

Revisão / Review

A telomerase em células-tronco hematopoéticas

Telomerase in hematopoietic stem cells

Silvana Perini¹Lúcia M. R. Silla²Fabiana M. Andrade³

A proliferação das células-tronco hematopoéticas sofre a perda dos telômeros a cada divisão celular. Alguns autores discordam quanto à perda ou não do potencial proliferativo e capacidade de auto-renovação das células mais diferenciadas. Revisaremos aqui o papel da telomerase na biologia do sistema hematopoético, na diferenciação normal ou maligna, assim como no envelhecimento das células-tronco hematopoéticas. A constante renovação celular requerida pela hematopoese confere às células-tronco embrionárias, assim como à maioria das células tumorais, um aumento da capacidade proliferativa marcada pela detecção da enzima telomerase e possível manutenção dos telômeros. Estudos clínicos se farão necessários para esclarecer melhor a atividade da telomerase em células-tronco hematopoéticas, seu possível uso como marcador de diagnóstico e seu uso a fim de propósitos prognósticos. Rev. bras. hematol. hemoter. 2008;30(1):47-53.

Palavras-chave: *Telomerase; telômeros; células-tronco; sistema hematopoético.*

Introdução

O sistema hematopoético é caracterizado por um constante *turnover*, ou renovação de células, que necessita de um constante esforço de replicação para manter as populações de leucócitos, plaquetas e eritrócitos. Estímulos apropriados como hipóxia, sangramentos ou infecções geram respostas deste sistema, que aumenta substancialmente a produção de novos tipos celulares individuais.¹ Esta excelente capacidade regenerativa depende de uma população relativamente pequena de células-tronco hematopoéticas ou HSCs (Hematopoietic Stem Cells).² Uma única célula-tronco é capaz de produzir cerca de 1.011 a 1.012 células sanguíneas maduras por dia.³

Define-se célula-tronco, ou *stem cell*, como uma célula com capacidade de renovar e produzir progênie destinada a diferenciar-se. Contudo, uma das propriedades fundamentais

das células-tronco, a auto-renovação, parece estar influenciada por mecanismos intrínsecos, como o potencial replicativo que ocorre durante a restrição telomérica.⁴ Isso significa que, com a diminuição do telômero, as HSCs têm uma taxa de renovação muito baixa nos tecidos adultos, e diminuem seu potencial proliferativo a cada nova divisão e, conseqüentemente, com a idade. Com notável potencial regenerativo, as HSCs substituem a maioria das células sanguíneas maduras continuamente ao longo da vida.⁵ Porém, experimentos feitos em transplantes seriados de medula óssea em ratos, associados com o encurtamento de repetições teloméricas, fornecem fortes evidências que HSCs não são células imortais mas que têm potencial limitado de replicação.^{6,7}

Deste modo, o objetivo deste artigo é revisar o papel da telomerase e dos telômeros na biologia das células-tronco humanas hematopoéticas normais e malignas, assim como no envelhecimento das células normais.

¹Graduação em Biomedicina. Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

²Graduação em Medicina, especialização em Medicina Interna e Hematologia, Doutorado em Genética e Biologia Molecular. Serviço de Hematologia e Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), RS, Brasil.

³Graduação em Ciências Biológicas, Mestrado e Doutorado em Genética e Biologia Molecular. Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

Correspondência: Fabiana Michelsen de Andrade
Centro Universitário Feevale, RS-239, 2755
Proptec – Prédio Lilás, sala 201 – E
93352-000 – Novo Hamburgo-RS – Brasil
Tel.: (51) 3586-8800, ramal 8938
E-mail: fabiana.andrade@feevale.br

Hematopoese

As HSCs mantêm a hematopoese através da regulação de períodos de auto-renovação, diferenciação e morte celular durante todo o período de vida dos vertebrados.²

A hematopoese é iniciada em uma célula-tronco multipotente, com marcadores imunológicos CD34+,⁸ principalmente, que pode dar origem às distintas linhagens celulares. Contudo, a diferenciação nas diferentes linhagens ocorre a partir de células-tronco progenitoras hematopoéticas, que passam por uma etapa de células comprometidas com o desenvolvimento restrito a somente uma das linhagens.

