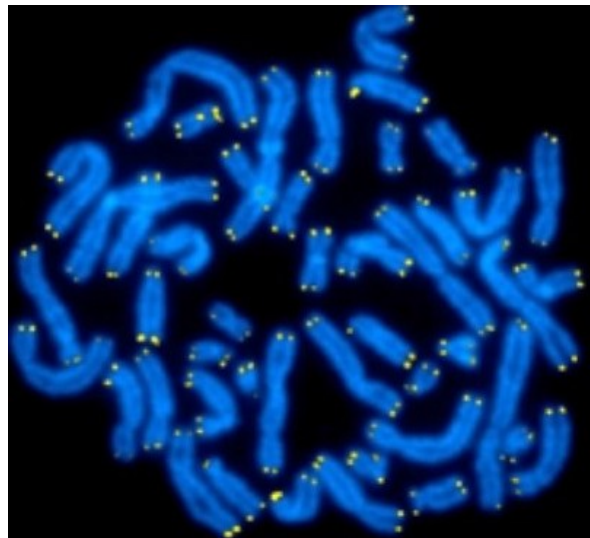


Trabajo fin de grado

Longitud telomérica como bioindicador en las enfermedades respiratorias.



Autora: Vanesa Galván González

Tutor: Alexis Oliva Martín

Co-tutora: Aida Elisabeth Córdoba Lamús

Convocatoria: Julio 2023

Universidad de La Laguna

Facultad de Farmacia

Longitud telomérica como biomarcador en las enfermedades respiratorias.

Índice.

Abstract.....	2
Resumen.....	2
1. Introducción.....	3
2. Objetivos.....	3
3. Metodología.....	4
4. Resultados y discusión.....	4
4.1 Telómeros.....	4
4.1.2 medición de la longitud de los telómeros.....	6
4.2 Mecanismos y enfermedad.....	8
4.2.1 Fibrosis pulmonar idiopática (FPI).....	8
4.2.2 Enfisema.....	9
4.2.3 Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).....	10
4.2.4 Asma.....	11
4.3 Estrategias terapéuticas.....	12
4.4 Terapias empleando telomerasas.....	12
4.5 Biomarcadores.....	14
5. Conclusiones.....	16
6. Bibliografía.....	16

Abstrac

Like shoelaces with plastic tips that provide protection, telomeres protect structures at the end of chromosomes. As we age, telomeres get shorter, and once they reach a critical size, cells stop dividing themselves; they can even reach a point where cells can experience apoptosis.

Telomeres size is related to aging processes and diverse illnesses, and this paper will be focused on the relationship between a short telomere or a more significant rate of shortening telomeres and interstitial pulmonary illnesses. Comprehensive bibliography research has been used, using online academic search machines and scientific bibliography. The main task of this article is to analyze the direct relationship between the telomere shortness mentioned above and interstitial pulmonary illnesses such as pulmonary fibrosis, asthma, Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD), and emphysema.

This paper has as its primary purpose to evaluate the importance of the size of telomeres as biomarkers for these pulmonary illnesses mentioned above, as well as to give information on its potential use as a diagnostic and prognostic tool in the medical and health field.

Resumen

Al igual que las puntas de plástico de los cordones de los zapatos que brindan protección, los telómeros son estructuras protectoras ubicadas en los extremos de los cromosomas. A medida que envejecemos, los telómeros se acortan y cuando alcanzan una longitud crítica, las células dejan de dividirse, incluso pueden llegar a experimentar apoptosis.

El tamaño de los telómeros está relacionado con los procesos de envejecimiento y diversas enfermedades, por lo que nos centraremos en explorar la relación entre los telómeros cortos o una mayor tasa de acortamiento y las enfermedades pulmonares intersticiales. Para ello, llevaremos a cabo una exhaustiva revisión bibliográfica utilizando diversos motores de búsqueda y artículos científicos. Nuestro objetivo es analizar la asociación entre el acortamiento telomérico y enfermedades pulmonares intersticiales como la fibrosis pulmonar, el asma, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y el enfisema.

Esta revisión tiene como propósito evaluar la importancia del tamaño de los telómeros como biomarcadores de estas enfermedades, proporcionando así información relevante sobre su potencial utilidad diagnóstica y pronóstica.

Palabras claves: telomeres, telomerasas, lung diseases, asthma, pulmonary fibrosis, COPD, emphysema, telomerase therapies, biomarkers

1. INTRODUCCIÓN

Los defectos en los telómeros están asociados con diversas enfermedades humanas. A lo largo de la vida, los telómeros experimentan un acortamiento progresivo, lo cual se relaciona con el proceso de envejecimiento. En los últimos años, se han logrado importantes avances en nuestra comprensión de las causas moleculares subyacentes a esta disfunción.

Entre las enfermedades pulmonares, destacan las intersticiales, que son afecciones que afectan el tejido intersticial de los pulmones. Estudios realizados en la última década han establecido una relación entre la longitud telomérica, es decir, la presencia de telómeros más cortos, y este tipo de enfermedades. Entre ellas se incluye la fibrosis pulmonar idiopática (FPI), una enfermedad degenerativa potencialmente mortal en la cual el trasplante de pulmón es la única opción terapéutica. De igual forma, se han informado hallazgos sobre el EPOC y el asma, donde se ha visto la relación entre estas enfermedades y el envejecimiento celular acelerado.

Estos hallazgos destacan la importancia de los telómeros en la salud pulmonar y respaldan la necesidad de profundizar en la comprensión de su papel en las enfermedades pulmonares intersticiales. El estudio de la longitud telomérica puede proporcionar información valiosa para el diagnóstico, seguimiento y desarrollo de estrategias terapéuticas en este campo médico.

