y grave retraso de crecimiento. La fibrosis pulmonar idiopática es una enfermedad crónica, progresiva y fatal, que se define por la fibrosis pulmonar irreversible. La característica molecular unificadora de estas enfermedades es que los telómeros de los pacientes son significativamente más cortos que los telómeros de los sujetos control emparejados por edad<sup>62</sup>.

## Actividades no teloméricas de la telomerasa

La telomerasa es esencial para el potencial proliferativo de las células madre, las células cancerosas y para la renovación normal de los tejidos. Sin embargo, se han descrito otras funciones más allá de su acción a nivel telomérico. En efecto, TERT puede funcionar como un modulador transcripcional de la vía de señalización de Wnt- $\beta$ -catenina<sup>63</sup>. TERT funciona como un cofactor en un complejo transcripcional de  $\beta$ -catenina a través de interacciones con una proteína de remodelación de la cromatina. Además, TERT puede actuar como una ARN polimerasa dependiente de ARN<sup>64</sup>; cuando TERT interactúa con el ARN mitocondrial es capaz de generar ARN doble cadena el cual puede ser procesado por la endorribonucleasa Dicer y actuar con ARNs i y regular los niveles de RNP por un mecanismo de retroalimentación negativa. También se han encontrado pruebas de que la telomerasa tiene un papel en la regulación de la apoptosis de manera independiente al mantenimiento de los telómeros<sup>65</sup>. TERT contiene en su extremo N-terminal una señal peptídica de localización mitocondrial, en donde es activa<sup>66</sup>. Además, se demostró que la telomerasa sensibiliza el ADN mitocondrial al daño oxidativo inducido por peróxido de

hidrógeno, probablemente a través de la modulación de la homeostasis de metal<sup>66</sup>. La localización mitocondrial de la telomerasa también tiene un papel importante en la apoptosis<sup>67</sup>.

En conclusión, a pesar de que la aplicación de terapias basadas en la depleción de la telomerasa o de su actividad no están aprobadas para uso clínico, podemos asumir que en base a los prometedores estudios *in vitro* e *in vivo* y los exitosos ensayos clínicos, pronto se podrá utilizar esta holoenzima como blanco terapéutico para combatir tumores malignos y enfermedades degenerativas. La gran cantidad de actores presentes en la regulación tanto de shelterina como del complejo telomerasa, permiten justificar la búsqueda activa de posibles moduladores, ya que el sistema telómero / telomerasa es un objetivo con prometedoras posibilidades de disminuir la viabilidad de las células tumorales con fines terapéuticos<sup>68</sup>. El conocimiento de este sistema es vital para cumplir con ese objetivo.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por la Universidad Nacional de Quilmes, ANPCyT, y CONICET. Daniel E. Gómez y Hernán G. Farina son miembros del CONICET. Daniel Gómez es miembro del Instituto Nacional del Cáncer de Argentina.

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. McClintock B. The Stability of Broken Ends of Chromosomes in Zea Mays. *Genetics* 1941; 26: 234-82.
2. Muller HJ. The remaking of chromosomes. *The Collecting Net* 1938; 13: 181-98.
3. Blackburn EH, Gall JG. A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in Tetrahymena. *J Mol Biol* 1978; 120: 33-53.
4. Etcheverry GJ. [Where chromosomes end. Nobel Prize of Physiology or Medicine 2009]. *Medicina (B Aires)* 2009; 69: 681-4.
5. Blackburn EH. Telomeres: no end in sight. *Cell* 1994; 77: 621-3.
6. Sandell LL, Zakian VA. Loss of a yeast telomere: arrest, recovery, and chromosome loss. *Cell* 1993; 75: 729-39.
7. Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell* 1985; 43: 405-13.
8. Meyne J, Ratliff RL, Moyzis RK. Conservation of the human telomere sequence (TTAGGG)<sub>n</sub> among vertebrates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86: 7049-53.
9. Lejnine S, Makarov VL, Langmore JP. Conserved nucleoprotein structure at the ends of vertebrate and invertebrate chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 2393-7.
10. Wright WE, Tesmer VM, Huffman KE, Levene SD, Shay JW. Normal human chromosomes have long G-rich telomeric overhangs at one end. *Genes Dev* 1997; 11: 2801-9.
11. Hansel R, Lohr F, Foldynova-Trantirkova S, Bamberg E, Trantirek L, Dotsch V. The parallel G-quadruplex structure of vertebrate telomeric repeat sequences is not the preferred folding topology under physiological conditions. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 5768-75.