Com grande capacidade de auto-renovação, a HSC garante que a hematopoese permaneça constante em condições normais de saúde e possa gerar todas as linhagens celulares que constituem o compartimento hematopoético. As células precursoras, por sua vez, são capazes de responder a fatores de crescimento hematopoético com aumento de produção de uma ou outra linhagem celular restrita quando há necessidade; porém, estas células parecem perder a capacidade de auto-renovação.³

Os fatores que conferem uma capacidade replicativa tão aumentada para HSCs ainda não são completamente entendidos, mas uma diferença importante entre este tipo celular e a maior parte das células é a atividade detectável da enzima telomerase, e, portanto, uma possível manutenção dos telômeros.

Telômeros

Nas extremidades dos cromossomos, denominadas telômeros, existem seqüências repetitivas de DNA. Estas estruturas estão envolvidas em diversas funções biológicas essenciais, entre elas proteger os cromossomos de recombinações e fusões das seqüências finais com outros cromossomos; reconhecer danificações no DNA; estabelecer mecanismos para replicações dos cromossomos; contribuir na organização funcional cromossômica no interior do núcleo; participar na regulação da expressão genética, e servir à maquinaria molecular como um "relógio" que controla a capacidade replicativa de células humanas e a entrada destas em senescência celular.⁹

Os telômeros consistem de longas séries de seqüências curtas e repetidas, em *tandem*, formadas por bases TTAGGG e por proteínas associadas.^{2,10} Durante a replicação, no entanto, ocorre a perda progressiva de DNA das extremidades dos cromossomos, pois a DNA polimerase convencional não pode reproduzir a extremidade 3' da molécula linear (problema da replicação final).¹¹ Este fato leva ao encurtamento progressivo do cromossomo ao longo das divisões de uma linhagem celular, levando à perda de capacidade replicativa e ao aumento do envelhecimento. Com a eliminação do último *primer* na ponta do telômero, a DNA polimerase β não pode sintetizar o segmento de DNA que o substitui

porque carece de uma extremidade 3' a partir da qual esse segmento possa crescer, levando à descontinuidade dos telômeros.⁹ Como consequência, nas divisões celulares subsequentes, com cada retirada do *primer*, perde-se um segmento de DNA, o que provoca o encurtamento progressivo do telômero. No entanto, em alguns momentos do desenvolvimento, e em algumas linhagens celulares, a presença de uma enzima denominada telomerase protege a célula do encurtamento dos telômeros.

Estudos têm demonstrado que a eficiência do reparo de DNA e da manutenção do tamanho dos telômeros varia entre os diferentes tipos de células-tronco. Células-tronco embrionárias são bastante resistentes ao dano de DNA e mantêm o comprimento das repetições do telômero ao longo de mitoses consecutivas, mas células-tronco hematopoéticas são bastante sensíveis ao dano de DNA e menos capazes de manter o comprimento do telômero.¹² O comprimento do telômero em células sanguíneas humanas mostra um declínio notável com a idade e, além disso, a deficiência parcial da telomerase em células-tronco hematopoéticas de humanos pode resultar falha da medula óssea.⁷

Telômeros em células-tronco progenitoras do sangue do fígado fetal humano e do cordão umbilical são aproximadamente 4 kb (quatro kilobases) mais longos do que aqueles da medula óssea adulta e do sangue periférico, o que sugere que células-tronco, embora auto-regenerativas durante toda a vida, tenham um finito e limitado potencial replicativo.³

A perda do DNA telomérico induz a mesma maquinaria celular de que cromossomos quebrados fazem uso, ou seja, o retardo do ciclo celular e reparo do DNA, e, ainda, que os telômeros intactos têm funções importantes, permitindo a progressão do ciclo da célula e evitando a perda do cromossomo.⁴

As células B parecem ser uma exceção particularmente interessante em se tratando de células sanguíneas, pois o comprimento do telômero nestes tipos celulares é cada vez mais heterogêneo com a idade. Aparentemente, entre outros fatores, algumas células B expressam enzima telomerase suficiente para adicionar, de forma eficaz, repetições aos telômeros, o que pode ser explicado pelas múltiplas divisões celulares que requerem para uma efetiva seleção e "afinidade maturativa".⁷

Ao induzir quebras nos cromossomos, a diminuição dos telômeros induz indiretamente a interrupção do ciclo celular e o reparo do cromossomo antes que a célula possa prosseguir sua divisão celular e dar continuidade ao ciclo de replicação. Além disso, os telômeros parecem estabilizar extremidades cromossomais de células intactas, por eles protegidos da degradação nuclear e da fusão com outros cromossomos quebrados, mantendo a estabilidade genética.⁴ Portanto, ambas as funções desta estrutura estão relacionadas à capacidade de proliferação celular, o que é especialmente importante em linhagens com alta taxa de duplicação.