2. OBJETIVOS

- 1- Realizar una revisión sobre la relación entre el acortamiento telomérico como marcador de envejecimiento y las enfermedades pulmonares.
- 2- Abordar la utilización del acortamiento en la longitud de los telómeros como biomarcador para anticipar la aparición o progresión de estas enfermedades.
- 3- Determinar la utilidad del acortamiento telomérico en las terapias empleadas a la actualidad para el tratamiento de las distintas enfermedades pulmonares.

3. MÉTODOS

En este trabajo se realizó una revisión bibliográfica de diferentes artículos científicos haciendo uso de buscadores como: Pubmed (NCBI), Science, puntoQ y Medline. Para ello se utilizaron las siguientes palabras claves en inglés telomeres, telomerase, lung diseases, idiopathic pulmonary fibrosis, COPD, emphysema, asthma, telomerase therapies, biomarkers. Empleamos filtros para acotar la búsqueda, tanto en español como inglés: artículos publicados en los últimos 10 años para aquellos artículos más generales y artículos publicados en los últimos 5 años para los de tipo revisión y referentes a terapias y biomarcadores.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 TELÓMEROS

Los telómeros, que se encuentran en los extremos de los cromosomas, están compuestos por secuencias repetidas de nucleótidos hexámeros, la secuencia TTAGGG se repite cientos o miles de veces. Estas regiones de ADN telomérico están protegidas por un complejo de proteínas conocidas como proteínas refugio o shelterinas (también llamadas *shelterin proteins* en inglés), cuya función principal es prevenir la reparación errónea del ADN y evitar roturas en la doble cadena (1).

Durante el proceso normal de envejecimiento en los animales, las células experimentan divisiones sucesivas y, como resultado, los telómeros se acortan gradualmente. En el caso de los mamíferos, al nacer, los telómeros en los glóbulos blancos son lo suficientemente largos como para permitir aproximadamente 200 divisiones celulares. Sin embargo, cuando los telómeros se acortan hasta un punto crítico, la célula detiene su proliferación, lo que desencadena la senescencia o muerte celular. Un estudio realizado en leucocitos circulantes humanos nos muestra como estas estructuras se acortan a lo largo de la vida, siendo más largos en el recién nacido y perdiendo cada año unos 40-60 pares de bases (Figura 1). (2)

En situaciones en las que la proliferación celular persiste a pesar de tener telómeros críticamente cortos (generalmente con unos pocos cientos de repeticiones de hexanucleótidos en cada cromosoma), se pierde la función protectora de los telómeros. Esto puede resultar en la pérdida de información genética subtelomérica y, lo que es aún más importante, puede ocurrir recombinación entre cromosomas, lo que conlleva

inestabilidad cromosómica, aneuploidía⁽²⁾ y la transformación hacia un fenotipo cancerígeno (1).

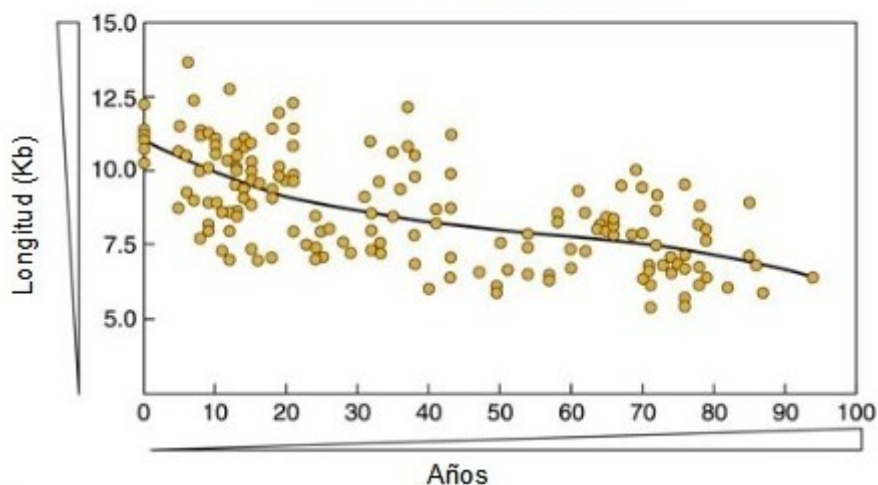


Figura 1. Longitud telomérica de leucocitos en sangre periférica de voluntarios sanos y normales.
(Recuperada de Calado R, Young N.,2012)

Algunas células proliferativas pueden alargar sus telómeros, a través del complejo de telomerasas. La enzima telomerasa (TERT) es una transcriptasa inversa que emplea una pequeña molécula de ARN (TERC) como molde para extender telómeros en las células (**Figura 2**). El mantenimiento de los telómeros también es posible por otros mecanismos como la vía alternativa de longitud de telómeros (ALT,) (por sus siglas en inglés *Alternative length telomere*). Esta vía implica la recombinación entre cromosomas para preservar la longitud de los telómeros. Si bien se ha observado que la vía ALT está activa en células tumorales, aún no se comprenden completamente sus componentes y su regulación (1).

Estos hallazgos resaltan la dinámica de los telómeros y la existencia de diferentes mecanismos involucrados en su mantenimiento. El estudio de la longitud telomérica y las vías de mantenimiento de los telómeros tiene implicaciones significativas en la comprensión de los procesos de envejecimiento, enfermedades relacionadas y potenciales terapias dirigidas (1).

