

BIOLOGIA
TELOMERILOR UMANI

RADU G. HERTZOG

**BIOLOGIA
TELOMERILOR UMANI**



**EDITURA UNIVERSITARĂ
București**

Colecția MEDICINĂ

Redactor: Gheorghe Iovan
Tehnoredactor: Ameluța Vișan
Coperta: Radu G. Hertzog

Editură recunoscută de Consiliul Național al Cercetării Științifice (C.N.C.S.) și inclusă de Consiliul Național de Atestare a Titlurilor, Diplomelor și Certificatelor Universitare (C.N.A.T.D.C.U.) în categoria editurilor de prestigiu recunoscut.

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

HERTZOG, RADU G.

Biologia telomerilor umani / Radu G. Hertzog. - București : Editura
Universitară, 2023

Conține bibliografie
ISBN 978-606-28-1580-6

61

DOI: (Digital Object Identifier): 10.5682/9786062815806

© Toate drepturile asupra acestei lucrări sunt rezervate, nicio parte din această lucrare nu poate fi copiată fără acordul Editurii Universitare

Copyright © 2023
Editura Universitară
Editor: Vasile Muscalu
B-dul. N. Bălcescu nr. 27-33, Sector 1, București
Tel.: 021.315.32.47
www.editurauniversitara.ro
e-mail: redactia@editurauniversitara.ro

Distribuție: tel.: 021.315.32.47 / 0745 200 718/ 0745 200 357
comenzi@editurauniversitara.ro
www.editurauniversitara.ro

FOREWORD

Cell aging underlies all age-related disease. As we grow older, cells divide, telomeres shorten, gene expression alters, molecular turnover slows, molecular dysfunction increases, cells become less functional, and the outcome is age-related disease, such as dementia and cardiovascular disease. Only by truly understanding the fundamental process of aging – at the cellular, genetic, and epigenetic levels – can we intervene effectively in age-related disease. We are now capable of reversing cell aging and resetting cell function, permitting us to cure and prevent age-related disease. The outcome will be a dramatic extension of the healthy human lifespan.

Curing age-related disease cannot be accomplished by targeting the symptoms or biomarkers of age-related diseases, but requires that we reset cell aging itself. This was first accomplished in human cells and human tissues two decades ago and in animals one decade ago. We now have the ability to use gene therapy – with techniques employed in FDA trials – to move to human trials and demonstrate that we can reverse cell aging and both cure and prevent age-related disease.

Since its discovery, the telomerase has become a therapeutic target thanks to its pivotal role in aging delay by up-regulation or in cancer blocking by down-regulation. Many research studies have been focused on manipulating the telomerase expression, less research and clinical laboratories perform biological age testing and just few pharmaceutical and biotech companies are developing telomere/telomerase based therapeutic solutions to get healthy and extended life.

Therefore, any book, study, IVD or molecule candidate about aging is wellcome. Getting knowledges about telomere and telomerase is a prerequisite for those interested to understand aging process and, moreover, to slow it down.

I believe that this book could be a good topic for Romanian researchers to be aware of the telomeres importance not just from

scientific curiosity but to encourage institutes or small companies to find new telotherapeutic tools in order to fight against aging and age related diseases.

Professor **Michael Fossel** MD PhD
President and founder



CUVÂNTUL AUTORULUI

De la descoperirea lor în 1938 de către Herman J. Muller și până în prezent, interesul științific pentru capetele cromozomilor a avut o evoluție interesantă. Dacă la început, interesul pentru studiul terminațiilor cromozomilor a fost foarte scăzut, imediat după demonstrarea rolului lor în menținerea integrității cromozomilor de către Barbara McClintock în anul 1940, interesul oamenilor de știință a crescut din ce în ce mai mult atingând un punct maxim în anii 2000 când a fost evidențiat rolul disfuncției telomerilor în senescență, în dezvoltarea cancerului și a bolilor asociate procesului de îmbătrânire.