12. Zvereva MI, Shcherbakova DM, Dontsova OA. Telomerase: structure, functions, and activity regulation. *Biochemistry (Mosc)* 2010; 75: 1563-83.
13. Linger BR, Price CM. Conservation of telomere protein complexes: shuffling through evolution. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2009; 44: 434-46.
14. Palm W, de Lange T. How shelterin protects mammalian telomeres. *Annu Rev Genet* 2008; 42: 301-34.
15. Martinez P, Blasco MA. Telomeric and extra-telomeric roles for telomerase and the telomere-binding proteins. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 161-76.
16. Chong L, van Steensel B, Broccoli D, Erdjument-Bromage H, Hanish J, Tempst P, et al. A human telomeric protein. *Science* 1995; 270: 1663-7.
17. Bianchi A, Stansel RM, Fairall L, Griffith JD, Rhodes D, de Lange T. TRF1 binds a bipartite telomeric site with extreme spatial flexibility. *EMBO J* 1999; 18: 5735-44.
18. Smogorzewska A, van Steensel B, Bianchi A, et al. Control of human telomere length by TRF1 and TRF2. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 1659-68.
19. Karlseder J, Broccoli D, Dai Y, Hardy S, de Lange T. p53- and ATM-dependent apoptosis induced by telomeres lacking TRF2. *Science* 1999; 283: 1321-5.
20. van Steensel B, de Lange T. Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. *Nature* 1997; 385: 740-3.
21. van Steensel B, Smogorzewska A, de Lange T. TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions. *Cell* 1998; 92: 401-13.
22. Gong Y, de Lange T. A Shld1-controlled POT1a provides support for repression of ATR signaling at telomeres through RPA exclusion. *Mol Cell* 2010; 40: 377-87.
23. Lee CC, Huang TS. A novel topoisomerase II poison GL331 preferentially induces DNA cleavage at (C/G)T sites and can cause telomere DNA damage. *Pharm Res* 2001; 18: 846-51.
24. Martinez P, Thanasoula M, Carlos AR, et al. Mammalian Rap1 controls telomere function and gene expression through binding to telomeric and extratelomeric sites. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 768-80.
25. Takai KK, Kibe T, Donigian JR, Frescas D, de Lange T. Telomere protection by TPP1/POT1 requires tethering to TIN2. *Mol Cell* 2011; 44: 647-59.
26. Tejera AM, Stagno d'Alcontres M, Thanasoula M, et al. TPP1 is required for TERT recruitment, telomere elongation during nuclear reprogramming, and normal skin development in mice. *Dev Cell* 2010; 18: 775-89.
27. Baumann P, Price C. Pot1 and telomere maintenance. *FEBS Lett* 2010; 584: 3779-84.
28. Schoeftner S, Blasco MA. Developmentally regulated transcription of mammalian telomeres by DNA-dependent RNA polymerase II. *Nat Cell Biol* 2008; 10: 228-36.
29. Nergadze SG, Farnung BO, Wischniewski H, et al. CpG-island promoters drive transcription of human telomeres. *RNA* 2009; 15: 2186-94.
30. de Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 2005; 19: 2100-10.
31. Hsiao SJ, Smith S. Tankyrase function at telomeres, spindle poles, and beyond. *Biochimie* 2008; 90: 83-92.
32. Cook BD, Dynek JN, Chang W, Shostak G, Smith S. Role for the related poly(ADP-Ribose) polymerases tankyrase 1 and 2 at human telomeres. *Mol Cell Biol* 2002; 22:332-42.
33. Chen Y, Yang Y, van Overbeek M, et al. A shared docking motif in TRF1 and TRF2 used for differential recruitment of telomeric proteins. *Science* 2008; 319: 1092-6.
34. Zhou XZ, Lu KP. The Pin2/TRF1-interacting protein PinX1 is a potent telomerase inhibitor. *Cell* 2001; 107: 347-59.
35. Sarthy JF, Baumann P. Apollo-taking the lead in telomere protection. *Mol Cell* 2010; 39: 489-91.
36. Deng Y, Guo X, Ferguson DO, Chang S. Multiple roles for MRE11 at uncapped telomeres. *Nature* 2009; 460: 914-8.
37. Kipling D, Faragher RG. Progeroid syndromes: probing the molecular basis of aging? *Mol Pathol* 1997; 50: 234-41.
38. Deng Z, Dheekollu J, Broccoli D, Dutta A, Lieberman PM. The origin recognition complex localizes to telomere repeats and prevents telomere-circle formation. *Curr Biol* 2007; 17:1989-95.
39. Deng Z, Norseen J, Wiedmer A, Riethman H, Lieberman PM. TERRA RNA binding to TRF2 facilitates heterochromatin formation and ORC recruitment at telomeres. *Mol Cell* 2009; 35: 403-13.
40. Bryan TM, Englezou A, Dalla-Pozza L, Dunham MA, Reddel RR. Evidence for an alternative mechanism for maintaining telomere length in human tumors and tumor-derived cell lines. *Nat Med* 1997; 3: 1271-4.
41. Dunham MA, Neumann AA, Fasching CL, Reddel RR. Telomere maintenance by recombination in human cells. *Nat Genet* 2000; 26: 447-50.
42. Wyatt HD, West SC, Beattie TL. InTERTpreting telomerase structure and function. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: 5609-22.
43. Fu D, Collins K. Purification of human telomerase complexes identifies factors involved in telomerase biogenesis and telomere length regulation. *Mol Cell* 2007; 28: 773-85.
44. Venteicher AS, Meng Z, Mason PJ, Veenstra TD, Artandi SE. Identification of ATPases pontin and reptin as telomerase components essential for holoenzyme assembly. *Cell* 2008; 132: 945-57.
45. Zhong F, Savage SA, Shkreli M, Giri N, Jessop L, Myers T, et al. Disruption of telomerase trafficking by TCAB1 mutation causes dyskeratosis congenita. *Genes Dev* 2011; 25: 11-6.
46. Bodnar AG, Kim NW, Effros RB, Chiu CP. Mechanism of telomerase induction during T cell activation. *Exp Cell Res* 1996; 228: 58-64.
47. Blasco MA, Rizen M, Greider CW, Hanahan D. Differential regulation of telomerase activity and telomerase RNA during multi-stage tumorigenesis. *Nat Genet* 1996; 12: 200-4.
48. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 1990; 345: 458-60.
49. Allsopp RC, Harley CB. Evidence for a critical telomere length in senescent human fibroblasts. *Exp Cell Res* 1995; 219: 130-6.
50. Campisi J. The biology of replicative senescence. *Eur J Cancer* 1997; 33: 703-9.
51. Vaziri H, Benchimol S. Reconstitution of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span. *Curr Biol* 1998; 8: 279-82.
52. Hastie ND, Dempster M, Dunlop MG, Thompson AM, Green DK, Allshire RC. Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature* 1990; 346: 866-8.
53. Counter CM, Avilion AA, LeFeuvre CE, et al. Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J* 1992; 11: 1921-9.
54. Dhaene K, Van Marck E, Parwaresch R. Telomeres, telomerase and cancer: an up-date. *Virchows Arch* 2000; 437: 1-16.
55. Gauthier LR, Granotier C, Soria JC, et al. Detection of circulating carcinoma cells by telomerase activity. *Br J Cancer* 2001; 84: 631-5.
56. Soria JC, Gauthier LR, Raymond E, et al. Molecular detection of telomerase-positive circulating epithelial cells in metastatic breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 971-5.
57. Pfitzenmaier J, Ellis WJ, Arfman EW, et al. Telomerase activity in disseminated prostate cancer cells. *BJU Int* 2006; 97: 1309-13.
58. Walne AJ, Dokal I. Dyskeratosis Congenita: a historical perspective. *Mech Ageing Dev* 2008; 129: 48-59.
59. Vulliamy T, Marrone A, Dokal I, Mason PJ. Association between aplastic anaemia and mutations in telomerase RNA. *Lancet* 2002; 359: 2168-70.

