

# TELÔMEROS, TELOMERASE E CÂNCER

Henrique A. Parsons\*

## RESUMO

Há muito os telômeros e sua enzima mantenedora são ligados à gênese dos processos neoplásicos. O presente artigo tem por objetivo explorar o funcionamento dos telômeros e sua participação nos processos neoplásicos, bem como suas aplicações na prática clínica, como fatores prognosticadores do câncer, como auxiliares no diagnóstico e como ferramenta para alvo terapêutico futuro.

**Descritores:** neoplasias, telômero, telomerase, imortalidade celular.

Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba, v. 5, n. 1, p. 54-59, 2003

## INTRODUÇÃO

O câncer resulta da tétrede que inclui a perda da regulação do ciclo celular, a perda do controle sobre invasão e metástases, falha dos mecanismos apoptóticos e o sobrepajamento do envelhecimento.<sup>20</sup>

Desde 1971, quando Olovnikov e Watson demonstraram que os cromossomos jamais duplicam completamente seus terminais, essas regiões vêm sendo relacionadas com a evolução dos cânceres.

O surgimento de uma enzima específica, a telomerase, solucionava o chamado “problema dos terminais”, instigando ainda mais as pesquisas de sua relação com a imortalidade neoplásica.<sup>23</sup>

A presente revisão pretende sumarizar o conhecimento atual sobre a importância dos telômeros, da telomerase e de sua aplicação na oncologia, focalizando em duas das bases da oncologia: o sobrepajamento da senescência e a perda de regulação do ciclo celular.

## TELÔMEROS

Telômeros são estruturas de DNA situadas nos terminais dos cromossomos. São compostas por

seqüências extremamente simples - repetições TTAGGG,<sup>26, 32</sup> que são caracteristicamente regiões de heterocromatina.<sup>32</sup> Suas funções incluem a manutenção da integridade cromossômica, a garantia da replicação completa das extremidades dos cromossomos e o estabelecimento da estrutura tridimensional do núcleo celular.<sup>32</sup>

Os telômeros garantem a integridade cromossômica através da manutenção da estabilidade, uma vez que os terminais cromossômicos desnudos são frequentemente envolvidos com eventos recombinatórios não esperados ou simples degradação.<sup>32</sup>

A presença da seqüência telomérica garante o anelamento da telomerase que, por sua vez, garante a replicação completa do cromossomo em determinadas situações, conforme será discutido mais adiante.<sup>32</sup>

Nota-se que, nas células somáticas, é natural que o telômero diminua de tamanho durante seu ciclo de vida, numa taxa de cerca de 30 a 120 pares de base por replicação, sendo sinal de senescência.<sup>30</sup>

A região telomérica é a responsável pelo ancoramento dos cromossomos à membrana nuclear, garantindo a estrutura tridimensional do núcleo e, portanto, garantindo a correta distribuição espacial dos cromossomos, sugerindo uma função no posicionamento cromossômico para a replicação celular.<sup>32</sup>

## TELOMERASE

O DNA é duplicado com o auxílio da enzima DNA Ligase de forma semiconservativa, tendo cada nova molécula-filha de DNA, uma fita oriunda da molécula-mãe e uma fita recém-sintetizada.<sup>1</sup> A DNA Polimerase é eficaz em grande parte do cromossomo, porém, é totalmente inútil no final dos terminais teloméricos devido à impossibilidade de ação da Ligase por total falta de sítio para o seu anelamento à seqüência-mãe<sup>26, 35</sup> gerando o encurtamento dos telômeros.

\* Médico Residente do Hospital Sirio Libanês - SP/SP, Médico Clínico Geral do Hospital Metropolitano - SP/SP.

É no ponto de impossibilidade de ação do complexo DNA Polimerase-RNA Polimerase-Helicase-Ligase que a telomerase atua, impedindo o encurtamento telomérico.

A telomerase é um complexo enzimático terminal transferase ribonucleoprotéico<sup>13, 27</sup> cuja fração de RNA é complementar à seqüência telomérica, permitindo o seu anelamento à molécula neoformada.<sup>1, 26, 35</sup> Após o anelamento, a telomerase permite o alongamento da molécula, formando uma extensão telomérica tipicamente

repetitiva apenas na fita conservada da molécula-mãe, maior do que a original, permitindo a atuação do complexo RNA Polimerase-DNA Polimerase-Ligase, que alonga, por fim, a fita neoformada.