Ca multe alte descoperiri majore care la început au provocat amuzamentul publicului sau mai grav persecutarea autorilor, discuțiile despre existența microcosmosului telomeric nu ar fi stârnit poate decât râsul în urmă cu 100 de ani. Cu toate acestea, în menținerea lungimii telomerilor stă puterea de care are nevoie viața pentru a se împotrivi morții.

Numeroase studii despre factorii cauzativi ai procesului de îmbătrânire și ai bolilor asociate au revoluționat domeniul telomeric al cromozomilor umani și au deschis noi căi de abordare a mecanismelor moleculare și celulare ale proceselor de îmbătrânire și tumorigeneză. De altfel, progresele realizate în domeniul cunoașterii bolilor asociate îmbătrânirii au condus în mare parte la înțelegerea fenomenelor fundamentale care caracterizează acest proces.

Îmbătrânirea organismului și dezvoltarea bolilor asociate acestui proces preocupă deopotrivă atât oamenii de știință cât și simpli cetățeni. Tot mai mult apare întrebarea: este posibil ca procesul de îmbătrânire să fie întârziat și speranța de viață să fie extinsă? Înainte de a se răspunde la această întrebare, ar fi bine să ne amintim de celebra maximă a lui Cicero *“Pugnandum tamquam contra morbum sic contra senectutem”* (Să luptăm împotriva senectuții așa cum luptăm împotriva morții) și să acționăm în consecință. Pentru aceasta este nevoie să se înțeleagă mai întâi mecanismele moleculare și celulare care stau la baza evoluției procesului de îmbătrânire și apoi să se dezvolte strategii eficiente care să conducă la

întârzierea apariției bolilor bătrâneții, care sunt principalele cauze ale morții, dar fără să crească riscul de apariție a cancerului, deopotrivă o boală a bătrâneții.

O carte despre structura și funcțiile telomerilor în contextul senescentei celulare și al îmbătrânirii este mai mult decât necesară în țara noastră unde acest domeniu spectaculos al telomerilor și telomerazei ocupă un spațiu redus în cercetarea științifică. Deși în ultimii ani s-au făcut progrese însemnate în cunoașterea structurii și a funcțiilor telomerilor dar și în domeniul celor mai multe dintre proteinele asociate acestora, există încă o mulțime de necunoscute cu privire la funcțiile unora dintre ele, la mecanismele moleculare prin care mutații ale genelor lor declanșează o anumită patologie.

Nu este încă bine înțeles mecanismul maturării hTR cum nu este clară reglarea expresiei hTR. Funcția biologică a cvadruplexului G rămâne puțin cunoscută. De asemenea, nu este încă bine stabilită structura hTERT, iar mecanismul prin care scurtarea telomerilor cauzează blocarea diviziunii celulare rămâne încă necunoscut. Nu în ultimul rând, scurtarea telomerilor reprezintă cauza sau este doar consecința îmbătrânirii?

Câteva provocări în acest domeniu sunt de foarte mare actualitate.

Studiul rolului factorilor epigenetici și al moleculelor TERRA în dezvoltarea cancerului este o arie de foarte mare interes. Studiul mutațiilor genelor pentru proteinele asociate telomerilor ar putea conduce la descoperirea altor condiții patologice alături de cele cunoscute.

Senescenta celulară este un alt subiect de dezbatere științifică pentru că nu s-au făcut încă progrese remarcabile în înțelegerea și ingineria mecanismelor moleculare ale senescentei. Descifrarea căilor de semnalizare ale senescentei celulare constituie un obiectiv important al cercetării științifice internaționale.

Un alt domeniu incitant îl constituie ingineria tisulară care urmărește restabilirea, menținerea funcțiilor țesuturilor în urma unor boli sau procese traumatice.

De asemenea, este important să se cerceteze rolurile hTERT în mitocondrii ținând seama de importanța acestora în celule.

Telomeraza, prin cantitate, dar mai ales prin activitate, reprezintă un reglator al vitezei cu care viața se îndreaptă către eșafod.