60. Nishio N, Kojima S. Recent progress in dyskeratosis congenita. *Int J Hematol* 2010; 92: 419-24.
61. Armanios M. Telomerase and idiopathic pulmonary fibrosis. *Mutat Res* 2012; 730: 52-8.
62. Armanios M. Syndromes of telomere shortening. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2009; 10: 45-61.
63. Park JI, Venteicher AS, Hong JY, et al. Telomerase modulates Wnt signalling by association with target gene chromatin. *Nature* 2009; 460: 66-72.
64. Maida Y, Yasukawa M, Furuuchi M, et al. An RNA-dependent RNA polymerase formed by TERT and the RMRP RNA. *Nature* 2009; 461: 230-5.
65. Cong Y, Shay JW. Actions of human telomerase beyond telomeres. *Cell Res* 2008; 18: 725-32.
66. Santos JH, Meyer JN, Skorvaga M, Annab LA, Van Houten B. Mitochondrial hTERT exacerbates free-radical-mediated mtDNA damage. *Aging Cell* 2004; 3: 399-411.
67. Santos JH, Meyer JN, Van Houten B. Mitochondrial localization of telomerase as a determinant for hydrogen peroxide-induced mitochondrial DNA damage and apoptosis. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 1757-68.
68. Tarkanyi I, Aradi J. Pharmacological intervention strategies for affecting telomerase activity: future prospects to treat cancer and degenerative disease. *Biochimie* 2008; 90: 156-72.

