Artículo de revisión

Efecto de la posición del telómero en la regulación de la expresión génica

Elena Hernández Caballero*

RESUMEN

Los telómeros son estructuras importantes para la función celular debido a que participan en diversos procesos celulares, como la meiosis o la regulación transcripcional. Los telómeros son regiones de heterocromatina con características únicas debido a que forman un "T-loop" en los extremos de los cromosomas; estas estructuras son mantenidas y protegidas por proteínas teloméricas específicas, factores de unión a repetidos teloméricos 1 y 2 (TRF1, TRF2) y otras proteínas, como las implicadas en la reparación de la rotura de ADN de cadena doble. Recientemente, se está estudiando una función telomérica: la regulación de la transcripción de genes teloméricos cercanos. La importancia de esta función es que puede estar implicada en la senescencia celular y mediar la propensión a enfermedades como el cáncer.

Palabras clave: expresión génica, senescencia, longitud telomérica, efecto de posición telomérica.

ABSTRACT

Telomeres are important structures to cellular functions, because they participate in diverse cellular processes such as meiosis or transcriptional regulation. Telomeres are heterochromatin regions with unique characteristics because they form a T-loop at the ends; this structure is maintained and protected by telomeric specific proteins Telomeric Repeat binding Factor 1 and 2 (TRF1, TRF2) and other proteins such as those involved in double-stranded DNA repair. Recently, one of the telomere functions is being more studied: the transcriptional regulation of close telomeric genes. The importance of this function might involve in the cellular senescence and mediate the propensity to human disease such as cancer.

Key words: genic expression, senescence, telomérica length, TPE.

Desde el descubrimiento de los telómeros por McClintock y Muller hasta la actualidad, se ha incrementado el conocimiento de cómo funcionan estas estructuras de ADN. Las funciones más importantes de los telómeros son proteger y estabilizar el ADN lineal. Después del descubrimiento de la telomerasa, las investigaciones se enfocaron en los mecanismos que alargan los telómeros. Especialmente, porque se consideraba que la telomerasa era una herramienta potencial para tratar el cáncer y las enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Ahora se sabe que la longitud del telómero tiene una función crítica en el mantenimiento de la integridad cromosómica, en la meiosis y en la regulación de la transcripción génica. Recientemente, se ha estudiado esta última función, lo que ha llevado a descifrar paso a paso la vía que regula la expresión génica a través del silenciamiento relacionado con la posición del telómero y con su implicación en el envejecimiento humano.

ESTRUCTURA DE LOS TELÓMEROS

Los telómeros son regiones localizadas en los extremos de los cromosomas, los cuales están formados por secuencias repetidas de ADN, de cadena sencilla y de cadena doble. La cadena que comprende el extremo 3' es rica en guanosina y sobresale como una cadena sencilla.[1] Esta peculiar característica es importante debido a que esa saliente es esencial para la conformación

* Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, México, DF.

Correspondencia: Dra. Elena Hernández Caballero. Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional. Plan de San Luis, esq. Salvador Díaz Mirón s/n, colonia Casco de Santo Tomás, CP 11340, México, DF. Correo electrónico: ehdezc@yahoo.com
Recibido: julio, 2010. Aceptado: octubre, 2010.

Este artículo debe citarse como: Hernández-Caballero E. Efecto de la posición del telómero en la regulación de la expresión génica. Rev Esp Med Quir 2010;15(4):216-220.

www.nietoeditores.com.mx

tridimensional de cada telómero, porque los cromosomas lineales necesitan proteger los extremos de las actividades de reparación del ADN. La saliente 3'-OH invade la secuencia de repetidos teloméricos internos y forma una estructura en forma de horquilla llamada "T-loop", y la saliente queda escondida dentro del ADN.[2] La conformación precisa del T-loop es desconocida, pero la doble cadena es abierta debido a la invasión de la saliente 3', la cual desplaza una pequeña región de ADN para formar una segunda horquilla llamada "D-loop".[3] En humanos y otros mamíferos la secuencia telomérica es TTAGGG; las levaduras tienen secuencias de repetidos irregulares, mientras que *Drosophila* difiere de muchos otros eucariontes, ya que sus telómeros están formados por secuencias de repetidos de los retrotransposones HeT-A, TART y TAHRE.[4]