Inhibiția și/sau reactivarea telomerazei au revoluționat medicina curativă. Dezvoltarea unor produse medicamentoase sau a unor strategii de represie telomerazică în scop terapeutic sunt domenii de cercetare cu foarte mare impact asupra persoanelor afectate de boala canceroasă.

Structura telomerilor trebuie să fie o țintă nouă a terapiei anticanceroase. Reactivarea telomerazei în celulele normale are un impact major pentru viitorul medicinei geriatrice. Dezvoltarea unor activatori ai telomerazei, fără ca aceștia să inducă o transformare celulară, este un obiectiv major al companiilor farmaceutice.

Deși am încercat să cuprind sintetic în această carte tot ce este legat de lungimea, structura, integritatea, funcțiile și disfuncțiile telomerilor, vreau să transmit cititorilor interesați că unele subiecte pot avea lacune deoarece, așa cum am menționat mai sus, cercetarea în acest domeniu este în plină ascensiune și informațiile apar permanent.

Am văzut că de câte ori apare o tehnologie sau o terapie, ca rezultat al cercetării științifice făcută onest, cu bună credință, de către oamenii de știință, nu întârzie să apară indivizi care socotesc să folosească beneficiile științei în interes personal. Nu este de mirare faptul că terapiile care urmăresc blocarea activității miostatinei (o proteină care reglează negativ creșterea masei musculare), utilizate în miopatii (ex. distrofia musculară Duchenne), au atras mai mult pe practicanții de culturism decât pe cei cu afecțiuni degenerative. Parcă în același mod în care sunt reprezentate cele două fețe ale zeului roman Janus, utilizarea variantei negative din dualitatea oricărei inovații reprezintă un risc permanent pentru specia umană.

Dincolo de beneficiile aduse calității vieții oamenilor sau de mirajul imortalității, metodele de întârziere a îmbătrânirii prin senolitice, terapii cu celule stem, mijloace non-farmacologice, folosirea telomerazei sau manipularea mecanismelor de modulare a lungimii telomerilor, s-ar putea dovedi extrem de periculoase pentru evoluția omului, dar nu atât din motive medicale cât mai ales sociale, oferind oportunitatea prelungirii duratei de viață tocmai pentru unii indivizi care nu ar fi meritat să se nască, alimentându-se astfel rezerva de dictatori și tirani. Poate nu întâmplător durata de viață este limitată.

Nemurirea nu este și nu va fi un câștig pentru umanitate în general, dar mai ales dacă permitem să se strecoare personaje dezechilibrate care pândesc să obțină tot ceea ce oferă știința mai bun.

Cu toate acestea, omenirea are nevoie de un vis, așa de frumos evocat în folclorul românesc, „tinerețe fără bătrânețe și viață fără de moarte”.

Autorul

CUPRINS

Foreword	5
Cuvântul autorului	7
Abrevieri	16
1. Telomerul	19
1.1. Istoria telomerilor	19
1.2. Telomerii la nivel celular	20
1.2.1. Lungimea telomerilor	22
1.2.2. Durata de viață	27
1.2.3. Interacțiunea telomerilor cu structurile nucleare.....	30
1.3. Funcțiile telomerilor	31
1.4. Telomerii la nivel molecular	32
1.4.1. ADN telomeric.....	32
1.4.1.1. Cvadrupelexuri G.....	34
1.4.2. Proteinele telomerice.....	35
1.4.2.1. Complexul șelterin	36
1.4.2.2. Alte proteine telomerice.....	45
1.4.3. Interacțiuni telomerice.....	51
1.5. Efectul de poziție al telomerilor.....	54
1.6. Cromatina telomerilor	56
1.7. Telomerii celulelor meiotice	60
2. Telomeraza	64
2.1. Arhitectura telomerazei	65
2.1.1. Subunitatea ARN	65
2.1.2. Subunitatea catalitică	72
2.1.3. Proteine asociate telomerazei.....	75
2.2. Gena hTERT	77
2.2.1. Structura genei hTERT.....	78
2.2.2. Reglarea expresiei genei hTERT.....	79
2.2.2.1. Reglarea transcripției genei hTERT	80
2.2.2.2. Reglarea expresiei hTERT prin splicing alternativ	84
2.2.2.3. Reglarea post-translațională a hTERT	85
2.3. Importul nuclear al hTERT.....	88