O alongamento final que permite o surgimento do telômero na nova molécula de DNA deixa uma seção não duplicada que será perdida sem efeito nocivo para a molécula como um todo, deixando então a nova dupla-fita com o mesmo comprimento telomérico da molécula que a originou (Figura 1).<sup>26, 35</sup>

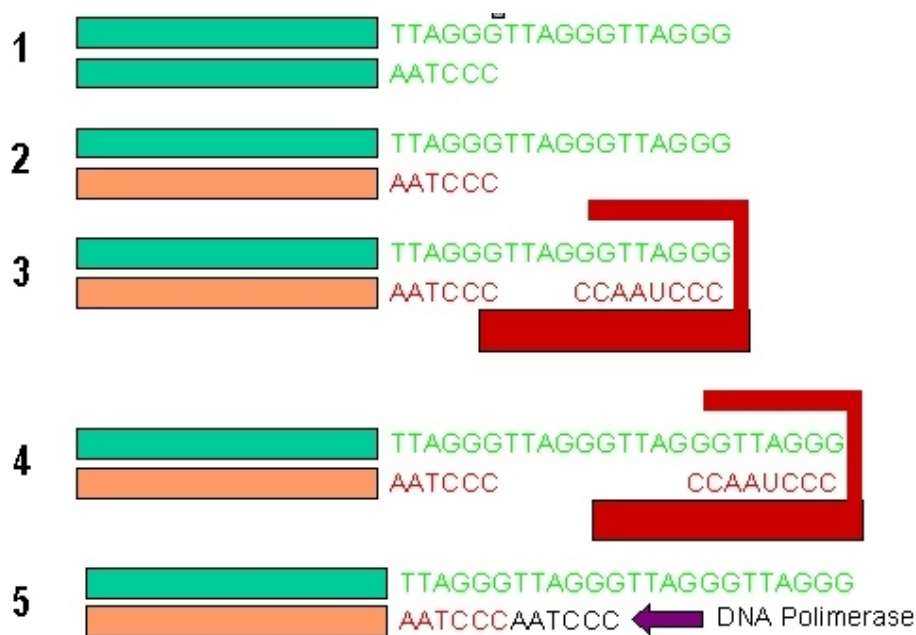


Figura 1. Representação esquemática da ação da telomerase. Na fase 1, vê-se a molécula-filha de DNA com o fragmento neoformado com seu terminal não duplicado. Na fase 2, está realçada a fração neoformada. Na fase 3, vê-se o complexo da telomerase com seu motivo RNA complementar à repetição telomérica. A telomerase, na fase 4, já ampliou a seqüência da fita conservada. Com o segmento conservado alongado, a DNA Polimerase pode atuar (seta) normalmente, permitindo a duplicação do segmento telomérico na fita neoformada.

A telomerase encontra-se ativa nas células germinativas, progenitoras e tumorais. Nas células somáticas, a telomerase encontra-se reprimida.<sup>25</sup> A ativação da telomerase leva à imortalização celular, enquanto a repressão leva a uma contínua redução do tamanho cromossômico que acaba por levar à morte celular.<sup>25</sup>

### CÂNCER E IMORTALIDADE CELULAR

Uma característica marcante das células neoplásicas é a sua imortalidade, que é

geneticamente determinada.<sup>13</sup> Por alterações várias, a célula escapa do ciclo celular normal, aumentando o tempo de vida e o tempo de permanência em replicação celular.<sup>7</sup>

O conceito de imortalidade está intimamente ligado ao conceito da existência de um “relógio celular”, um “replicômetro”, capaz de contar o número de replicações celulares e determinar sua cessação. Células não neoplásicas têm um número limite de divisões que é determinado pelos telômeros.<sup>13</sup>

Já as células neoplásicas perdem esse limite e isto se dá pela expressão da telomerase. Cerca de 90% de todas as neoplasias humanas estudadas apresentam altos níveis de expressão de telomerase.<sup>5,13</sup> Pode-se concluir, então, que os telômeros fazem o papel de “replicômetro”.<sup>13</sup>

O comprimento telomérico das linhagens celulares imortais varia com o tempo tanto para mais quanto para menos, revelando uma atividade compensatória reativa da telomerase.<sup>31</sup>

### **CÂNCER, TELOMERASE E INSTABILIDADE GENÉTICA**

A instabilidade genética é outra característica das neoplasias, que cursam com formação de recombinações, fusões levando a amplificações gênicas e até a alterações de segregação cromossômica que podem causar aneuploidias. Quebras cromossômicas nas regiões teloméricas podem ser a gênese de vários desses problemas.<sup>30</sup>