Las secuencias teloméricas tienen longitud y complejidad variables, que dependen de cada especie. El tamaño de los telómeros va desde los organismos unicelulares, con 38 kb, hasta docenas de kb en las células de mamíferos,[5] en las cuales se han reportado longitudes muy variables. De acuerdo con Sedivy y col., en el caso de los humanos la longitud telomérica es de 4 a 9 kb en células somáticas y de 15 a 20 kb en la línea germinal,[6,7] o de 18 a 25 kb en fibroblastos jóvenes y de 8 a 10 kb en fibroblastos senescentes.[8] Las células acortan sus telómeros con cada división debido al problema de la replicación terminal y al procesamiento posreplicación; como resultado, las células tienen una capacidad proliferativa finita, después de la cual pueden experimentar senescencia o apoptosis. La pérdida continua de ADN telomérico actúa como un reloj mitótico, y se considera que el agotamiento programado de estas estructuras es un mecanismo supresor de tumores que limita la capacidad proliferativa de las células. A través de la actividad de la telomerasa sólo las células de la línea germinal y las células madre y tumorales pueden mantener a los telómeros con una longitud constante.[9] Sin embargo, existe evidencia de que el estado de salud y el estrés fisiológico pueden afectar la tasa de acortamiento de la longitud telomérica.[10,11]

El mantenimiento de la estructura telomérica y la regulación de sus funciones son realizados por diversas proteínas, algunas de las cuales son únicas para los telómeros, como la TRF1 y la TRF2, las cuales en los telómeros preservan el equilibrio entre las actividades sintéticas y las actividades de degradación. Estas proteínas reclutan y activan nucleasas y otros factores de reparación y le permiten a la célula hacer la diferenciación entre extremos de cromosomas normales y ADN dañado. Complejos de proteínas se unen de manera específica al ADN telomérico, al de cadena doble y al de cadena sencilla.[12] Las proteínas TRF1 y TRF2 cubren en su totalidad a los telómeros. La TRF1 forma un complejo de múltiples proteínas, es una reguladora negativa que controla la longitud telomérica al regular la proteína de unión POT1 en la cadena sencilla del telómero y al controlar, mediante otras proteínas –como TIN2, PTOP/PIP1–, el acceso de telomerasa a los telómeros.[13,14] Por otro lado, el complejo de proteínas formado por TRF2 es particularmente importante porque protege la cadena sencilla, porque une ambas cadenas y porque permite la formación del T-loop;[2] por tanto, la TRF2 es una estabilizadora de la estructura telomérica, ya que también evita que los extremos sean considerados como ADN dañado, con lo cual previene su fusión[15] y, por tanto, el inicio de la senescencia celular.[16]

Inmediatamente después de la región telomérica, en dirección a los centrómeros, existe un área compuesta por secuencias subteloméricas, la cual representa el sitio de transición entre las secuencias específicas cromosómicas y los repetidos teloméricos que cubren cada extremo cromosómico.[12] Esas regiones actúan como un amortiguador para evitar la dispersión del silenciamiento que proviene de los telómeros, pero también puede haber regiones de unión a proteínas.[17] Entre las familias de genes subteloméricos están los genes para la cadena pesada alfa de la inmunoglobulina, los receptores olfatorios y los genes que codifican proteínas con dedos de cinc.[18]

SILENCIAMIENTO Y EFECTO DE POSICIÓN

Se ha demostrado que los telómeros están implicados en el proceso de silenciamiento transcripcional reversible; si un gen existe cerca de un telómero, resulta reprimido.[19] Existen diversos sistemas de represión; en eucariontes multicelulares y en *Drosophila* existe la variegación por efecto de posición (PEV por sus siglas en inglés) y en levaduras y en humanos, aunque en estos últimos han sido poco estudiados, existe el efecto de posición

telomérica (TPE por sus siglas en inglés).[20] Los efectos de posición son variables y altamente inestables, necesitan de la proximidad de un telómero y dependen de varias proteínas; además, el nivel de represión disminuye hacia el centrómero. En el caso de la variegación por efecto de posición la represión ocurre cuando un gen, que se localizaba normalmente en la eucromatina, se relocaliza por translocación cerca de un extremo roto de la heterocromatina.[21]