Telomerase

Para evitar o encurtamento progressivo dos telômeros a cada divisão celular e a perda da informação genética, periodicamente os segmentos de DNA perdidos são recuperados, o que depende de um complexo enzimático ribonucleoprotéico chamado telomerase. Este complexo enzimático nada mais é do que uma DNA-polimerase RNA-dependente que sintetiza as repetições teloméricas de DNA, estabelece bases moleculares para um potencial proliferativo ilimitado, e consiste de dois componentes essenciais: o componente funcional do RNA (nos seres humanos chamado hTERC), que serve como um molde para a síntese telomérica do DNA, e a proteína catalítica (hTERT) com atividade de transcriptase reversa.⁹ Portanto, este complexo tem um pequeno componente de RNA que constitui um molde para a síntese das seqüências repetitivas que compõe o telômero. As bases nucleotídicas são adicionadas individualmente e na seqüência correta, e a telomerase progride descontinuamente, ou seja, o molde de RNA é posicionado sobre o DNA iniciador, vários nucleotídeos são adicionados ao iniciador e, depois, a enzima transloca-se para começar o processo novamente.⁹

Em células maduras normais e em diferenciação, como as células sanguíneas, a atividade da telomerase está em geral baixa ou inexistente.^{11,13} Já em células imortalizadas como as HSCs, na maioria das células-tronco formadoras de tecidos adultos, e nas células cancerígenas, encontra-se uma atividade aumentada desta enzima.¹⁴

A maioria das células tumorais e células-tronco embrionárias evita a senescência replicativa através do aumento da atividade da telomerase, que conduz à estabilização dos telômeros e poderia contribuir na aquisição de um "fenótipo imortal".¹⁵

Os telômeros podem comutar entre um estado aberto à atividade replicativa da telomerase, que estabelece o alongamento destes, e um estado fechado, que não permite a soma de repetições teloméricas associadas à enzima telomerase.¹⁶ Neste estudo foi verificado que a enzima age de forma inversa ao comprimento do telômero, ou seja, telômeros curtos estão abertos à atividade da telomerase, o que pode ser observado na maioria das células humanas, nas quais a atividade da telomerase segue níveis limitados de replicação, permitindo o alongamento telomérico somente em células com telômeros relativamente curtos.

A perda de repetições, relacionada à ausência de atividade da enzima telomerase sobre o telômero, está ligada à senescência replicativa e envelhecimento em células humanas.⁵

Por outro lado, a presença de telomerase se faz comum na maioria das células cancerígenas humanas, e sua ausência, na maioria das células somáticas, fazendo com que esta enzima seja um importante marcador para o diagnóstico e propósitos de prognóstico.¹⁴

Encurtamento do telômero, telomerase e envelhecimento celular

Da mesma forma que o comprimento telomérico está relacionado à maturação de HSCs, ele também se relaciona ao envelhecimento celular, pois, superados alguns limites de encurtamento dos telômeros, ocorre a morte celular, e células senescentes apresentam telômeros que não se recuperam com a mesma velocidade com que o fazem as células jovens.¹⁷ Portanto, o rápido encurtamento dos telômeros seria devido a uma redução progressiva da síntese de telomerase à medida que a idade avança.

Os estudos sobre a biologia das HSCs focalizam principalmente sua auto-renovação e diferenciação. No entanto, o que ocorre na auto-renovação não é a geração de duas células filhas idênticas à mãe, e sim células com diferentes capacidades de proliferação, pois ao longo das replicações celulares ocorre a perda de seqüências teloméricas que não foram totalmente consertadas pelos mecanismos de reparo de DNA.¹² Assim, as células filhas reduzem progressivamente sua capacidade proliferativa devido à perda progressiva do telômero a cada divisão celular, o que pode, por sua vez, conduzir à senescência proliferativa observada *in vivo* e *in vitro*.¹⁸ As limitações no reparo do DNA, juntamente com as perdas do comprimento do telômero em células somáticas, demonstram não só a maturação das HSCs mas também o envelhecimento destas células.

A proliferação das células-tronco está associada à perda do comprimento do telômero.¹⁹ Isto implica que, mesmo sendo observada em progenitores hematopoéticos e em suas progênes, a atividade da enzima telomerase seria incapaz de impedir o encurtamento do telômero, seja pela expressão insuficiente, ou pelo fato de a presença da enzima estar relacionada a outras funções celulares.