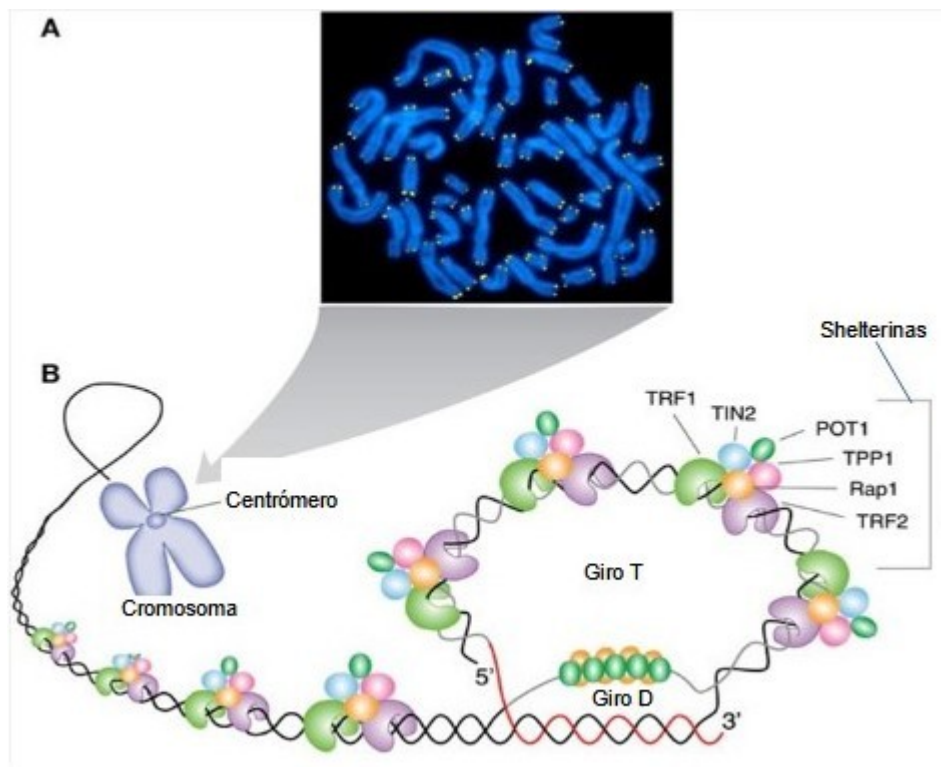


Figura 2. . Mecanismos de alargamiento de los telómeros a través de complejos de telomerasas. En A se observa los extremos de los cromosomas marcados con técnicas de fluorescencia FISH, in situ. En B se observa una representación esquemática de los cromosomas y los telómeros, donde observamos las secuencias repetidas de ADN, la formación del bucle T y las proteínas asociadas como las proteínas refugio. (Recuperada de Calado R, Young N., 2012)

4.1.2 MEDICIÓN DE LA LONGITUD DE LOS TELÓMEROS

Entre los métodos más usados en laboratorios para determinar la longitud telomérica, destacan la fluorimetría de flujo o FISH (del inglés, *fluorescence in situ hybridization*) y la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa a tiempo real (qPCR, del inglés *quantitative polymerase chain reaction*). Ambos métodos tienen ventajas y limitaciones, y necesitan muestras de calidad, de obtención reciente o preparación “fresca” porque la muerte de células y la degradación de ADN modifican la precisión de la prueba (Tabla 1) (1).

La **técnica FISH** de flujo utiliza una sonda que es un nucleótido marcado con fluoresceína específica para repeticiones del telómero y cuantifica de ese modo el contenido de dicha estructura en una célula individual por medio de citometría de flujo. Tiene la ventaja de determinar la longitud de los telómeros en células individuales y subpoblaciones de leucocitos (neutrófilos, linfocitos, monocitos). Sin embargo, la técnica FISH de flujo exige contar con células intactas para el análisis, situación no siempre posible, ya que estas son

susceptibles de sufrir daño durante la preparación, la congelación y la descongelación. (2).

La **qPCR** utiliza cebadores modificados que se unen a telómeros para medir la cantidad de estos últimos en comparación con un gen “constitucional” o “*housekeeping*” común en la población total celular, y por tanto no necesita células intactas. La qPCR suministra una estimación promedio de la longitud de los telómeros en una muestra particular, sin necesidad de conocer la longitud de esa estructura en células individuales. ADN de buena calidad es esencial para que los estudios de qPCR sean adecuados y para la automatización o semiautomatización necesarias para fines clínicos. Esta técnica es la más usada en estudios poblacionales de gran tamaño (2).

Tabla 1. Comparativa entre pruebas de laboratorio para la determinación de la longitud telomérica. (1,2,3)

PRUEBA	MUESTRA REQUERIDA	VENTAJAS	CONSIDERACIONES ADICIONALES
Q-PCR	ADN (rango de nanogramos)	Comercialmente disponible Se puede utilizar muestras de grandes cohortes con datos genéticos epidemiológicos archivadas. Múltiples estudios disponibles para su comparación.	Mide la longitud promedio de los telómeros de forma relativa en base a la proporción estándar de genes de una sola copia. Replicabilidad inconsciente entre diferentes laboratorios.
Q- FISH	Células en división activa	Comercialmente disponible. Se puede utilizar en tejidos fijos. Puede utilizar evaluación de subtipos de células específicas.	Mide la longitud promedio de los telómeros. Requiere de referencias estándares de TRF para interpretar las unidades de fluorescencia.
Southern blot	Fragmentos de ADN	Comercialmente disponible. Detección de moléculas específicas.	El gel puede ser aplastado por el peso de los papeles de filtros, lo que enlentece el proceso. Lleva un alto costo. Gran concentración de muestra.

Q-FISH: hibridación in situ con fluorescencia de flujo; Q-PCR: reacción en cadena cuantitativa.; TFR: fragmentos de restricción de telómeros

4.2 MECANISMOS Y ENFERMEDAD

El acortamiento de los telómeros se ha asociado a una variedad de enfermedades pulmonares como fibrosis pulmonar idiopática, EPOC, enfisema, asma crónica (3,4).