2.4.	Gena hTR.....	90
2.4.1.	Reglarea expresiei genei hTR	90
2.4.2.	Maturarea hTR	91
2.5.	Asamblarea complexului telomerazic.....	92
2.6.	Recrutarea telomerazei la telomeri	94
2.7.	Funcțiile telomerazei.....	96
2.7.1.	Elongația telomerilor.....	97
2.7.2.	Alte funcții ale telomerazei	102
3.	Senescenta celulară.....	106
3.1.	Senescenta replicativă	107
3.1.1.	Scurtarea telomerilor	108
3.2.	Senescenta prematură	112
3.3.	Caracteristicile senescentei celulare.....	113
3.3.1.	Blocarea ciclului celular.....	114
3.3.2.	Modificări morfologice	117
3.3.3.	Fenotipul secretor asociat senescentei și autofagia ...	119
3.3.4.	Modificări biochimice.....	121
3.3.5.	Modificări ale expresiei genelor.....	124
3.3.6.	Modificări cromatinene.....	125
3.3.7.	Căile de semnalizare în senescenta celulară.....	127
3.3.8.	Modificări ale ADN	129
3.4.	Telomeropatii	130
3.4.1.	Telomeropatii primare.....	133
3.4.2.	Telomeropatii secundare.....	136
3.4.3.	Bolile asociate îmbătrânirii.....	141
4.	De la senescenta celulară la îmbătrânirea organismului	149
4.1.	Teorii privind cauzele îmbătrânirii.....	151
4.1.1.	Teorii programate.....	153
4.1.2.	Teorii non – programate.....	154
4.2.	Caracteristicile îmbătrânirii	160
4.2.1.	Instabilitatea genetică	160
4.2.2.	Scurtarea telomerilor	163
4.2.3.	Alterări epigenetice.....	165
4.2.4.	Pierderea proteostaziei	168
4.2.5.	Răspunsul dereglat la nutrienți	169
4.2.6.	Disfuncția mitocondrială	171
4.2.7.	Senescenta celulară.....	172
4.2.8.	Epuizarea celulelor stem	173
4.2.9.	Comunicare intercelulară alterată.....	174

4.3.	Terapii privind extinderea speranței de viață	175
4.3.1.	Prevenția primară.....	176
4.3.2.	Hormesis.....	176
4.3.3.	Suplimente și produse farmaceutice.....	177
4.3.4.	Terapii hormonale	179
4.3.5.	Terapii bazate pe telomerază	180
4.3.6.	Folosirea celulelor stem	181
4.3.7.	ALT-711	182
4.3.8.	Parabioza heterocronică.....	182
5.	Telomeri, telomerază, tumorigeneză	184
5.1.	Disfuncția telomerilor și dezvoltarea tumorilor.....	184
5.1.1.	Criza telomerică.....	186
5.2.	Controlul hTERT în cancer	189
5.2.1.	Amplificarea genică	190
5.2.2.	Variante structurale ale hTERT	191
5.2.3.	Rearanjamente genomice	194
5.2.4.	Mutații ale promotorului genei hTERT.....	194
5.2.5.	Modificări epigenetice ale promotorului genei hTERT .	197
6.	Terapii care țintesc telomerii și telomeraza.....	202
6.1.	Legătura dintre senescență, imortalizare și tumorigeneză.....	202
6.1.1.	Senescență – imortalizare	202
6.1.2.	Imortalizare – tumorigeneză	205
6.2.	Telomeraza – țintă terapeutică	207
6.2.1.	Telomeraza în terapia bolilor asociate senescenței	208
6.2.2.	Telomeraza în medicina regenerativă	210
6.2.3.	Telomerii și telomeraza în terapia cancerului	213
6.2.3.1.	Inhibitori ai telomerazei	213
6.2.3.2.	Oligonucleotide omoloage telomerilor.....	217
6.2.3.3.	hTERT – țintă imunoterapeutică	218
6.2.3.4.	Proteine telomerice – ținta unei noi strategii anticanceroase	221
6.2.3.5.	Telomeraza – țintă în terapia genică a cancerului	222
6.3.	Avantaje și riscuri	224
7.	Metode de investigare a telomerilor și telomerazei	227
7.1.	Metode de evaluare a telomerilor.....	227
7.2.	Metode de evaluare a telomerazei	235
	Bibliografie.....	241