Já as células-tronco embrionárias são bastante resistentes aos danos de DNA e mantêm o comprimento das repetições teloméricas ao longo das sucessivas replicações celulares, ao contrário das HSCs que, mesmo na presença de telomerase, são bastante sensíveis aos danos de DNA e menos capazes de manterem o comprimento do telômero.¹²

Diferenças impressionantes foram constatadas no comprimento médio das seqüências teloméricas nas extremidades dos cromossomos de HSCs humanas em diferentes estágios de desenvolvimento, e a explicação mais provável para estas observações é que as HSCs, assim como todas as células somáticas, perdem o DNA telomérico a cada ciclo de divisão celular.⁴ Com isso, percebem-se peculiaridades no potencial de replicação da telomerase e na dinâmica do telômero, que parecem desenvolver um papel diferente em células-tronco embrionárias comparadas às células-tronco adultas.

Embora na maioria das células somáticas a atividade do telomerase esteja ausente, tem sido demonstrado que as células hematopoéticas primitivas podem exibir uma baixa

atividade de telomerase. Apesar da atividade da enzima, o encurtamento do telômero é observado em leucócitos maduros e no progenitor hematopoético em culturas *in vitro*.²⁰ Estas observações levaram ao estudo do regulamento do comprimento do telômero e da atividade da enzima telomerase nas diferentes células hematopoéticas CD34+. As populações celulares CD34+ analisadas foram os progenitores hematopoéticos do fígado fetal, do sangue de cordão umbilical, do sangue periférico e da medula óssea. Estas populações CD34+ tiveram a expressão da telomerase ativada nos estágios iniciais da cultura, mas esta declinava rapidamente após a terceira semana.¹¹ Neste estudo, 1 a 1.5 kb de DNA telomérico foram perdidos durante as semanas 3 e 4, revelando uma taxa de perda bem maior do que na primeira semana e uma inativação da telomerase em relação aos primeiros dias de proliferação. Estes dados sustentam a hipótese de que a atividade da telomerase em células hematopoéticas primitivas diminui a taxa de perda telomérica, mas não a inibe completamente e, ainda, que a enzima pode diminuir juntamente com a redução da renovação celular e do potencial de expansão.

Encurtamento do telômero, telomerase e transplantes de HSCs

Uma vez que o comprimento do telômero está associado ao número de divisões celulares permitido às células somáticas, incluindo as HSCs, o potencial proliferativo das células-tronco humanas parece estar diminuído após uma reconstituição hematopoética. Um bom exemplo é a reconstituição que ocorre nos casos em que pacientes sofrem uma mielossupressão, conjuntamente com um transplante de células-tronco. Nestes casos ocorre uma diluição do número de células reconstituíntes da hematopoese, que deverão se esforçar para uma satisfatória proliferação celular, para serem capazes de preencher o compartimento mielossuprimido.¹⁹

As primeiras investigações comparando o comprimento do telômero em células do doador e em células transplantadas presentes do receptor demonstraram que este esforço de replicação leva a uma rápida diminuição telomérica. Estudos indicaram que o encurtamento progressivo do telômero estaria antecipado com a expansão *in vitro*, comparável a até 20 anos de perda idade-associada, em condições normais de proliferação.^{11,19-22} Estes trabalhos pareciam indicar que a história mitótica celular refletida pela diminuição do comprimento telomérico com as sucessivas divisões celulares observado *in vitro*, e o envelhecimento *in vivo*, poderia limitar a capacidade proliferativa destas células. Portanto, inicialmente, estes dados demonstraram que os transplantes não seriam efetivos por um longo período de tempo.

No entanto, ao verificar, da mesma forma que outros autores, que a reconstrução da hematopoese após o transplante de células-tronco requer uma atividade replicativa ex-

cessiva devido ao número limitado de células-tronco usadas para o transplante, propôs-se um estudo combinando a reconstituição do tecido hematológico com a dinâmica do comprimento telomérico no período de restabelecimento imediato após transplante alogênico, com imunossupressão, e com um seguimento de ao menos 12 meses.²³ Neste estudo, os autores demonstraram que a redução inicial do comprimento do telômero foi seguida pela reconstituição do comprimento do mesmo. Ao final de um ano após o transplante, o comprimento do telômero nas células do receptor era semelhante ao comprimento do telômero das células derivadas do doador.²³ Isto indica que a homeostase do comprimento do telômero após o transplante de células-tronco é mantida, não indicando nenhuma perda de capacidade replicativa das células-tronco hematopoéticas. Assim, ao investigar um período maior após o transplante, estes autores não forneceram nenhuma evidência que a população de células-tronco em longo prazo esteja comprometida pelo estresse replicativo induzido pelo transplante.