Actualmente, se acepta que el acortamiento telomérico en las células somáticas puede afectar la expresión de genes subteloméricos, lo cual modifica el ambiente celular y causa senescencia replicativa.[22] El efecto de posición telomérica fue descubierto en 1990, cuando se insertó una truncación terminal corriente abajo de URA3, un gen necesario para la síntesis de uracilo; este gen estaba aproximadamente a 6 kb del extremo del cromosoma y su expresión fue reprimida en forma reversible. Sin embargo, cuando el gen fue ubicado a 20 kb del extremo, no hubo represión; por tanto, la distancia influye el efecto de posición.[23] Por un largo tiempo se desconoció si el mismo efecto ocurría en los seres humanos; sin embargo, finalmente se demostró hace algunos años. Desde 1992 se había sugerido la posibilidad de que el efecto de posición telomérica existía en los humanos.[20] Sin embargo, la primera propuesta experimental para identificar este fenómeno no arrojó resultados positivos,[24] ya que no hubo cambios significativos cuando se generaron deleciones en el brazo largo del cromosoma X para analizar la expresión del gen de resistencia a la higromicina. Después de eso, cuando se estudió el efecto de la longitud telomérica sobre la expresión del promotor HSV-tk, usando la línea celular KB319, se integró en el telómero del cromosoma 13 un plásmido que contenía el gen para la neomicina fosfotrasferasa (*neo*). No se observó ningún efecto en la expresión del gen *neo* cuando la longitud fluctuó entre 25 y 0.5 kb, lo que sugirió que las diferencias estructurales en la cromatina –conferidas por la cercanía del telómero– no afectan a los genes que se encuentran cerca.[25] Para analizar el efecto de posición sobre la sincronización de la replicación se usó, como propuesta, una microdeleción de 130 kb en el extremo del brazo q del cromosoma 22 de un niño con retraso mental.[26] El resultado fue que los telómeros pueden influir la activación de orígenes adyacentes de replicación y retrasar la sincronía de la replicación de la mitad hacia el final de la fase S del ciclo celular. La evidencia más convincente de la existencia del efecto de posición telomérica en células humanas fue obtenida después de que se usó el gen de la luciferasa como reportero.[22] Cuando este reportero fue insertado junto a los repetidos teloméricos, hubo una disminución en su nivel de expresión de hasta 10 veces que cuando se insertó en sitios no teloméricos. Sin embargo, el efecto de posición telomérica humano necesita de las histonas desacetilasas para ser efectivo, ya que la expresión de la luciferasa se restauró cuando una clona fue tratada con tricostatina A (un inhibidor de histona desacetilasa). Resultados similares fueron obtenidos cuando el gen reportero EGFP se usó en la línea celular C33-A de un carcinoma cervical indiferenciado; aquí también se revirtió el efecto de represión usando tricostatina A.[27] Por tanto, se sugirió que el efecto de posición depende de la organización de la cromatina telomérica, por la deslocalización de las proteínas de heterocromatina HP1α y HP1β. A la fecha, sólo hay un reporte en el que de manera natural se ha estudiado el efecto de posición telomérica en genes localizados cerca de los telómeros; es decir, estudiando células jóvenes y células senescentes en las que se han acortado los telómeros y sugiriendo que la expresión de estos genes puede ser influida por la alteración de la estructura de la heterocromatina local.[28] Con estos antecedentes se ha propuesto que la heterocromatina telomérica obstruye el acceso al promotor, con lo cual evita que los factores de transcripción se unan al ADN. Pero, ¿cuál puede ser el efecto sobre las células? Cuando los telómeros se acortan hasta una longitud crítica, la replicación cesa y la senescencia celular se dispara. Una célula senescente es una célula viable y, metabólicamente, es una célula activa; sin embargo, no puede iniciar un nuevo ciclo de división celular en respuesta a un estímulo mitogénico.[29] La senescencia es considerada un mecanismo que limita el periodo de vida celular y constituye una barrera contra la inmortalización.[30] De esta manera, los cambios progresivos en las células presenescentes pueden ser el resultado de la reorganización de la cromatina telomérica y el subsecuente silenciamiento o antisilenciamiento de los genes cercanos. Aunque la pérdida del efecto de posición telomérica no dispara la senescencia, sí puede ser

responsable de los cambios progresivos en la expresión de los genes, como una función de la edad replicativa.[31] Las células senescentes tienen una morfología distintiva, como ser de mayor tamaño, tener apariencia aplanada, ser positivas a la tinción con β-galactosidasa y senescencia SA-β-gal y tener presencia de lipofucsina.[32] También se observan vacuolas citoplásmicas, mayor biogénesis lisosomal, reducción en la síntesis, degradación de proteínas[33] y una amplia alteración en la expresión génica.