Se ha sugerido que una longitud telomérica más corta podría servir como un biomarcador de envejecimiento acelerado (4,5).

4.2.1 FIBROSIS PULMONAR

Las enfermedades pulmonares intersticiales (EPI) afectan principalmente al intersticio pulmonar (6). La fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es una fibrosis pulmonar progresiva que afecta al parénquima pulmonar. Es de etología desconocida y es la forma más común de EPI, representando el 70% de los casos (7,8).

Un estudio realizado por Snetselaar R. and col. (6) mostró que pacientes con EPI tienen una longitud telomérica (LT) significativamente más corta en comparación con sujetos control sanos. Cabe destacar que estos pacientes con FPI eran portadores de una mutación en los genes *TERT* y *TERC* (6).

En el estudio por Armanios y col. (2007) se reportaron mutaciones heterocigóticas en los genes de la telomerasa (*TERT* y *TERC*) en aproximadamente el 8-15% de las familias con fibrosis pulmonar idiopática, y rara vez en casos esporádicos de esta enfermedad (9).

La fibrosis pulmonar es una enfermedad pulmonar rara y mortal caracterizada por focos fibróticos e infiltrados inflamatorios, que empeora con el tiempo, dificultando cada vez más la respiración. Los pacientes solo sobreviven unos pocos años después del diagnóstico, hasta el momento no hay cura y los tratamientos sólo están enfocados a tratar los síntomas. Los telómeros cortos pueden afectar a la regeneración tisular y se han encontrado tanto en casos hereditarios como esporádicos (10).

La FPI puede desarrollarse cuando los telómeros de las células ATII, que reparan el desgaste diario en los pulmones, se acortan demasiado, no reparando el daño lo cual provoca una reacción inflamatoria y una cicatrización descontrolada (10).

Los pacientes con FPI son clasificados basándose en datos clínicos (historial, examen físico, radiología, función pulmonar, patrón histopatológico), lo cual no permite subfenotipar a los pacientes con FPI de forma adecuada, limitando la práctica clínica (11).

4.2.2 ENFISEMA

El enfisema tiene como patogenia la destrucción alveolar, teniendo como resultado un marcado agrandamiento del espacio alveolar con reducción del área de intercambio capilar alveolar (12).

La deficiencia de alfa-1 antitripsina había sido la única causa conocida de enfisema en las últimas décadas. El principal factor de riesgo es el humo del cigarrillo que causa la destrucción alveolar debido al incremento de la inflamación, el estrés oxidativo y el desequilibrio proteasa/antiproteasa (12).

Recientemente, se ha descubierto que las mutaciones en los genes de la telomerasa, predisponen a la aparición de enfisema grave de aparición temprana. Los individuos portadores de estas mutaciones presentan una predisposición a desarrollar fibrosis pulmonar en sus familias, mientras que aquellos que son portadores de las mismas mutaciones y también son fumadores tienen un mayor riesgo de desarrollar enfisema. Estos hallazgos destacan la existencia de una interacción gen-ambiente, donde la enfermedad pulmonar está determinada por una exposición ambiental al humo del cigarrillo, que en presencia de telómeros cortos son causa de susceptibilidad genética en el enfisema (13).

Se ha observado una mayor prevalencia en mujeres, de hasta un 90% en poblaciones estudiadas (14).

Por lo tanto se han definido dos fenotipos de la enfermedad. Uno por deficiencia en alfa-1 antitripsina y el otro originado por la deficiencia en telomerasa. Ambos fenotipos muestran una herencia autosómica dominante dentro de las familias (14).

El fenotipo de enfisema mediado por telómeros parece tener características reconocibles clínicamente diferentes del fenotipo por deficiencia en alfa-1 antitripsina (**Tabla 2**).

Hay tres genes del complejo de la telomerasa que se han relacionado con el riesgo de enfisema pulmonar: *TERT*, *TR* y *NAF1* (14).

La telomerasa tiene dos componentes esenciales, una transcriptasa inversa catalítica, codificada por el gen *TERT*, que se copia de una plantilla dentro del cromosoma de ARN, *TR*, para agregar una nueva secuencia de telómeros en los extremos del cromosoma (15), y *NAF1*, es el gen del factor de ensamblaje nuclear 1 (16). Las mutaciones de estos genes provocan la disfunción de los telómeros desencadenando la senescencia de las cé-

lulas madre epiteliales alveolares, que es suficiente para impulsar la remodelación pulmonar y generar inflamación (14).

Los datos experimentales respaldan un modelo de "dos golpes", en el que primero nos encontramos con una longitud corta de los telómeros determinados genéticamente, y el segundo inducido por el humo del cigarro, el efecto aditivo provoca el fenotipo de enfisema mediado por la disfunción del telómero (14).

Tabla 2. Características clínicas de los fenotipos de enfisema según la deficiencia en alfa-1-antitripsina y la deficiencia en telomerasa y acortamiento telomérico. (Recuperada de Stanley, Susan E y col.,2016)

	Deficiencia de alfa-1 antitripsina	Deficiencia de telomerasa y acortamiento de telómeros
Herencia	Autosómica recesiva	Dominante autosómico
Gen(es) de la enfermedad	<i>SERPINA1</i>	<i>TERT, TR, NAF1</i>
% de enfisema severo	1-2%	1%
Demográfico	hombre > mujer	femenino > masculino
patrón de enfermedad pulmonar	Lóbulo inferior > superior	Lóbulo superior > inferior
Co-ocurrencia con FPI	No	Sí
Riesgo de neumotórax	Base	Aumentó
Enlace a la biología del envejecimiento	No	Sí
Mecanismo	Desequilibrio proteasa-antiproteasa, inflamación	Senescencia de células madre, defecto regenerativo

4.2.3 ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA (EPOC)

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una enfermedad respiratoria compleja que afecta la capacidad de respiración, con una limitación incompleta del flujo de aire, a menudo reversible, causando tos, esputo, dificultad para respirar o disnea. En esta enfermedad se definen dos fenotipos principalmente, la fibrosis pulmonar y el enfisema (17).