O uso do sangue de cordão umbilical como uma fonte de HSCs para o transplante alogênico tem aplicações limitadas devido ao baixo número de HSCs presente numa única coleta, o que faz com que esta fonte celular seja utilizada somente na pediatria, ou em adultos com baixa massa corpórea.^{24,25} O crescente interesse em transplantes que sejam beneficiados por um número reduzido de células-tronco no enxerto¹⁹ despertou a utilidade da expansão *ex vivo* de HSCs neonatais, que podem trazer benefícios clínicos consideráveis. Os resultados preliminares de estudos de fase 1 afirmam que a habilidade de manter HSCs *in vitro* por períodos prolongados fornece também um valioso sistema para transplantes.²⁶

Por outro lado, as HSCs do sangue periférico mobilizadas por citocinas são usadas cada vez mais para o transplante de células-tronco. Caracteristicamente, o transplante de células-tronco do sangue periférico leva a uma reconstituição hematopoética mais rápida,²³ uma vez que estas células possuem um comportamento biológico diferente daquelas encontradas na medula óssea, ou no sangue de cordão umbilical. Estes dados, somados ao fato de que o esforço replicativo da colônia de células transplantadas não leva à diminuição de sua capacidade proliferativa, trazem grandes perspectivas nesta área da medicina e sugerem que as questões relativas ao encurtamento do telômero com a replicação celular, neste cenário, necessitam ser melhores esclarecidas.

Encurtamento do telômero, telomerase e câncer

Ao longo de toda sua existência, as células-tronco são expostas ao estresse e a inúmeros agentes que podem desencadear o câncer.²⁷ É importante esclarecer que o tumor pode, frequentemente, originar-se da transformação de células-tronco normais, enquanto o envelhecimento está as-

sociado com um declínio progressivo no número e/ou na funcionalidade de determinadas células-tronco.²⁸

Se por um lado as alterações na dinâmica do telômero suprimem a transformação maligna, por outro a facilitam, pois estão relacionadas com a estabilidade genômica e sobrevivência celular.²⁷ No câncer, a síntese da telomerase está aumentada, o que explicaria as divisões perpétuas comuns em células neoplásicas cultivadas.¹⁷ Muitas células cancerígenas possuem tanto a atividade da enzima telomerase quanto o comprimento do telômero muito elevados, demonstrando com isso o potencial marcador da telomerase para diagnóstico de muitos cânceres.¹⁴

Para se sustentarem como células transformadas, as células neoplásicas deverão manter a fase de proliferação celular além da fase de senescência, reativando a atividade da telomerase, determinada pela expressão da subunidade catalítica hTERT,¹⁷ e inibindo possíveis repressores da atividade desta enzima.

A observação que a telomerase está ativa em 85% a 90% dos tumores humanos, porém inativa em células normais, levou a achados de que a função supressora tumoral do encurtamento telomérico inibe a expressão da enzima,²⁹ o que rende às células uma incapacidade de manter o DNA telomérico, resultando na estagnação ou regressão do tumor.¹⁷

Por outro lado, enquanto a checagem dos pontos de verificação nas quebras do DNA, induzida pelas disfunções no telômero, tem um importante papel na supressão tumoral,³⁰ o encurtamento do telômero também pode contribuir para a iniciação do câncer, induzida pela instabilidade cromossomal,²⁷ o que foi verificado ao ser constatada a deficiência de mTERC em ratos *knockout*, sugerindo a primeira evidência experimental que a diminuição do telômero pode ser um evento pré-tumoral, por estar relacionada com a instabilidade do cromossomo.²⁷ Estas descobertas abriram perspectivas para o desenvolvimento de uma classe de drogas que objetive a manipulação da telomerase em células tumorais.