CONTENTS

Foreword	5
Author's word	7
Abbreviations	16
1. The telomere	19
1.1. The history of telomeres.....	19
1.2. Telomeres at the cellular level	20
1.2.1. Telomeres length.....	22
1.2.2. The lifespan	27
1.2.3. The interaction of telomeres with nuclear structures ..	30
1.3. Functions of telomeres	31
1.4. Telomeres at the molecular level.....	32
1.4.1. Telomere DNA	32
1.4.1.1. G-quadruplexes	34
1.4.2. Telomere proteins	35
1.4.2.1. Shelterin complex	36
1.4.2.2. Other telomere proteins	45
1.4.3. Telomere interactions	51
1.5. Telomere position effect	54
1.6. Telomere chromatin.....	56
1.7. Telomeres of meiotic cells	60
2. Telomerase	64
2.1. Telomerase structure	65
2.1.1. RNA subunit.....	65
2.1.2. Catalytic subunit.....	72
2.1.3. Telomerase-associated proteins.....	75
2.2. hTERT gene.....	77
2.2.1. Structure of hTERT gene.....	78
2.2.2. Regulation of hTERT gene	79
2.2.2.1. Transcriptional regulation of hTERT gene	80
2.2.2.2. hTERT regulation by alternative splicing.....	84
2.2.2.3. Post-translational regulation of hTERT	85
2.3. Nuclear import of hTERT	88
2.4. hTR gene	90

2.4.1.	Regulation of hTR gene expression	90
2.4.2.	hTR maturation	91
2.5.	Assembly of telomerase complex	92
2.6.	Telomerase recruitment to telomeres	94
2.7.	Telomerase functions	96
2.7.1.	Elongation of telomeres	97
2.7.2.	Other functions of telomerase	102
3.	Cell senescence	106
3.1.	Replicative senescence	107
3.1.1.	Telomeres shortening.....	108
3.2.	Premature senescence.....	112
3.3.	Hallmarks of cellular senescence.....	113
3.3.1.	Cell cycle arrest	114
3.3.2.	Morphological changes	117
3.3.3.	Senescence-associated secretory phenotype and autophagy	119
3.3.4.	Biochemical changes	121
3.3.5.	Changes in gene expression	124
3.3.6.	Chromatin damage.....	125
3.3.7.	Signaling pathways in cellular senescence.....	127
3.3.8.	DNA damages	129
3.4.	Telomeropathies	130
3.4.1.	Primary telomeropathies	133
3.4.2.	Secondary telomeropathies	136
3.4.3.	Ageing-associated diseases	141
4.	From cellular senescence to body aging	149
4.1.	Theories on the causes of aging.....	151
4.1.1.	Programmed theories	153
4.1.2.	Non-programmed theories	154
4.2.	Hallmarks of aging.....	160
4.2.1.	Genetic instability	160
4.2.2.	Telomeres shortening.....	163
4.2.3.	Epigenetic alterations.....	165
4.2.4.	Loss of proteostatis	168
4.2.5.	Deregulated nutrient sensing.....	169
4.2.6.	Mitochondrial dysfunction.....	171
4.2.7.	Cellular senescence	172
4.2.8.	Stem cells depletion	173
4.2.9.	Altered intercellular communications.....	174
4.3.	Therapies on the lifespan extention	175

