

Vida científica

COLABORACIONES EN QUÍMICA

TELÓMEROS Y TELOMERASA

Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider y Jack W. Szostak han recibido el centésimo Premio Nobel por “*su descubrimiento de cómo los cromosomas están protegidos por los telómeros y la telomerasa*”¹. El 10 de diciembre de 2009 se hicieron efectivos los Premios Nobel 2009 en la Sala de Conciertos de Estocolmo. El rey Carlos Gustavo de Suecia presidió la ceremonia de su entrega a los grandes intelectuales de Física, Química, Medicina, Economía y Literatura, recordando el aniversario de la muerte de su fundador, el industrial sueco Alfred Nobel, inventor de la dinamita.

Los telómeros (del griego ‘telos’, final; y ‘meros’, parte) son estructuras situadas en el extremo de los cromosomas cuya misión es proporcionarles protección y estabilidad. A medida que las células se dividen, los telómeros se acortan y este acortamiento se contrarresta mediante la acción de la telomerasa. El Instituto Karolinska ha destacado los descubrimientos de estos investigadores que han añadido una nueva dimensión al conocimiento de la célula, han arrojado luz sobre los mecanismos de enfermedades y han estimulado el desarrollo de nuevas terapias.

Se da la circunstancia de que los científicos que descubrieron la existencia de los telómeros allá por los años 30, Hermann J. Muller y Barbara McClintock, también re-

cibieron el Premio Nobel, aunque por descubrimientos diferentes. Varias décadas después, Elizabeth H. Blackburn y Carol W. Greider descubrieron la telomerasa. A partir de ese hallazgo, Jack W. Szostak identificó mutaciones en células de levadura que provocaban la reducción gradual de los telómeros, mientras que Blackburn hizo mutaciones en el RNA de la telomerasa y observó efectos similares en el protozoo ciliado *Tetrahymena* (Figura 1).

Elizabeth Blackburn comparte el galardón y el premio con sus dos colaboradores. Sus estudios son de gran utilidad a la hora de encontrar nuevas terapias para el cáncer o de comprender mejor la forma en que pueden funcionar las células madre. Pero, sin duda, el más importante avance derivado de estos descubrimientos se relaciona con el envejecimiento. Blackburn ha descubierto, entre otras cosas, que la edad y el estrés contribuyen a que los telómeros se acorten. Esto produce una degeneración celular que, además de los achaques propios de la edad, determinará el momento de la muerte. Conocer la forma en que funciona este mecanismo hace posible vislumbrar algún tratamiento que evite el deterioro irreversible que acompaña a la vejez.

TELÓMEROS Y TELOMERASA

Los telómeros son complejos especializados de DNA-proteína que se encuentran en los extremos de los cromosomas lineales y los protege de la degradación y pér-



Elizabeth H. Blackburn.



Carol W. Greider.



Jack W. Szostak.

¹ Los interesados en más detalles sobre el Premio Nobel de Medicina y Fisiología 2009 pueden descargarse la colaboración de la Prof.^a Teresa Claramunt Vallespi en esta misma sección de la revista (pág. 113).