El 25% de los fumadores de tabaco van a desarrollar la enfermedad. El estrés oxidativo crónico y la inflamación sistémica contribuyen a la patología de varias enfermedades crónicas, incluida el EPOC. Se ha observado que el estrés oxidativo y la Inflamación se asocian negativamente con la longitud con los niveles la enzima antioxidante dismutasa (SOD) (17).

Un estudio en la población China realizado por Yipeng Dind y col. sugirieron que *TERT* puede ser el factor de riesgo genético de la EPOC, donde tres polimorfismos o SNPs (polimorfismos de un sólo nucleótido) en el gen, estarían asociados con un mayor riesgo de EPOC en pacientes de una misma etnia. Los autores sugieren que el complejo genético y la biología de los telómeros y la telomerasa jugaban un papel clave en el desarrollo de la EPOC (18)

Otro estudio en población caucásica ha demostrado un acortamiento telomérico acelerado a lo largo del tiempo en los pacientes con EPOC frente a fumadores sin la enfermedad, que es independiente del hábito tabáquico, confirmando la hipótesis de que la EPOC es una enfermedad de envejecimiento acelerado (19,20).

4.2.4 ASMA

El asma es una enfermedad caracterizada por la inflamación crónica, hiperreactividad y remodelación de las vías respiratorias. Presenta distintos fenotipos inflamatorios, como la inflamación eosinofílica, neutrofílica, mixta y no inflamatoria. Los cambios estructurales, como el engrosamiento de la pared de las vías respiratorias y la acumulación de matriz extracelular, contribuyen a la obstrucción y limitación del flujo de aire en los pulmones. Estos cambios son fundamentales en la fisiopatología del asma (21).

Se ha observado una disminución en la proliferación de fibroblastos y miofibroblastos bronquiales en pacientes asmáticos en comparación con individuos no asmáticos, a pesar de la presencia de inflamación y altos niveles de factores inflamatorios. Esto sugiere la existencia de un estado prematuro de senescencia celular en el asma (21).

Para investigar el mecanismo subyacente de esta restricción replicativa celular en asmáticos, un estudio realizado por Hadj Salem y colaboradores (2015) midió la longitud de los telómeros en fibroblastos bronquiales de pacientes asmáticos y controles sanos. Se encontró una disminución en la longitud de los telómeros en los fibroblastos asmáticos, lo cual se correlacionó con el aumento del marcador de senescencia celular β -galactosidasa. De manera similar, Lee y colaboradores (2017) descubrieron que la longitud relativa de los telómeros en las células mononucleares de sangre periférica era más corta en niños y adolescentes asmáticos en comparación con los no asmáticos. Los leucocitos de pacientes asmáticos mostraron una longitud de telómeros más reducida en comparación con los controles de la misma edad. Estas evidencias sugieren la presencia de senescencia celular en el asma (21).

4.3 ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS

La fibrosis pulmonar idiopática tiene un mal pronóstico y está prácticamente carente de terapias. Sólo se conocen como tratamiento farmacológico los antifibróticos *pirfenidona* y *nintedanib* (22,23).

La *pirfenidona* (5-metil-1-fenil-2 (1H)-piridona) es un agente antifibrótico, que puede cambiar el curso de la fibrosis pulmonar idiopática, disminuyendo la progresión y la mortalidad. Además de antifibrótico es un antioxidante y antiinflamatorio de administración oral, actuando como secuestrador de radicales libres de hidroxilo (-OH) y aniones superóxidos (-O⁻), llevando a la disminución de la producción de citoquinas inflamatorias (TNF-alfa, INF-gamma;IL-1beta,IL-6) e inhibiendo la proliferación de fibroblastos. Este fármaco tiene efectos adversos gastrointestinales y cutáneos frecuentes, los cuales no son severos (23).

El *nintedanib*, es un inhibidor intracelular de tirosina quinasa, que inhibe los procesos involucrados en la progresión de la fibrosis pulmonar idiopática (23).

Nintedanib es un inhibidor de la tirosina quinasa intracelular (TKI) con propiedades antifibróticas. Fue uno de los primeros medicamentos aprobados para tratar la fibrosis pulmonar idiopática. Recientemente, también ha recibido aprobación para el tratamiento de otras enfermedades pulmonares intersticiales fibrosantes crónicas con un fenotipo progresivo y esclerosis sistémica. En ensayos multinacionales de fase III, nintedanib ha demostrado reducir significativamente la tasa anual de disminución de la capacidad vital forzada en adultos con FPI y otras EPI fibrosantes progresivas (24).

4.4 TERAPIAS EMPLEANDO TELOMERASAS

Las intervenciones actuales para tratar las telomeropatías son los trasplantes de órganos, lo cual mejoran las condiciones físicas de los pacientes, aunque no por ello, aborda las causas subyacentes de los síntomas y afectación clínica, que son los telómeros cortos (10).

En los últimos años se han estudiado el uso de activadores químicos de la telomerasa. Ejemplo de esto es el TA-65, que es una pequeña molécula derivada de extractos de la planta *Astragalus membranaceus*. Se ha observado que esta molécula, que regula la telomerasa a nivel de la transcripción (26), produce un alargamiento moderado de los telómeros y una mejora de algunos parámetros relacionados con el envejecimiento tanto en rato-

nes como humanos, aunque no se ha observado ningún efecto significativo sobre la longevidad (25).