4.3.1. Primary prevention	176
4.3.2. Hormesis.....	176
4.3.3. Supplements and pharmaceutical products	177
4.3.4. Hormonal therapies	179
4.3.5. Telomerase-based therapies	180
4.3.6. Use of stem cells.....	181
4.3.7. ALT – 711	182
4.3.8. Heterochronic parabiosis	182
5. Telomeres, telomerase, tumorigenesis	184
5.1. Telomere dysfunction and tumor development.....	184
5.1.1. Telomere crisis.....	186
5.2. hTERT control in the cancer	189
5.2.1. Gene amplification	190
5.2.2. Structural variants of hTERT	191
5.2.3. Genomic rearrangements	194
5.2.4. Mutations of hTERT gene promoter.....	194
5.2.5. Epigenetic alterations of hTERT gene promoter	197
6. Therapies targeting telomeres and telomerase	202
6.1. The relationship between senescence, immortalization and tumorigenesis	202
6.1.1. Senescence – immortalization	202
6.1.2. Immortalization – tumorigenesis	205
6.2. Telomerase – therapeutic target.....	207
6.2.1. Telomerase in the therapy of diseases associated with aging	208
6.2.2. Telomeres in the regenerative medicine.....	210
6.2.3. Telomeres and telomerase in the cancer therapy.....	213
6.2.3.1. Telomerase inhibitors.....	213
6.2.3.2. Telomeres homolog oligonucleotides	217
6.2.3.3. hTERT – immunotherapeutic target.....	218
6.2.3.4. Telomere proteins – the target of a new anticancer strategy.....	221
6.2.3.5. Telomerase – target in the gene therapy of cancer.....	222
6.3. Advantages and risks.....	224
7. Methods for investigating telomeres and telomerase	227
7.1. Methods of telomeres assessment.....	227
7.2. Methods of telomerase assessment.....	235
Bibliography	241

ABREVIERI / ABBREVIATIONS

AA	aminoacizi
ADNdc	ADN dublu catenar
ADNmc	ADN mono-catenar
ADNmt	ADN mitochondrial
ADP	Adenosine diphosphate
ALT	Alternative Lengthening of Telomeres
AMP	Adenosine monophosphate
AMPK	AMP-activated protein kinase
ATG	Autophagy-related protein
ATF	Activating transcription factor
ATM	Ataxia Telangiectazia Mutated
ATR	Ataxia Telangiectasia and Rad3-related
CDK	Cyclin-Dependent Kinase
CpG	Cytosine phosphate Guanine
CR	Conserved Regions
CRM	Chromosomal Region Maintenance
CtBP	C-terminal binding protein
CST	CTC1 – STH1 – TEN1
CTL	cytotoxic T lymphocytes
DC	Diskertoza congenitală
DDR	DNA Damage Response
DHEA	Dehydroepiandrosterone
DNA-PK	DNA-dependent protein kinase
DNMT	DNA – methyltransferase
EGF	Epidermal Growth Factor
ETS	Erythroblast Transformation Specific
FGF	Fibroblast Growth Factor
FISH	Fluorescence in Situ Hybridization
FOX	Forkhead box
G4	cvadruplexuri G (guanină)
GADD	Growth Arrest and DNA Damage
GAR	glycine - arginine rich
GTP	Guanosine Triphosphate
HAT	Histone acetyltransferases