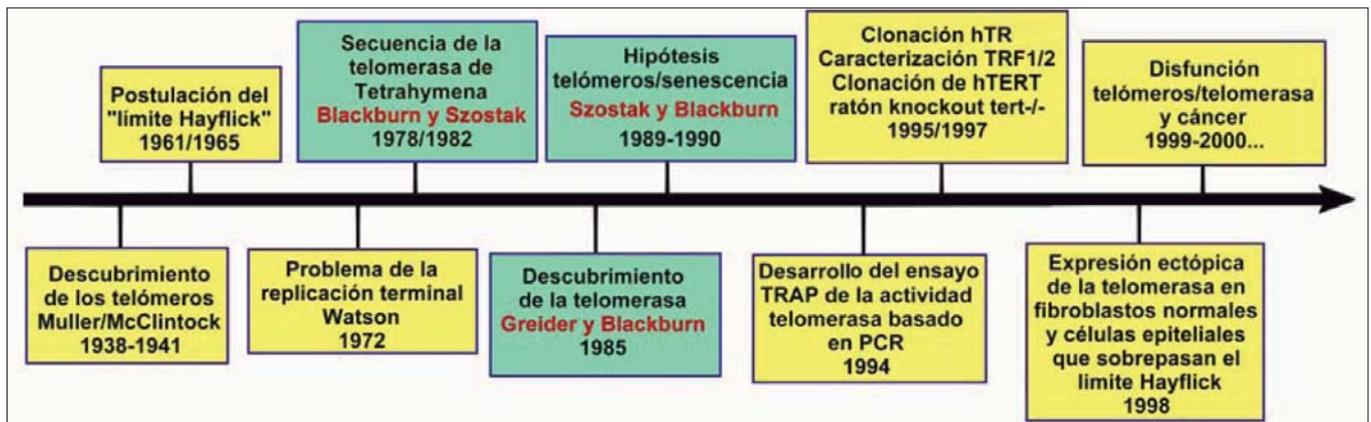


Figura 1. Cronología de los descubrimientos de telómeros y la telomerasa.

didada de genes esenciales. Consisten en repeticiones de nucleótidos en número variable, unidas a un complejo multiproteico denominado shelterina/telosoma. La replicación de los telómeros presenta un dilema especial “el problema de la replicación terminal”, que se debe a que el mecanismo de replicación del DNA en los cromosomas lineales es diferente para cada una de las cadenas de DNA y es esto lo que ocasiona el acortamiento telomérico. Durante la división celular, los telómeros de las células somáticas normales no pueden replicarse en su totalidad por el complejo convencional DNA polimerasa y esto se debe a la diferencia en la replicación de las dos cadenas del DNA. Para solucionar este problema la mayoría de las células eucariotas utilizan la telomerasa, una ribonucleoproteína retrotranscriptasa que actúa alargando los extremos de los cromosomas con una secuencia telomérica específica, utilizando como molde una porción de su propio componente integral RNA. El mantenimiento de la longitud de los telómeros supone un problema en el mecanismo de replicación celular, porque la síntesis de la cadena conductora de la célula hija llega hasta el final del extremo 5' de la cadena del DNA de la célula madre, mientras que la síntesis de la cadena rezagada, al ser discontinua, no puede replicarse hasta el final (Figura 2).

En la mayoría de las células somáticas derivadas de tejidos normales, la pérdida de la capacidad replicativa, que conlleva a la *senescencia celular*, se debe al acortamiento de los telómeros asociado con la ausencia de actividad telomerasa. Son numerosas las alteraciones en la expresión genética que afectan la diferente capacidad de las células para dividirse y que se encuentran implicadas en los mecanismos que conducen tanto al envejecimiento como al cáncer. A nivel celular, la senescencia celular se ha utilizado como modelo de envejecimiento,