Otro tratamiento propuesto es el uso de hormonas sexuales, las cuales activan la transcripción de *TERT*. Se ha demostrado que la terapia con testosterona en ratones es capaz de regular la expresión de la telomerasa, recatando las células del desgaste de los telómeros y prolongando la vida útil de los ratones. En humanos, la administración de andrógenos sintéticos, como el *Danazol*, a pacientes con telomeropatías tuvo como resultado el alargamiento de los telómeros en leucocitos circulantes, causando mejoría en enfermedades hematológicas (25).

Se han desarrollado estrategias terapéuticas mediante el uso Vectores Adeno asociados (AAV, del inglés *Adeno-Asociated Virus*), para activar transitoriamente la telomerasa en tejido adulto. Actualmente se está investigando la viabilidad de la terapia AVV9-TERT en el tratamiento de las fibrosis pulmonares, de momento con resultados positivos (20). Los resultados de varios ensayos clínicos señalan su éxito en el tratamiento de varias enfermedades monogénicas. Para alcanzar este nivel de éxito se han necesitado más de 30 años desde el aislamiento inicial de un clon infeccioso de AAV y el desarrollo de vectores de AAV para la expresión a largo plazo (27). El AAV es un parvovirus monocatenario de 4,7 Kb compuesto por los genes *rep* y *cap* flanqueados por repeticiones invertidas (ITR) (Figura 3). Los vectores de AAV recombinantes se pueden generar reemplazando los genes *rep* y *cap* endógenos con un casete de expresión que consiste en un promotor que dirige un transgen de interés y una cola poli-A (18).

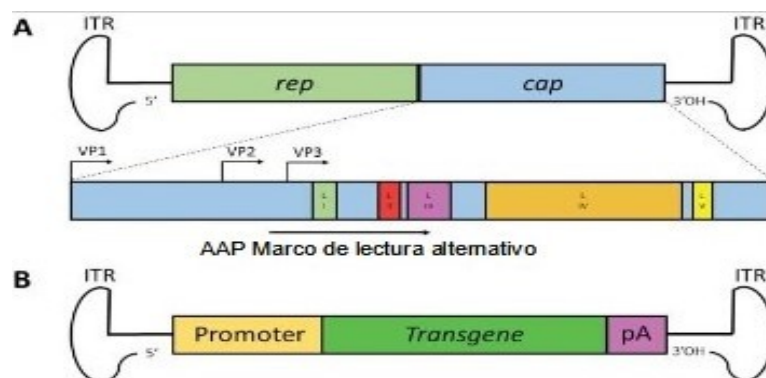


Figura 3. Diferentes estrategias desarrolladas utilizando vectores adeno asociados. En A se observa el genoma del virus AAV que contiene los genes *rep* y *cap*, el gen *rep* codifica proteínas no estructurales involucradas en la replicación viral, empaquetamiento e integración del genoma. El gen *cap* codifica proteínas estructurales para formar la cápside. En B observamos los reemplazos de los genes *rep* y *cap* por un cassette de expresión génica donde encontramos un promotor, un transgen y una cola poliA.. (Recuperada de Santiago-Ortiz, J. L., & Schaffer, D. V., 2016)

La terapia génica sistémica utilizando vectores AAV no integradores en modelos murinos, ha mostrado un retraso significativo en el desarrollo de las patologías relacionadas con la edad y un aumento de la longevidad. Esto se logró por primera vez mediante la administración de *TERT* utilizando vectores AAV en ratones de mediana y avanzada edad, lo que resultó en un aumento transitorio de la expresión de *TERT* en la mayoría de los tejidos de ratón. Es importante destacar que un solo tratamiento con estos vectores dio como resultado telómeros alargados en una variedad de órganos, el retraso en la aparición de patologías asociadas con la edad y una esperanza de vida media y máxima significativamente mayor (28)

Se ha encontrado que el envejecimiento fisiológico en ratones de tipo salvaje conduce a un acortamiento de los telómeros y un potencial proliferativo reducido de las células alveolares tipo II (ACE2, del inglés alveolar epitelial cells type 2) y las células club (13).

Un estudio realizado por S. Piñero-Hermida y Col. (2020) observó que había un acortamiento en los telómeros de las células Club y ATII, fenómeno que se anticipa en ratones con deficiencia de telómeros (*TERT* -/-), reduciendo la capacidad de las madre de regenerarse (29).

Los telómeros cortos, en los pulmones de ratón tipo salvaje muestran mayor daño en el ADN, senescencia, apoptosis, y aumentando el surfactante con la edad. Los ratones viejos tratados con AAV-9- *TERT* mejoraban todos éstos signos característicos de fibrosis (13).

4.5 BIOMARCADORES

Los biomarcadores moleculares son sustancias cuantificables que se pueden medir en tejidos biológicos o fluidos y que reflejan la presencia y actividad de procesos o mecanismos patobiológicos relevantes (30).

Estos biomarcadores desempeñan un papel crucial en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de enfermedades, ya que proporcionan información objetiva sobre el estado de la enfermedad y la respuesta al tratamiento. La medición precisa y reproducible de biomarcadores moleculares es fundamental para garantizar su utilidad clínica y su capacidad para guiar decisiones terapéuticas. Además, es importante realizar validaciones amplias que incluyan diferentes grupos de pacientes, como distintos sexos,

edades, etnias y gravedad de la enfermedad, para asegurar la generalización de los resultados obtenidos (30)