As aneuploidias levam à instabilidade genética com retenção na fase G1 do ciclo celular, que pode paralisá-lo ou levar a quebras e fusões.<sup>18, 31</sup> Nesses casos, o que ocorre são quebras cromossômicas próximas aos telômeros, causando a formação de alterações citogenéticas. Nota-se que a despeito do papel imortalizador, os telômeros têm importante papel na gênese de outras alterações moleculares que causam o câncer.<sup>18</sup> A inabilidade na manutenção telomérica em algumas neoplasias é tão importante quanto a habilidade de manutenção em outras.<sup>30</sup>

### **EVIDÊNCIAS DE ALTERAÇÃO TELOMÉRICA/TELOMERÁSICA EM NEOPLASIAS**

Sabe-se que os carcinomas em geral ocorrem em pacientes mais idosos (sabidamente os telômeros diminuem de comprimento nos pacientes idosos), enquanto os pacientes mais jovens (com telômeros em média mais longos) costumam apresentar mais linfomas e sarcomas.

Em estudo realizado em camundongos nulizigotos para o gene supressor de tumor p53, aqueles com telomerase funcionante apresentaram maior incidência de sarcomas e linfomas, num comportamento semelhante aos jovens. Já os camundongos com telomerase não funcionante

desenvolveram mais freqüentemente carcinomas.<sup>2, 17</sup>

Nos carcinomas intestinais, a disfunção telomérica promove a instabilidade genética fundamental para a carcinogênese inicial, mas a ativação posterior da telomerase permite a estabilidade genômica necessária para a progressão tumoral.<sup>24</sup> Em neoplasias de pele, o aumento da expressão da telomerase contribui para a transformação maligna.<sup>10</sup>

Dentre os tumores ginecológicos, estudo feito em células metastáticas de neoplasias ovarianas demonstrou telômeros mais curtos do que em células isogênicas não neoplásicas, porém, com atividade aumentada da telomerase, demonstrando um provável início da atividade telomérica após várias divisões celulares. Esse resultado leva a crer em uma função da telomerase na perpetuação do processo neoplásico e não somente como um iniciador do processo.<sup>6,12</sup>

Em estudo realizado com pacientes portadoras de neoplasias ovarianas do cordão sexual (neoplasia de células da granulosa e de células de Leydig-Sertoli), aquelas com tumores com alta atividade de telomerase apresentaram sobrevida média de 66,5 meses, enquanto as pacientes cujos tumores apresentavam atividade baixa da enzima, a sobrevida média era de 90 meses.<sup>9</sup> Dentre as neoplasias endometriais, um estudo realizado na China revelou aumento da atividade da telomerase em 81,8% dos casos e dentre as cervicais, esse aumento ocorreu em 100% dos casos. Esse mesmo estudo procurou provar alterações do comprimento dos telômeros e correlacioná-las com prognóstico e estadiamento, sem sucesso.<sup>33</sup> Outro estudo, porém, foi capaz de demonstrar relação do prognóstico com a atividade da telomerase com rápida progressão dos adenocarcinomas endometriais do útero com alta atividade da enzima.<sup>4</sup>

Quanto às neoplasias de mama, há relação comprovada entre a atividade da telomerase e o estadiamento TNM com 68% de neoplasias com telomerase ativa no estágio I e 95% de atividade no estágio IV.<sup>15,21</sup>

Um grande estudo realizado sobre as neoplasias da tireóide conseguiu provar elevação da atividade da telomerase nesses tumores, porém, sem relação com o tipo histológico.<sup>19</sup>

A atividade da telomerase está aumentada em metade dos casos de retinoblastoma, nos casos com telômeros curtos.<sup>11</sup>

Nas tumorações prostáticas, o comprimento telomérico (menor que o habitual) e a atividade alta da telomerase são indicadores de malignidade.<sup>29</sup> O conteúdo telomérico permite a diferenciação dos pacientes de alto risco para doença metastática daqueles que evoluirão de forma indolente, permitindo evitar tratamentos agressivos.<sup>8</sup>

### DETERMINAÇÃO LABORATORIAL DA TELOMERASE APLICAÇÕES DIAGNÓSTICAS

A determinação laboratorial dos níveis de telomerase é feita através de uma PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), usando iniciadores específicos para o mRNA de *hTERT*, gene ativador da telomerase, permitindo o estudo do grau de expressão que é diretamente relacionado à quantidade de mRNA.<sup>20</sup> É possível determinar dosagens de telomerase muito baixas até mesmo em tecidos somáticos adultos.<sup>20</sup>

Outro método geralmente usado é o TRAP (*Telomerase Repeat Amplification Protocol*), através do qual um extrato tecidual suspeito é exposto a um pequeno *primer* de DNA, sendo esperado que na presença da telomerase no extrato haja extensão de uma seqüência telomérica a partir do *primer*.