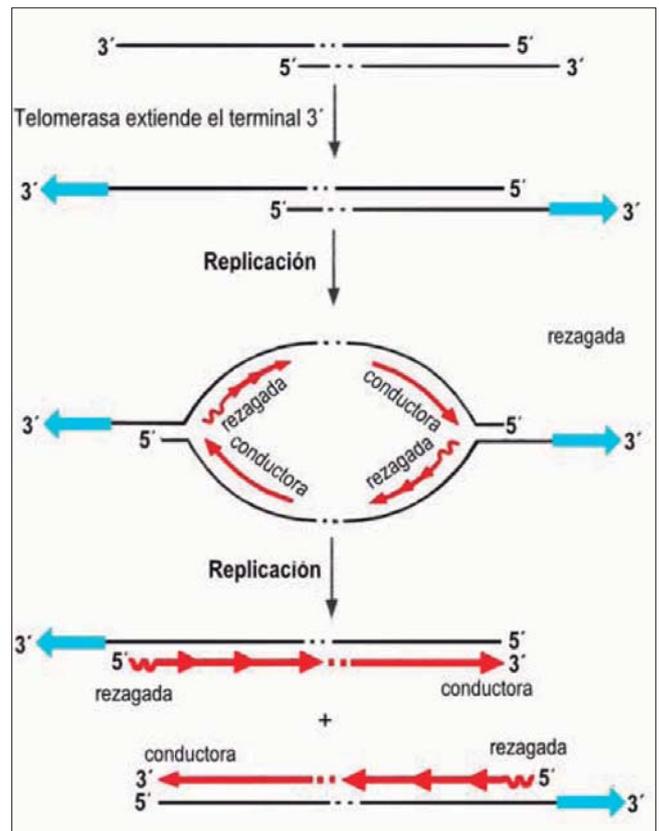


Figura 2. Problema de la replicación terminal.

por lo tanto, su conocimiento tiene importantes implicaciones en la salud. Las observaciones iniciales sugirieron que la senescencia celular era debida al acortamiento de los telómeros, pero hallazgos más recientes han llegado a considerar que está desencadenada por lesión al DNA. De hecho, tanto el acortamiento de los telómeros como la lesión al DNA comparten un mecanismo común y es la vía de respuesta al daño al DNA.

Las repeticiones teloméricas perdidas se regeneran por una transcriptasa inversa denominada telomerasa (TERT, *telomerase reverse transcriptase*). TERT reco-

noce el terminal 3' en el extremo de los cromosomas y añade repeticiones TTAGGG sintetizadas *de novo* utilizando RNA como molde (TERC, *telomerase RNA component*). Mientras que los eucariotas unicelulares tienen cantidades ilimitadas de telomerasa y mantienen los telómeros en una longitud constante, la mayoría de los organismos multicelulares poseen cantidades limitadas de telomerasa y el acortamiento de los telómeros se verifica acoplado a la división celular, debido a la incapacidad de las DNA polimerasas normales de copiar los extremos terminales de los cromosomas. El acortamiento de los telómeros se observa en todos los tejidos humanos a medida que se envejece. Esto refleja el acumulo de divisiones celulares asociado a la renovación tisular. La pérdida progresiva de los telómeros es uno de los mecanismos que impone un límite al crecimiento de células normales en cultivo, fenómeno que se denomina *senescencia replicativa*. Una serie de patologías relacionadas con el envejecimiento y con síndromes de vejez prematura se caracterizan por un acortamiento rápido de los telómeros. Resultados obtenidos a partir del modelo de ratón deficiente en el gen *Terc* muestran una pérdida telomérica acelerada que se asocia con una expectativa de vida más corta, que se agrava en sucesivas generaciones hasta que la infertilidad de los machos no permite más generaciones.

El interés por los telómeros, relativo a los procesos de senescencia e inmortalidad, se basa en que la primera supone la *pérdida* de la capacidad replicativa celular, mientras que la segunda supone la *ganancia* de un potencial replicativo ilimitado. La importancia de la relación entre ambas, senescencia e inmortalidad, se encuentra reforzada por el hecho de que una elevada proporción de células tumorales expresan actividad telomerasa, mientras que la mayor parte de células somáticas normales muestran una ausencia casi total de esta actividad. El que la actividad telomerasa se considere una de las características de las células tumorales, hace de este enzima un potencial objetivo terapéutico y de diagnóstico.