HDAC	Histone acetylase
HIF1 α	Hypoxia – inducible Factor 1 α
hn	heterogeneous nuclear
HP1 α	Heterochromatin Protein 1 α
HSP	heat shock protein
IGF	Insulin Growth Factor
IGFBP-3	Insulin-like Growth Factor Binding Protein 3
IIS	Insulin/IGF1 signaling
IL	Interleukin
JNK	Jun N-terminal kinase
kb	kilo perechi de baze
M1	Mortality stage 1
M2	Mortality stage 2 (criză)
MAX	Myc-associated factor X
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MHC	Major Histocompatibility Complex
MBD	Methyl-CpG-binding domain protein
MRN	Mre11/Rad50/Nbs1
mTOR	mechanistic Target of Rapamycin
NAF1	Nuclear Assembly Factor 1
NAD	Nicotinamid Adenin Dinucleotid
Nbs1	Nijmegen breakage syndrome 1
NES	nuclear export signal
NF-kB	Nuclear Factor-kB
NHEJ	Non-Homologous End-Joining
NLS	nuclear localization signal
nt	nucleotide
PARP	Poly(Adenosine diphosphate-Ribose)Polymerase
pb	perechi de baze
PD	Population Doubling
PGC-1 α	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 α
PI3K	Phosphatidylinositol-3-kinase
PIN2	Proteinase Inhibitor 2
PINX1	PIN2/TRF1-interacting telomerase inhibitor 1
P	Pseudoknot
PARN	poly(A)-specific ribonuclease
PK	Protein-kinaza
PML	Promyelocytic Leukemia
PNA	Peptide Nucleic Acid
POT1	Protection of Telomeres protein 1

PP2A	Protein phosphatase 2A
RAP1	Repressor Activator Protein 1
RNP	Ribonucleoproteine
ROS	Reactive Oxygen Species
RPA	Replication Protein A
RTEL1	Regulator of Telomere Length 1
SAHF	Senescence-Associated Heterochromatin Foci
SASP	Senescence-Associated Secretory Phenotype
sca	small cajal body
SCE	Sister Chromatid Exchanges
Shp-2	Src homology region 2-containing protein tyrosine phosphatase 2
SIPS	Stress-Induced Premature Senescence
SIR	Silent Information Regulators
SIRT1	Sirtuin 1
SMP-30	Senescence Marker Protein - 30
sn	small nuclear
sno	small nucleolar
Sp1	Specificity protein 1
SV40	Simian Virus 40
TAA	Tumor-associated antigen
TCAB1	Telomerase Cajal Body Protein 1
TEN	Telomerase Essential N-terminal
TEP1	Telomerase-associated Protein 1
TERT	Telomerase Reverse Transcriptase
TERRA	Telomeric Repeat - containing RNA
TGF- β 1	Transforming growth factor β 1
Th	T helper
TIN2	TRF1-Interacting Nuclear Protein 2
TINF2	TERF1-interacting nuclear factor 2
TNF	Tumor Necrosis Factor
TPE	Telomere Position Effect
TPP1	Telomere Protection Protein 1
TR/TERC	Telomerase RNA
TRBD	Telomerase RNA Binding Domain
TRF	Telomeric Repeat binding Factor
TRFH	TRF homology
UTR	Untranslated Regions
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

1. TELOMERUL

1.1. ISTORIA TELOMERILOR

Încă din anul 1938, **Herman Muller** a arătat că extremitățile cromozomilor au proprietăți unice. În urma iradierii musculiței de oțet (*Drosophila melanogaster*), Muller a observat că ruperea cromozomilor a fost urmată de instabilitatea capetelor cromozomiale. El a denumit capetele cromozomilor **telomeri** de la cuvintele grecești **telos** care înseamnă capăt și **meros** care înseamnă segment sau parte.

Doi ani mai târziu, **Barbara McClintock** a descris cum rupturile cromozomilor la porumb (*Zea mays*) au condus la fuziunea capetelor rămase și la formarea de cromozomi dicentrici. Ulterior, McClintock a demonstrat rolul crucial al telomerilor în integritatea cromozomilor, ele împiedicând apariția ciclurilor ruptură - fuziune – punte, care conduc la moarte celulară.

Termenul de telomer, inventat de către Muller, a avut un caracter premonitoriu. Scepticismul predominant al acelei perioade a făcut ca cercetările asupra importanței capetelor cromozomiale în replicarea ADN și integritatea celulelor să fie repede blocate.