Para detecção da atividade telomérica, o conjunto é, então, amplificado por PCR e separado em gel de poliacrilamida. Para confirmarmos a presença de atividade telomérica, o gel deve revelar um crescendo de bandas diferindo de seis pares de bases cada uma (equivalente às repetições TTAGGG).<sup>14, 20</sup> É possível determinar o volume de cada banda por densitometria, definindo-se, então, o grau de expressão.<sup>14</sup>

Como é possível haver telomerase atuando em tecidos somáticos de algumas origens específicas, atualmente, a tendência é preferir os ensaios que mantêm a estrutura tecidual para o estudo da telomerase *in situ*. Esses métodos incluem a hibridização *in situ* e a imunohistoquímica.<sup>16</sup>

A detecção dos níveis de telomerase pode ser útil em algumas neoplasias para o diagnóstico de malignidade e prognóstico, como nas neoplasias de mama com 93% de especificidade.<sup>28</sup>

Estudos em neoplasias de bexiga, trato biliar, pulmão (estudo de lavados bronco-alveolares e do líquido pleural) e cérebro (estudo do líquido) permitiram confirmar a eficácia da determinação

laboratorial da telomerase e também confirmaram que a presença de processo inflamatório local leva a falso-positivos em estudos de lisados celulares.<sup>16</sup>

### MANUTENÇÃO TELOMÉRICA COMO ALVO TERAPÊUTICO

Uma das mais importantes questões que envolvem o tratamento oncológico é a falta de especificidade do tratamento.

Atualmente, muitas pesquisas voltam seus esforços na tentativa de desenvolver drogas capazes de atingir a neoplasia sem grandes destruições celulares extraneoplásicas. A telomerase é um potencial alvo para tais terapias. Sabendo-se que a ação telomérica está presente em praticamente todos os cânceres, este pode ser o “tendão de Aquiles” da neoplasia. A inibição da telomerase levaria a célula neoplásica a uma reentrada no ciclo celular normal que, por sua vez, a levaria a constantes erosões teloméricas com evolução para a morte celular.<sup>3</sup>

A inibição da telomerase está sendo estudada através de, pelo menos, dois prismas básicos distintos. Como a telomerase funciona como uma transcriptase reversa, os agentes inibidores da transcriptase reversa estão sendo testados, entre eles, o AZT (azidotimidina-trifosfato, zidovudina), o Ara-GTP (arabinofuranil-guanosina trifosfato) e o ddITP (dideóxi-inosina trifosfato). Foi provado que o uso dessas drogas inibe, *in vitro*, a ação da telomerase com importante redução dos terminais teloméricos rapidamente.<sup>3</sup>

Estudos em neoplasias humanas provaram uma diminuição importante da atividade telomérica e, portanto, do comprimento telomérico.<sup>3, 22</sup> O segundo prisma através do qual a terapia antitelomérica está sendo estudada é a terapia com DNA *anti-sense* (complementar a uma seqüência), usando sondas contra o RNAm de uma proteína celular fundamental para a ação da telomerase, *hTERT*, impedindo sua ação. Com os recentes avanços em terapia *anti-sense*, inclusive com alguns sucessos, pesquisas sobre essas terapias e telomerase vêm sendo desenvolvidas.<sup>3</sup>

### CONCLUSÃO

Do exposto, pode-se verificar que os telômeros e a telomerase com função fisiológica

somente nas células tronco e germinativas têm função crucial no surgimento e/ou manutenção das neoplasias.

A evolução da oncologia e, principalmente, da terapêutica oncológica passa obrigatoriamente pela biologia molecular e um de seus focos é a atividade telomérica. São muitos os estudos sobre o assunto, o que leva a crer no uso da telomerase como alvo diagnóstico, prognóstico e até terapêutico em um futuro não muito distante.

### ABSTRACT

Telomeres and their maintaining enzyme have been implicated to neoplastic processes genesis. This article aims to explore telomere dynamics and their participation in neoplastic processes, as their uses in medicine, as prognostic factors, diagnostic tools and therapeutic target in future.