Durante más de una década, se ha investigado el papel de los telómeros como biomarcadores en enfermedades pulmonares tanto en modelos animales como en estudios en humanos. Los telómeros, cuando alcanzan una longitud crítica, activan un punto de control dependiente de p53 que puede llevar a la apoptosis o a la senescencia celular. En el caso de la fibrosis pulmonar idiopática (FPI), se ha observado que los telómeros más cortos están asociados con la senescencia de las células AEC2 y la apoptosis, estableciendo un vínculo patogénico entre el envejecimiento y el desarrollo de la enfermedad. Los telómeros más cortos son comunes en los pacientes con FPI esporádica en comparación con los controles de la misma edad, y aproximadamente una cuarta parte de los pacientes presentan longitudes de telómeros leucocitarios de sangre periférica por debajo del percentil 10. La longitud de los telómeros en los leucocitos de sangre periférica se ha demostrado que es predictiva de la supervivencia sin trasplante, independientemente de otros factores pronósticos como la edad, el sexo y la capacidad vital forzada (FVC). Aunque se requiere una mayor validación y establecimiento de valores normales y umbrales, la medición de la longitud de los telómeros en sangre periférica muestra promesa como un biomarcador que puede ayudar a predecir la predisposición y el pronóstico de la enfermedad (30).

Se ha encontrado una asociación entre los telómeros cortos y el riesgo de desarrollar enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). En un estudio longitudinal de 10 años, se observó que un mayor acortamiento de los telómeros se relacionaba con un deterioro en el intercambio gaseoso a nivel alveolar y un mayor compromiso extrapulmonar en los pacientes. Además, aquellos pacientes con EPOC que presentaban telómeros más cortos a lo largo de su vida mostraban un mayor riesgo de mortalidad (22).

Asimismo, la medición de los telómeros de los leucocitos en sangre ha permitido realizar pruebas sobre las correlaciones fisiológicas del asma más allá del pulmón (31).

Los hallazgos recientes sugieren que el acortamiento de los telómeros, cuando ocurre por debajo de ciertos umbrales anormales en comparación con las poblaciones sanas, podría desempeñar un papel causal en la susceptibilidad y progresión de la enfermedad.

Es de suma importancia para los enfoques de atención al paciente y la investigación futura en este campo, identificar un subfenotipo de telómeros cortos que sea reconocible. Su

patogenia está estrechamente vinculada a un nuevo paradigma de insuficiencia de células madre. Aunque la contribución de los telómeros cortos al componente genético del enfisema es significativa, su descubrimiento seguramente facilitará la identificación de otros subfenotipos aún desconocidos dentro de la entidad heterogénea de la EPOC (14).

5. CONCLUSIONES

El acortamiento de los telómeros no solo está asociado al envejecimiento biológico, sino que también se relaciona con la disminución progresiva e irreversible de la función pulmonar que ocurre con la edad.

La asociación de acortamiento telomérico en enfermedades como el asma y la EPOC, sugiere una posible implicación de los telómeros en su desarrollo y progresión.

La implementación temprana de terapias antifibróticas específicas (por ejemplo, nintedanib o pirfenidona) podría desempeñar un papel importante en la estabilización o prevención del acortamiento telomérico que alcanza longitudes críticas. al frenar el envejecimiento acelerado y el desarrollo de enfermedades asociadas.

A partir de esta revisión, se puede concluir que la implementación de la medición de la longitud de los telómeros como marcador en la práctica clínica podría tener un gran potencial para identificar fenotipos susceptibles y controlar la progresión de la enfermedad. Esto es especialmente relevante debido al pronóstico desfavorable de la mayoría de estas enfermedades y a la escasez de tratamientos disponibles.

Es fundamental continuar invirtiendo en investigación y ensayos clínicos para validar los hallazgos y facilitar su implementación en la práctica clínica.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Calado R, Young N. Telomeres in disease. *F1000 Med Rep.* 2012;4:8. Disponible en: <https://doi.org/10.3410/M4-8>
2. Jameson J, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. Eds. *Harrison. Principios de Medicina Interna*, 20e. McGraw-Hill; 2021.
3. Tarik M., Ramakrishnan L., Sachdev HS, Tandon N, Roy A, Bhargava SK, Pandey RM. Validation of quantitative polymerase chain reaction with Southern blot method for telom-

- ere length analysis. Future science OA. 2018. 4(4), FSO282. Disponible en: <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0115>
4. Shay JW, Telomeres and aging, Current Opinion in Cell Biology. 2018. Volume 52, 2018, Pages 1-7, ISSN 0955-0674, Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2017.12.001>.
 5. Arish N, Petukhov D, Wallach-Dayana SB. The role of telomerase and telomeres in Interstitial lung diseases: from molecules to clinical Implications.. Int J Mol Sci. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms20122996>
 6. Courtwright AM, El-Chemaly S. Telomeres in interstitial lung disease: The short and the long of it. Ann Am Thorac Soc. 2019. 16(2):175-181. Disponible en: <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201808-508CME>
 7. Snetselaar R, van Moorsel CHM, Kazemier KM, van der Vis JJ, Zanen P, van Oosterhout MFM, Grutters JC. Telomere length in interstitial lung diseases. Chest Journal. 2015;148(4):1011-1018. Disponible en: <https://doi.org/10.1378/chest.14-3078>
 8. Stanley SE, Merck SJ, Armanios M. Telomerase and the genetics of emphysema susceptibility. Implications for pathogenesis paradigms and patient care. Ann Am Thorac Soc. 2016. 13 Suppl 5(Suppl 5):S447-S451. Disponible en: <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201609-718AW>
 9. Povedano JM, Martinez P, Serrano R, Tejera Á, Gómez-López G, Bobadilla M, et al.. Therapeutic effects of telomerase in mice with pulmonary fibrosis induced by damage to the lungs and short telomeres. Elife. 2018 30;7:e31299. Disponible en: <https://doi.org/10.7554/eLife.31299>
 10. Bilgili H, Białas AJ, Górski P, Piotrowski WJ. Telomere abnormalities in the pathobiology of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. J Clin Med. 2019. 8(8):1232. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jcm8081232>
 11. Tudor RM, Yoshida T, Arap W, Pasqualini R, Petrache I. State of the art. Cellular and molecular mechanisms of alveolar destruction in emphysema: an evolutionary perspective. Proc Am Thorac Soc. 2006. 3(6):503-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1513/pats.200603-054MS>
 12. Stanley SE, Gable DL, Wagner CL, Carlile TM, Hanumanthu VS, Podlevsky JD, et al. . Loss-of-function mutations in the RNA biogenesis factor NAF1 predispose to pulmonary fi-

brosis-emphysema. *Science translational medicine*. 2016. 8(351), 351ra107. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf7837>