ESTRUCTURA DE LOS TELÓMEROS

Los telómeros de eucariotas son secuencias hexaméricas repetidas de DNA, potencialmente expansibles y no codificables. Aparecen en el extremo de los cromosomas lineales y son esenciales para el man-

tenimiento de la estabilidad cromosómica. Los telómeros van unidos al complejo multiproteico *shelterina/telosoma*, que ejerce un papel fundamental en la regulación de la longitud telomérica y en su protección. Los telómeros consisten en secuencias repetitivas ricas en guanina (G) que se desarrollan en dirección 5'→3', con la cadena complementaria, rica en citidina (C). Las secuencias teloméricas pueden variar entre las especies, pero cada organismo posee la misma secuencia en todos sus telómeros. En humanos y en ratón dicha secuencia es TTAGGG. En el momento del nacimiento, los telómeros de las células somáticas humanas contienen unas 15 kb (kilobases) del fragmento TTAGGG y los ratones tienen de 25 a 40 kb. En ausencia de telomerasa, en cada división celular se pierden un promedio de 25 a 200 bases de los extremos teloméricos. Cuando este acortamiento ocurre entre 80 a 100 veces, la célula deja de dividirse, envejece y muere.

Los telómeros humanos poseen longitud variable según las diferentes células; así, la de las células germinales fluctúa entre 10 y 15 kb, mientras que la de los leucocitos de sangre periférica, entre 5 y 12 kb. Los telómeros de los vertebrados terminan en una cadena 3' rica en guanina (G) que sobresale, que se genera en el proceso post-replicativo de la cadena rica en citosina, que es el sustrato para la elongación telomérica mediada por la telomerasa (Figura 3). La cadena G sobresaliente puede doblarse e invadir la región de doble cadena del telómero y generar una estructura de bucle conocida como bucle-T (*T-loop*), que esconde el extremo 3', a modo de mecanismo primitivo para protección del telómero.

Las repeticiones teloméricas están unidas al complejo shelterina (Figura 3) que contiene una serie de factores. De éstos, unos se unen directamente a la cadena G sencilla que sobresale, como el heterodímero de protección de los telómeros Pot1/TTP, y otros se unen a la región telomérica de doble cadena, como los factores de unión a las repeticiones teloméricas TRF1 y TRF2 que interactúan con Rap1 (proteína represora activadora 1) y Tin2 (proteína 2 nuclear que interactúa con TRF1). El TRF1 también reúne en los telómeros las poli(ADP)-ribosilasas TANK1 y TANK2 o tanquirasas. Se ha propuesto que las TRF1 y las proteínas que interactúan con TRF1 regulan la longitud telomérica mediante el control del acceso de la telomerasa al telómero. TRF2 y Pot1 intervienen en la regulación de la longitud del telómero y tienen papeles adicionales de