O duplo papel da ativação da perda de seqüências teloméricas e a ativação da telomerase na grande maioria dos cânceres humanos, e especificamente neste artigo, em malignidades hematológicas, sugere que estas patologias derivam de transformações nas HSCs durante a carcinogênese.²⁷ A retenção da capacidade de auto-renovação em células-tronco diferenciadas é o evento mais provável que conduz à formação do câncer, reativando um programa de imortalidade em células diferenciadas transformadas.³¹ Por um lado, o encurtamento telomérico pode estar envolvido no desenvolvimento da instabilidade, permitindo o aparecimento de mutações cromossômicas das células-tronco. Por outro lado, as células-tronco tumorais podem requerer a reativação da telomerase para conseguir a capacidade imortal de auto-renovação. Portanto, à luz destas constatações parece estar a grande importância em elucidar o papel dos telômeros e da telomerase no câncer e nas HSCs.

Regulação da telomerase

Diante do constante esforço das células-tronco em manter a renovação dos compartimentos celulares ao longo de toda a vida, a expressão da enzima telomerase parece cumprir um importante papel. Sua disfunção acarretaria um rápido encurtamento do telômero, exaustão da célula-tronco e prematuro envelhecimento.²⁷ Entretanto, o nível da atividade da telomerase nas células-tronco aparentemente não é suficiente para manter o comprimento do telômero durante seu envelhecimento.

O comprimento do telômero das subpopulações de HSCs suportam a hipótese de que as células com maior potencial proliferativo são aquelas com telômeros mais longos.³² E a manipulação da enzima telomerase tem se mostrado importante nas tentativas para aumentar o período de expectativa de vida proliferativa de células-tronco humanas normais.⁵

Portanto, é de grande interesse entender de que maneira a telomerase é regulada em condições normais e patológicas, especialmente devido à sua potencialidade como alvo terapêutico. Um grande número de diferentes mecanismos tem sido demonstrado como responsáveis pelo controle da expressão desta enzima.

Primeiramente, a regulação da telomerase parece ocorrer principalmente em nível de transcrição da transcriptase (hTERT), em um grau muito menor do que quando comparado à transcrição do molde de RNA (hTERC).³³ A região promotora do gene hTERT possui vários sítios de ligação para fatores de transcrição conhecidos como sendo oncoproteínas e proteínas supressoras de tumor, como BRCA-1, p53 e a proteína E6 do papiloma vírus humano, além da presença de sítios de ligação para estrógeno.³⁴ Estes fatores de transcrição atuam tanto como repressores como ativadores, e alguns deles possuem papéis opostos em células normais e em células tumorais.^{35,36}

Além desta regulação genética, mecanismos epigenéticos também foram descritos, especialmente relacionados ao promotor do gene hTERT, que é rico em ilhas CpG. Estas seqüências foram descritas como hipermetiladas em células senescentes normais e diferenciadas, impedindo a expressão gênica. Por outro lado, estas mesmas regiões também foram detectadas como estando metiladas em células cancerosas, com alta expressão da telomerase. Este fato, aparentemente contraditório, demonstra que a regulação gênica depende da interação entre fatores genéticos e epigenéticos.³⁴

Tanto o comprimento dos telômeros quanto os níveis de telomerase possuem profundos efeitos sobre o comportamento das células-tronco. Contudo, os papéis exatos dos telômeros e da telomerase em células-tronco específicas estão ainda sendo investigados. Algumas áreas ainda devem ser exploradas, tais como as diferentes vias de sinalização que conectam a atividade da telomerase e o comprimento do telômero com a funcionalidade de células-tronco.³⁴

Conclusões e perspectivas futuras

Para compreender melhor o papel dos telômeros e da telomerase no envelhecimento celular, em diversas doenças e no câncer, devem-se buscar mecanismos para caracterizar o encurtamento telomérico e a atividade da telomerase em compartimentos *in vivo* de células-tronco durante o envelhecimento e em condições patológicas. Há um consenso entre os autores que ainda não está claro se as células-tronco hematopoéticas entram em senescência ou se submetem à apoptose em resposta às disfunções teloméricas. Portanto, os indícios de passividade das células-tronco em relação às disfunções teloméricas permanecem a ser confirmados.

É importante perceber que a atividade da telomerase e a dinâmica do telômero parecem ter um papel diferente em células-tronco embrionárias comparadas às células-tronco adultas. Elucidar melhor os mecanismos que conduzem a este diferencial de comportamento poderia contribuir para o desenvolvimento de estratégias que se focalizassem no alongamento do telômero e no "rejuvenescimento" de populações de células-tronco, aumentando a capacidade de repopularização das HSCs, após terapias mielo-ablasivas.