-----

El `Comité Internacional de Editores de Revistas Biomédicas` (ICMJE) actualizó y cambió el nombre a sus "Requisitos Uniformes para los Manuscritos Presentados a las Revistas Biomédicas" que normalizan los criterios para la preparación de manuscritos seguidos por la mayoría de las revistas biomédicas. El nuevo nombre, "Recomendaciones para la Realización, la Notificación/Información, la Edición, y la Publicación de Trabajos Académicos en las Revistas Médicas" (*ICMJE Recommendations*) y están disponibles en: <http://www.icmje.org/> Las revisiones más sustantivas se discuten en el sitio web de ICMJE ([http://www.icmje.org/new\\_recommendations.html](http://www.icmje.org/new_recommendations.html)).

Uno de los cambios más importantes es la adición de un cuarto criterio de autoría para enfatizar la responsabilidad de cada autor por la integridad del trabajo.

La autoría requiere:

- Contribución sustancial : la concepción o diseño de la obra , o la adquisición, análisis e interpretación de los datos para el trabajo, y
- Redactar el trabajo o revisar críticamente lo importante para el contenido intelectual,
- La aprobación final de la versión que se publicará, Y
- El acuerdo para ser responsable de todos los aspectos de la obra para garantizar que las cuestiones relativas a la exactitud o integridad de cualquier parte del trabajo se puedan investigar y resolver adecuadamente.

Autoría implica no solo el crédito por el trabajo, sino también la rendición de cuentas. La adición de un cuarto criterio fue motivada por situaciones en las que los autores individuales han respondido a las preguntas sobre la mala conducta científica que involucra algún aspecto del trabajo o documento negando la responsabilidad ("Yo no participé en esa parte del estudio o no escribí esa parte; pedir a otra persona") Cada autor de un artículo tiene que entender todo el alcance de la obra, saber qué co-autores son responsables de las contribuciones específicas, y tener confianza en la capacidad y la integridad de los coautores. Cuando surgen preguntas sobre cualquier aspecto de un estudio, la responsabilidad para investigar y asegurar la resolución de la cuestión recae sobre todos los autores.

Extractado de: [http://www.icmje.org/new\\_recommendations.html](http://www.icmje.org/new_recommendations.html) (Original en inglés); y de <http://www.espanol.equator-network.org/index.aspx?o=1029&newsitem=1268>