Recientemente, realizamos una propuesta para estudiar el efecto de posición telomérica y encontramos que pueden observarse diferencias en la longitud telomérica al comparar niños y adultos sanos. La tinción con SA-β-gal se encontró relacionada con la edad debido a que las células provenientes del donador más joven (por un mes de edad) mostraron escasa positividad. Y considerando la posibilidad de que el silenciamiento transcripcional de genes cercanos a los telómeros se debe a que la heterocromatina telomérica obstruye al promotor, evitando, con ello, el acceso al aparato transcripcional, tal como se había sugerido previamente. Analizamos la expresión de varios genes y RASA3, ZMYND11 y Eu-HMTasa1 mostraron cambios en sus niveles de expresión.[34] Estos genes se localizan a no más de 200 kb de sus respectivos telómeros y se encontraron más expresados en células provenientes de adultos. Están implicados en el control de la proliferación y diferenciación celular, en la remodelación de la cromatina y en la compactación de cromatina.[35-37] Por tanto, estos genes son aptos para formar parte de la cascada de genes que conducen a la senescencia celular y que actúan como parte del efecto de posición telomérica (Figura 1).

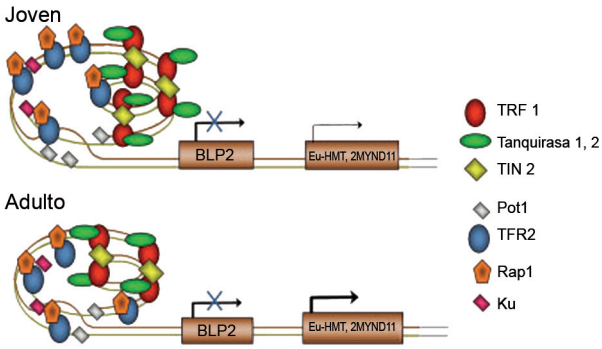

Figura 1. Un modelo para el efecto de posición telomérica. En células provenientes de personas jóvenes los telómeros son grandes; por tanto, el efecto de posición telomérica reprime la expresión génica adyacente. Por su parte, las células provenientes de personas adultas han pasado por un mayor número de duplicaciones, que han vuelto a sus telómeros más cortos, con la consecuente pérdida de repetidos teloméricos y proteínas asociadas, lo que permite que el efecto de posición telomérica –que influía a los genes cercanos– desaparezca y que la expresión de genes proximales ocurra, como es el caso de RASA3, ZMYND11 y Eu-HMTasa1 pero no del BLP2, el cual aún está muy cerca de la estructura telomérica.

CONCLUSIONES

Como se ha sugerido, la expresión de un gran número de genes se altera en las células senescentes, en comparación con su expresión en células jóvenes; esto indica que un programa genético es el responsable del fenotipo senescente, que puede estar ligado o afectado por el acortamiento de los telómeros, que ocurre durante la senescencia replicativa. Sin embargo, son necesarios más estudios para elucidar el papel específico de la estructura telomérica sobre los cambios en los niveles de expresión de los genes cercanos a los telómeros y provenientes de personas mayores, así como su interacción con procesos cercanamente relacionados con la metilación del ADN o la acetilación de histonas, ya que todas esas rutas están implicadas en la modificación del estado de la cromatina.

REFERENCIAS

1. Makarov VL, Hirose Y, Langmore JP. Long G tails at both ends of human chromosomes suggest a C strand degradation mechanism for telomere shortening. Cell 1997;88:657-666.
2. Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, Stansel RM, et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. Cell 1999;97:503-514.
3. Greider CW. Telomeres do D-loop-T-loop. Cell 1999;97:419-422.
4. Pardue MI, DeBaryshe PG. *Drosophila* telomeres: variation on the telomerase theme. Fly 2008;4:1-10.
5. Greider CW. Telomere length regulation. Annu Rev Biochem 1996;65:337-365.
6. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. Nature 1990;1:458-460.
7. Campisi J, Kim S, Lim C, Rubio M. Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection. Exp Gerontol 2001;36:1619-1637.
8. Sedivy JM. Can ends justify the means? Telomeres and the mechanisms of replicative senescence and immortalization in mammalian cells. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:9078-9081.