De um ponto de vista clínico, têm-se a necessidade de confirmar alguns pontos importantes. O primeiro é se a inibição da telomerase ocorre para limitar a proliferação e induzir à apoptose em células-tronco e no câncer. Outro ponto é se a estabilização dos telômeros nas doenças pré-malignas pode inibir a evolução da instabilidade cromossomal e a transformação das células-tronco em câncer.

Uma grande promessa para o futuro, e outra questão a ser mais investigada, é a identificação de proteínas marcadoras de senescência nas células-tronco que pudessem prever o risco do câncer, a fim de otimizar a seleção de intervenções terapêuticas para a prevenção da proliferação maligna. A dinâmica do telômero representado pela história mitótica de órgãos altamente proliferativos, o comprimento do telômero, a atividade da telomerase e os perfis citogenéticos da população definida de células-tronco poderiam ser úteis para explorar a origem das transformações pré-malignas pelas células que dão segmento ao desenvolvimento da formação do tumor. Contudo, mais estudos são necessários para definir o papel da telomerase, principalmente na perda do DNA das extremidades cromossômicas e, portanto, perda de importantes informações para a homeostase das células-tronco hematopoéticas.

Assim, apesar de todas as pesquisas sobre este assunto desenvolvidas na última década, muitas questões ainda permanecem em aberto. Atualmente, percebe-se que a relação entre telomerase e ciclo celular é muito mais complexa do que aquela imaginada a princípio. Deste modo, apesar de um número crescente de dados na literatura, um dado continua sendo verdadeiro desde 1995: maiores informações a respeito do papel dos telômeros no envelhecimento celular podem

conduzir às predições significativas da falha de um órgão com implicações em áreas diversas tais como o gerontologia e a medicina preventiva.⁴ Com a compreensão do mecanismo de auto-renovação das células-tronco, que muda a cada estágio de desenvolvimento, será possível manipular tais mecanismos, de uma maneira significativa e segura, utilizando-se técnicas que permitam que a extensão ou a manutenção induzida do comprimento do telômero seja aplicada à prática clínica.

Abstract

Hematopoietic stem cell proliferation leads to telomere length decreases at each cellular division. Some authors disagree about the telomere influence on the reduction of the proliferative potential and capacity of self-renewal. Here we review telomerase function in the biology of the hematopoietic system, in normal or differentiation and its influence on the ageing of hematopoietic stem cells. The constant cellular renewal required to maintain the hematopoietic system, provides embryonic stem cells, as well as malignant cells, an increased proliferative capacity. This is marked by the detection of telomerase enzyme activity and possible telomere maintenance. Clinical trials will be required to clarify telomerase activity in hematopoietic stem cells, its possible use as a diagnostic marker and its use for prognostic purposes. Rev. bras. hematol. hemoter. 2008;30(1):47-53.

Key words: *Telomerase; telomeres; stem cells; hematopoietic system.*

Referências Bibliográficas

1. Yin T, Li L. The stem cell niches in bone. *The Journal of Clinical Investigation*. 2006;116:1195-201.
2. Zimmermann S, Martens UM. Telomere dynamics in hematopoietic stem cells. *Current Molecular Medicine*. 2005;5:179-85.
3. Elwood NJ. Telomere biology of human hematopoietic stem cells. *Cancer Control*. 2004;11:77-85.
4. Lansdorp PM. Telomere length and proliferation potential of hematopoietic stem cells. *Journal of Cell Science*. 1995;108:1-6.
5. Zimmermann S, Glaser S, Ketteler R *et al*. Effects of telomerase modulation in human hematopoietic progenitor cells. *Stem Cells*. 2004;22:741-9.
6. Allsopp RC, Cheshier S, Weissman IL. Telomere shortening accompanies increased cell cycle activity during serial transplantation of hematopoietic stem cells. *Journal of Experimental Medicine*. 2001;193:917-24.
7. Baerlocher GM, Roth A, Lansdorp PM. Telomeres in hematopoietic stem cells. *Annals of New York Academy of Science*. 2003; 996:44-8.
8. Bartolovic K, Balabanov S, Berner B *et al*. Clonal heterogeneity in growth kinetics of CD34+CD38- Human cord blood cells in vitro is correlated with gene expression pattern and telomere length. *The International Journal of Cell Differentiation and Proliferation* 2005;23:946-57.
9. Cong YS, Wright WE, Shay JW. Human telomerase and its regulation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2002; 66:407-25.
10. Collins K. Mammalian telomeres and telomerase. *Current Opinion in Cell Biology* 2000;12:378-83.