13. Alder JK, Guo N, Kembou F, Parry EM, Anderson CJ, Gorgy AI, et al. Telomere length is a determinant of emphysema susceptibility. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2011. 184(8), 904–912. Disponible en: <https://doi.org/10.1164/rccm.201103-0520OC>

14. Bär C, Blasco MA. Telomeres and telomerase as therapeutic targets to prevent and treat age-related diseases. *F1000Research*. 2016. 5, F1000 Faculty Rev-89. Disponible en: <https://doi.org/10.12688/f1000research.7020.1>

15. Stanley SE, Merk SJ, Armanios M. "Telomerase and the genetics of emphysema susceptibility. Implications for pathogenesis paradigms and patient care.". *Anales de la American Thoracic Society* vol. 13 Suppl 5, Suppl 5. 2016: S447-S451. Disponible en: <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201609-718AW>

16. Córdoba-Lanús E, Cazorla-Rivero S, Espinoza-Jiménez A, de-Torres JP, Pajares MJ, Aguirre-Jaime A, et al. Telomere shortening and accelerated aging in COPD: findings from the BODE cohort. *Respiratory Research*. 2017. 18(1), 59. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12931-017-0547-4>

17. Houben JM, Mercken EM, Ketelslegers HB, Bast A, Wouters EF, Hageman GJ, Schols AM. Telomere shortening in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med*. 2009. 103(2):230-6. Epub .2008. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.med.2008.09.003>

18. Ding Y, Li Q, Wu C, Wang W, Zhao J, Feng Q, et al. TERT gene polymorphisms are associated with chronic obstructive pulmonary disease risk in the Chinese Li population. *Molecular genetics & genomic medicine*. 2019. 7(8), e773. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/mgg3.773>

19. Córdoba-Lanús E, Cabrera-López C, Cazorla-Rivero S, Rodríguez-Pérez MC, Aguirre-Jaime A, Celli B, et al. Shorter telomeres in non-smoking patients with airflow limitation. *Respiratory Medicine*. 2018. 138, 123–128. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2018.04.002>

20. Sgalla G, Iovene B, Calvello M, Ori M, Varone F, Richeldi L. Idiopathic pulmonary fibrosis: pathogenesis and management. *Respir Res.*, 2018. 19, 32. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12931-018-0730-2>

21. Wang ZN., Su RN, Yang BY, Yang KX, Yang L., Yan Y, et al. Potential role of cellular senescence in asthma. *Frontiers in Cell Develop Biol.*, 2020. 8, 59. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.0005>
22. Jeldres A, Labarca G Is pirfenidone effective for idiopathic pulmonary fibrosis?. ¿Es efectiva la pirfenidona en el tratamiento de la fibrosis pulmonar idiopática?. *Medwave*.2017.17(Suppl1), e6843. Disponible en: <https://doi.org/10.5867/medwave.2017.6844>
23. Flaherty KR, Wells AU, Cottin V, Devaraj A, Walsh SL, Inoue Y, et al. INBUILD Trial investigators. Nintedanib in progressive fibrosing interstitial lung diseases. *The New England journal of medicine*. 2019. 381(18), 1718–1727. Disponible en: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1908681>
24. Lamb YN. . Nintedanib: A review in fibrotic interstitial lung diseases. *Drugs*, 2012. 81(5), 575–586. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01487-0>
25. Berns KI, Muzyczka N. AAV: An overview of unanswered questions. *Human Gene Therapy*. 2017. 28(4), 308–313. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/hum.2017.048>
26. Bernardes de Jesus B, Schneeberger K, Vera E, Tejera A, Harley CB, Blasco MA. The telomerase activator TA-65 elongates short telomeres and increases health span of adult/old mice without increasing cancer incidence. *Aging Cell*, 2011. 10(4), 604–621. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2011.00700.x>
27. Santiago-Ortiz J L, Schaffer D V. Adeno-associated virus (AAV) vectors in cancer gene therapy. *J. Controll Rel.* 2106. 240, 287–301. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.01.001>
28. Martínez P, Blasco MA. Telomere-driven diseases and telomere-targeting therapies. *The Journal Cell Bio.*, 2017. 216(4), 875–887. Disponible en: <https://doi.org/10.1083/jcb.201610111>
29. Piñeiro-Hermida S, Autilio C, Martínez P, Bosch F, Pérez-Gil J, Blasco MA. Telomerase treatment prevents lung profibrotic pathologies associated with physiological aging. *J Cell Biol.* 2020. 5;219(10):e202002120. Disponible en: <https://doi.org/10.1083/jcb.202002120>
30. Ley B, Brown KK, Collard HR. Molecular biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Physiol.,. Lung cellular and molecular physiology.* 2014. 307(9), L681–L691. Disponible en: <https://doi.org/10.1152/ajplung.00014.2014>

31. Belsky DW, Shalev I, Sears MR, Hancox RJ, Lee Harrington H, Houts R, et al. Is chronic asthma associated with shorter leukocyte telomere length at midlife?. *Am J Resp Critical Care Med.* 2014. 190(4), 384–391. Disponible en: <https://doi.org/10.1164/rccm.201402-0370OC>