9. Counter CM. The roles of telomeres and telomerase in cell life span. Mutat Res 1996;366:45-63.
10. Cristofalo VJ, Allen RG, Pignolo RJ, Martin BG, Beck JC. Relationship between donor age and the replicative lifespan of human cells in culture: a reevaluation. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:10614-10619.
11. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. Proc Natl Acad Sci USA 2004;101:17312-17315.
12. McEachern MJ, Krauskopf A, Blackburn EH. Telomeres and their control. Annu Rev Genet 2000;34:331-358.
13. Smogorzewska A, Van Steensel B, Bianchi A, Oelmann S, et al. Control of human telomere length by TRF1 and TRF2. Mol Cell Biol 2000;20:1659-1668.
14. Zhou XZ, Lu KP. The PIN2/TRF1 interacting protein PinX1 is a potent telomerase inhibitor. Coll 2001;107:347-359.
15. Smogorzewska A, De Lange T. Regulation of telomerase by telomeric proteins. Annu Rev Biochem 2004;73:177-208.
16. Karlseder J. Telomere repeat binding factors: keeping the ends in check. Cancer Letters 2003;194:189-197.
17. Flint J, Bates GP, Clark K, Dorman A, et al. Sequence comparison of human and yeast telomeres identifies structurally distinct subtelomeric domains. Hum Mol Genet 1997;6:1305-1314.
18. Riethman H, Ambrosini A, Castaneda C, Finklestein J, et al. Mapping and initial analysis of human subtelomeric sequence assemblies. Genome Res 2004;14:18-28.
19. Perrod S, Gasser SM. Long-range silencing and position effects at telomeres and centromeres: parallels and differences. Cell Mol Life Sci 2003;60:2303-2318.
20. Wright WE, Shay JW. Telomere positional effects and the regulation of cellular senescence. Trends Genet 1992;8:193-197.
21. Mason JM, Konev AY, Biessmann H. Telomeric position effect in *Drosophila* melanogaster reflects a telomere length control mechanism. Genetica 2003;117:319-325.
22. Baur JA, Zou Y, Shay JW, Wright WE. Telomere position effect in human cells. Science 2001;292:2075-2077.
23. Gottschling DE, Aparicio OM, Billington BL, Zakian VA. Position effect at *S. cerevisiae* telomeres: reversible repression of Pol II transcription. Cell 1990;63:751-762.
24. Bayne RA, Broccoli D, Taggart MH, Thomson EJ, et al. Sandwiching of a gene within 12 kb of a functional telomere and alpha satellite does not result in silencing. Hum Mol Genet 1994;3:539-546.
25. Sprung CN, Sabatier L, Murnane JP. Effect of telomere length on telomeric gene expression. Nucleic Acids Res 1996;24:4336-4340.
26. Ofir R, Wong AC, McDermind HE, Skorecki KL, Selig S. Position effect of human telomeric repeats on replication timing. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:11434-11439.
27. Koering CE, Pollice A, Zibella MP, Bauwens AP, et al. Human telomeric position effect is determined by chromosomal context and telomeric chromatin integrity. EMBO Rep 2002;3:1055-1061.
28. Ning Y, Xu JF, Li Y, Chavez L, et al. Telomere length and the expression of natural telomeric genes in human fibroblasts. Hum Mol Genet 2003;12:1329-1336.
29. Sherr CJ, DePinho RA. Cellular senescence: mitotic clock or culture shock? Cell 2000;102:407-410.
30. Lleonart ME, Artero CA, Kondoh H. Senescence induction, a possible cancer teraphy. Mol Cancer 2009;8:3.
31. Wood JG, Sinclair DA. TPE or not TPE? It's no longer a question. TRENDS Pharmacol Sci 2002;23:1-4.
32. Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo*. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92:9363-9367.
33. Rubin H. Cell aging *in vivo* and *in vitro*; mech. Ageing Dev 1997;98:1-35.
34. Hernández CE, Herrera NE, Salamanca GF, Arenas AD. Role of telomere length in subtelomeric gene expression and its possible relation to cellular senescence. BMB Reports 2009;42(11):747-751.
35. Cullen PJ, Hsuan JJ, Truong O, Letcher AJ, et al. Identification of a specific Ins(1,3,4,5)P4-binding protein as a member of the GAP1 family. Nature 1995;376:527-530.
36. Velasco G, Grkovic S, Ansieau S. New insights into BS69 functions. J Biol Chem 2006;281:16546-16550.
37. Tachibana M, Ueda J, Fukuda M, Takeda N, et al. Histone methyltransferases G9a and GLP form heteromeric complexes and are both crucial for methylation of euchromatin at H3-K9. Genes & Dev 2005;19:815-826.