După 30 de ani, în anul 1972, când mecanismul replicării ADN a fost bine înțeles, **James Watson**, care a descoperit structura dublu-elicoidală a ADN, a arătat că replicarea ADN este incompletă pe o catenă, deoarece ADN-polimeraza este incapabilă să adauge dezoxiribonucleotide în direcția 3'→ 5', ea adăugând dezoxiribonucleotidele doar în direcția 5'→3', la capătul 3'-OH liber. Această situație ar conduce la scurtarea cromozomilor cu fiecare ciclu de replicare, dar, în același timp, el sugerează existența unui mecanism protector care ar preveni scurtarea cromozomilor, însă fără a-l identifica.

În aceeași perioadă (1971), **Alexei Matveevich Olovnikov** a explicat legătura dintre problema replicării ADN pe o catenă și senescența celulară descrisă de **Leonard Hayflick**. Pentru Olovnikov, – replicarea incompletă a unuia dintre capetele catenelor de ADN liniar acționează ca un “ceas intern”

ce ar determina numărul de diviziuni pe care o celulă ar trebui să-l parcurgă și ar controla procesul de îmbătrânire. După Hayflick (1961) senescența celulară corespunde încetării proliferării celulare după un număr limitat de diviziuni celulare. Potrivit teoriei lui, cu fiecare diviziune celulară, cu fiecare ciclu de replicare a ADN, terminațiile cromozomilor devin mai scurte până când lungimea lor va atinge un nivel critic, nivel la care diviziunea celulară este blocată. La fel ca Watson, Olovnikov a sugerat existența unei strategii celulare pentru menținerea lungimii telomerilor în timpul replicării ADN-lui.

Tot în anii '70, **Joseph Gall** împreună cu **Mary-Lou Pardue** inițiază o cercetare asupra cromozomilor la protozoarul *Tertrahymena termophila* care are un micronucleu cu cromozomi normali și un macronucleu cu cromozomi fragmentați. În fragmentele cromozomiale au fost găsite secvențe scurte și repetitive de ADN ce conțineau aceeași genă codificatoare pentru ARN ribozomal (ARNr). În 1978, J. Gall alături de colega sa, **Elizabeth Blackburn**, descoperă structura neobișnuită, dar relativ simplă, a telomerilor. Ei au stabilit astfel, pentru prima dată, structura moleculară a telomerilor, aceștia fiind constituiți din secvențe de ADN scurte, frecvent repetitive și necodificatoare. Ideea a pornit oarecum de la configurația șiretului de pantof care are capetele metalice, diferite de restul șiretului și care, cu timpul, se uzează. În 1982, E. Blackburn și **Jack Szostak** elucidează rolul telomerilor ca tampon pentru ADN codificator, prezent în brațele cromozomilor (Chuaire, 2006), iar în anul 1985, împreună cu studenta sa **Carol Greider** descriu **telomeraza** la ciliate, o enzimă capabilă să extindă capătul scurt al uneia dintre catenele ADN-lui. Este demonstrată astfel teoria menținerii lungimii telomerilor.

Pentru toate aceste descoperiri, **Elizabeth Blackburn**, **Jack Szostak** și **Carol Greider** au fost distinși cu premiul Nobel în anul 2009.

1.2. TELOMERII LA NIVEL CELULAR

Telomerii sunt capetele fizice ale cromozomilor liniari; sunt segmentele terminale ale cromozomilor, extremitățile liniare ale ADN. Sunt factori importanți de menținere a integrității cromozomilor (Goyns and Lavery, 2000). Telomerii sunt structuri extrem de dinamice. În timpul ciclului celular, structura telomerului suferă schimbări de la o conformație închisă, condensată în faza M care ascunde capetele cromozomilor de enzimele reparatorii, la o conformație deschisă în faza S pentru a permite accesul controlat al factorilor de replicare a ADN. Telomerii sunt prezenți pe