**Key-words:** neoplasm, telomere, telomerase, cellular immortality.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alberts B et al. *Biologia molecular da célula*. Porto Alegre; Artes Médicas Sul: 1994. p.251-62,364.
2. Artandi SE et al. Telomere dysfunction promotes non-reciprocal translocations and epithelial cancers in mice. *Nature* 2000;406:641-4.
3. Bearss DJ, Hurley LH, Von Hoff DD. Telomere maintenance mechanisms as a target for drug development. *Oncogene* 2000;19:6631-41.
4. Bonatz G et al. High telomerase activity is associated with cell cycle deregulation and rapid progression in endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Hum Pathol* 2001; 32(6):605-14.
5. Chin C, Harley CB. Replicative senescence and cell immortality: the role of telomeres and telomerase. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997;99-106.
6. Counter CM et al. Telomerase activity in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:2900-4.
7. Devitta VT, Hellman S, Rosenberg S. *Principles and practice of oncology*. 5<sup>th</sup> ed. CD-ROM. Lippincot-Raven: 1995.
8. Donaldson L et al. Association between outcome and telomere DNA content in prostate cancer. *J Urol* 1999;162:1788-92.
9. Dowdy SC et al. Telomerase activity in sex cord-stromal tumors of the ovary. *Gynecol Oncol* 2001;82:257-60.
10. González-Suárez E et al. Telomerase-deficient mice with short telomeres are resistant to skin tumorigenesis. *Nat Genet* 2000;26:114-7.
11. Gupta J et al. Development of retinoblastoma in the absence of telomerase activity. *J Natl Cancer Inst* ;88(16):1152-6.
12. Haber D. Telomeres, cancer and immortality. *N Engl J Med* 1995;332(14) 55-6.
13. Hayflick L. The illusion of cell immortality. *Br J Cancer* 2000;83(7):841-6.
14. Hess JL, Highsmith E. Telomerase detection in body fluids. *Clin Chem* 2002;48(1):18-24.
15. Hiyama E et al. Telomerase activity in human breast tumors. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88:116-22.
16. Keith WN, Evans TRJ, Glasspool RM. Telomerase and cancer: time to move from a promising target to a clinical reality. *J Pathol* 2001;195:404-14.
17. Larsen CJ. Anomalies des télomères remaniements chromosomiques et cancers: un modèle explicatif de la formation des carcinomes. *Bull Cancer* 2000;87(10):694-5.
18. Lengauer C. How do tumors make ends meet? *PNAS* 2001;98(22):12331-3.
19. Matthews P et al. Telomerase activity and telomere length in thyroid neoplasia: biological and clinical implications. *J Pathol* 2001;194:183-93.
20. Matthews P, Jones J. Clinical implications of telomerase detection. *Histopathology* 2001;38:485-98.
21. Mokbel K. The role of telomerase in breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2000; 26:509-14.
22. Multani AS et al. Reduction of telomeric signals in murine melanoma and human breast cancer cell lines treated with 3'-azido-2'-3'-dideoxythymidine, *Int J Oncol* 1998;13(5):923-5.
23. Ruddon RW. Alterations of cellular differentiation in cancer. In: *Cancer biology*, 3<sup>rd</sup> ed. New York; Oxford University: 1995. p.141-230.
24. Rudolph et al. Telomere dysfunction and evolution of intestinal carcinoma in mice and humans. *Nat Genet* 2001;28:155-9.
25. Ruiz AS, Angosto MC. Implicaciones fisiopatológicas de la telomerasa. *An R Acad Nac Med (Madr)* 2000;117(2):427-44.
26. Russel PJ. *Genetics*. 4<sup>th</sup> ed. New York; Harper Collins College: 1996. p.340-1, 359-78.
27. Shay JW et al. Telomerase and cancer. *Hum Mol Genet* 2001;10(7):677-95.
28. Šimidková M et al. Quantitative determination of telomerase activity in breast cancer and benign breast diseases. *Neoplasma* 2001;48(4):267-72.
29. Sommerfeld HJ et al. Telomerase activity: A prevalent marker of malignant prostate tissue. *Cancer Res* 1996;56:218-22.
30. Sprung CN et al. Telomere Instability in a human cancer cell line. *Mutat Res* 1999; 429:209-23.
31. Sprung CN, Sabatier L, Murnane JP. T elomere dynamics in a human cell line. *Exp Cell Res* 1999; 247:29-37.
32. Strachan T, Read AP. *Chromosomes in cells*. In: *Human Molecular Genetics 2*. Oxford; Bios Scientific: 1999. p.27-53.
33. Wang SJ et al. The relationship between telomere length and telomerase activity in gynecologic cancers. *Gynecol Oncol* 2002;84:81-4.
34. Yashima K et al. Expression of the RNA component of telomerase during human development and differentiation. *Cell Growth Differ* 1998;9(9):805-13.

35. Zakian VA. Telomeres: beginning to understand the end  
Science 1995,270(5242):1601-7.