11. Engelhardt M, KumaR R, Albanell J *et al*. Telomerase regulation, cell cycle, and telomere stability in primitive hematopoietic cells. *Blood Journal*. 1997;90:182-93.
12. Lansdorp PM. Role of telomerase in hematopoietic stem cells. *Annals of New York Academy of Science*. 2005;1044:220-7.
13. Broccoli D, Young JW, Lange T. Telomerase activity in normal and malignant hematopoietic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1995;92:9082-6.
14. Ahmed A, Tollefsbol T. Telomerase, telomerase inhibition, and cancer. *Journal of Anti-Aging Medicine*. 2003;6:315-22.
15. Meyerson M. Role of telomerase in normal and cancer cells. *Journal of Clinical Oncology*. 2000;18:2626-34.
16. Blackburn EH. Switching and signaling at the telomere. *Cell*. 2001;106:661-73.
17. Elenitoba-Johnson KSJ. Complex regulation of telomerase activity implications for cancer therapy. *The American Journal of Pathology*. 2001;159:2.405-10.
18. Gammaitoni L, Weisel KC, Gunetti M *et al*. Elevated telomerase activity and minimal telomere loss in cord blood long-term cultures with extensive stem cell replication. *Blood Journal*. 2004;103:4440-8.
19. Notaro R, Cimmino A, Tabarini D *et al*. In vivo telomere dynamics of human hematopoietic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997;94:13782-5.
20. Vaziri H, Dragowska W, Allsopp RC *et al*. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994;91:9857-60.
21. Akiyama M, Hoshi Y, Sakurai S *et al*. Changes of telomere length in children after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1998;21:167-71.
22. Rufer N, Brümmendorf TH, Chapuis B *et al*. Accelerated telomere shortening in hematological lineages is limited to the first year following stem cell transplantation. *Journal Blood*. 2001;97:575-7.
23. Roelofs H, de Pauw ES, Zwinderman AH *et al*. Homeostasis of telomere length rather than telomere shortening after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Blood Journal*. 2003;101:358-62.
24. Moore MAS. Umbilical cord blood: an expandable resource. *The Journal of Clinical Investigation*. 2000;105:855-7.
25. Grewal SS, Barker JN, Davies SM *et al*. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood Journal*. 2003;101:4233-44.
26. Jaroscak J, Goltry K, Smith A *et al*. Augmentation of umbilical cord blood (UCB) transplantation with ex vivo-expanded UCB cells: results of a phase I trial using the Aastrom Replicell System. *Blood Journal*. 2003;101:5061-7.
27. Ju Z, Rudolph KL. Telomeres and telomerase in cancer stem cells. *European Journal of Cancer*. 2006;42:1197-203.
28. Blasco MA. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nature Reviews Genetics*. 2005;6:611-22.
29. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR *et al*. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*. 1994;266:2011-5.
30. González-Suárez E, Samper E, Flores JM *et al*. Telomerase-deficient mice with short telomeres are resistant to skin tumorigenesis. *Nature Genetics*. 2000;26:114-7.
31. Passegue E, Jamieson CHM, Ailles LE *et al*. Normal and leukemic hematopoiesis: Are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100:11842-9.
32. Ziffle VJAG, Baerlocher GM, Lansdorp PM. Telomere length in subpopulations of human hematopoietic cells. *Stem Cells*. 2003;21:654-60.
33. Meyerson M, Counter CM, Eaton EN *et al*. hEST2, the putative human telomerase catalytic subunit gene, is up-regulated in tumor cells and during immortalization. *Cell*. 1997;90:785-95.
34. Flores I, Benett, R, Blasco MA. Telomerase regulation and stem cell behaviour. *Current Opinion in Cell Biology*. 2006;18:254-60.
35. Crowe DL, Nguyen DC, Tsang KJ *et al*. E2F-1 represses transcription of the human telomerase reverse transcriptase gene. *Nucleic Acids Research*. 2001;29:2789-94.
36. Won J, Yim J, Kim TK. Opposing regulatory roles of E2F in human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene expression in human tumor and normal somatic cells. *The FASEB Journal*. 2002;16:1943-5.

Avaliação: Editor e dois revisores externos
 Conflito de interesse: não declarado

Recebido: 31/10/2006
 Aceito: 16/04/2007