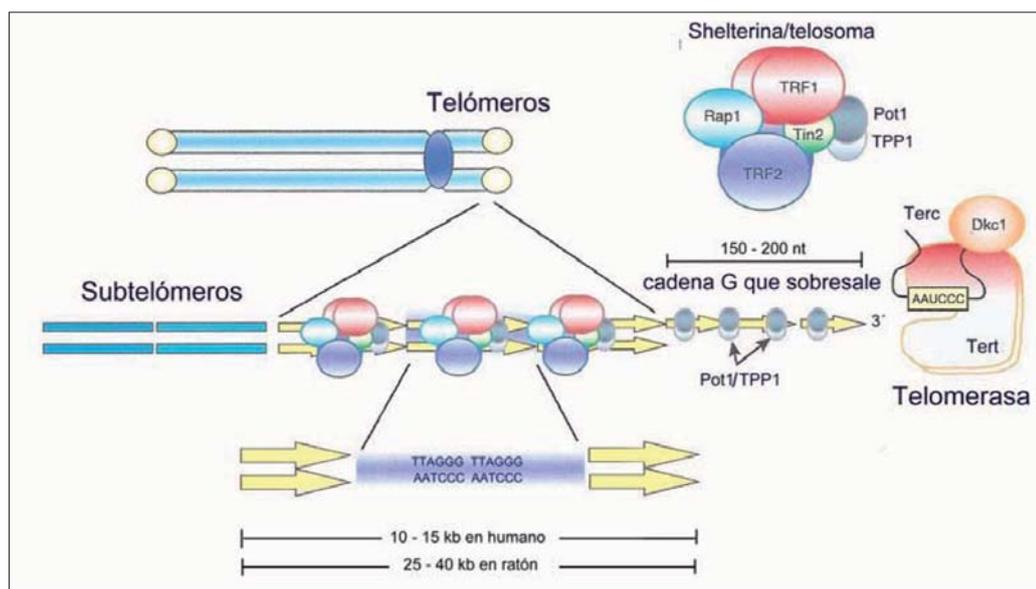


Figura 3. Estructura de los telómeros. Los telómeros de mamíferos consisten en repeticiones de la secuencia de nucleótidos TTAGGG que está unida al complejo proteico shelterina/telosoma. Adyacentes a los telómeros están las regiones subteloméricas, que son también ricas en DNA repetitivo [Blasco (2007a)].

protección, porque previenen las fusiones entre los extremos cromosómicos. El papel del TRF2 en la protección del telómero puede relacionarse con la señalización del daño al DNA y factores de reparación.

REGULACIÓN EPIGENÉTICA DE LOS TELÓMEROS

Además del complejo shelterina, los telómeros y subtelómeros están también unidos a nucleosomas enriquecidos en modificaciones en las histonas, características de dominios constitutivos de la heterocromatina. Estas modificaciones son la trimetilación de la histona H3 en la lisina 9 (H3K9) y la de la histona H4 en la lisina 20 (H4K20), y están catalizadas por las histona-metiltransferasas. Las proteínas heterocromatínicas HP1 α y HP1 β se unen a los dominios teloméricos y subteloméricos debido a su afinidad por residuos trimetilados de H3K9 (Figura 3).

Un aspecto importante de la regulación y funcionamiento de los telómeros y de las regiones subteloméricas es su estructura cromatínica. La cromatina telomérica en humanos contiene nucleosomas que muestran un espacio débilmente alterado comparado con la cromatina no telomérica. Estudios recientes han demostrado que la cromatina telomérica y subtelomérica del ratón contienen modificaciones en las histonas, típicas de la heterocromatina, y que el DNA subtelomérico puede metilarse. Alteraciones en las modificaciones de las histonas

en la cromatina telomérica o en la metilación del DNA en regiones subteloméricas se relacionan con la longitud de los telómeros, lo que sugiere la existencia de una estructura de mayor orden en los telómeros, que está regulada epigenéticamente y que es importante para el control de su longitud.

La cromatina de los telómeros, como presenta características similares a la de la heterocromatina de las regiones pericentroméricas, tiene la capacidad de silenciar genes

cercanos. Este fenómeno se conoce como *efecto de posición telomérica*. En células humanas este efecto está influenciado por la longitud telomérica e implica la hipacetilación de las histonas y puede alterarse por tratamiento con inhibidores de la desacetilasa SIRT. Los telómeros y subtelómeros de mamíferos también tienen similitudes con regiones pericentroméricas en términos de composición de la secuencia y contenido en genes. Ambos, telómeros y subtelómeros, se caracterizan por un elevado contenido en repeticiones de DNA y aunque los telómeros no contienen genes, los subtelómeros y las regiones pericentroméricas son pobres en genes. Sin embargo, al contrario que en levadura, donde sólo las repeticiones subteloméricas contienen nucleosomas, en humanos, tanto los telómeros como los subtelómeros, los contienen.

Como consecuencia de las observaciones del efecto de posición telomérica en mamíferos, muchas marcas, que generalmente se encuentran en la heterocromatina, pueden encontrarse en los telómeros. En particular, al igual que en las regiones pericentroméricas, la trimetilación de H3K9 y de H4K20 se han identificado en los dominios teloméricos y subteloméricos. En el caso de H3K9, las metil-transferasas responsables de la trimetilación son las SUV3-9H1 y SUV3-9H2, mientras que la trimetilación de la H4K20 se realiza por las SUV4-20H1 y SUV4-20H2 (Figura 4). Las proteínas de la familia del retinoblastoma supresora de tumores Rb 107 y 130 interaccionan con SUV4-20H1 y SUV4-20H2 para mantener

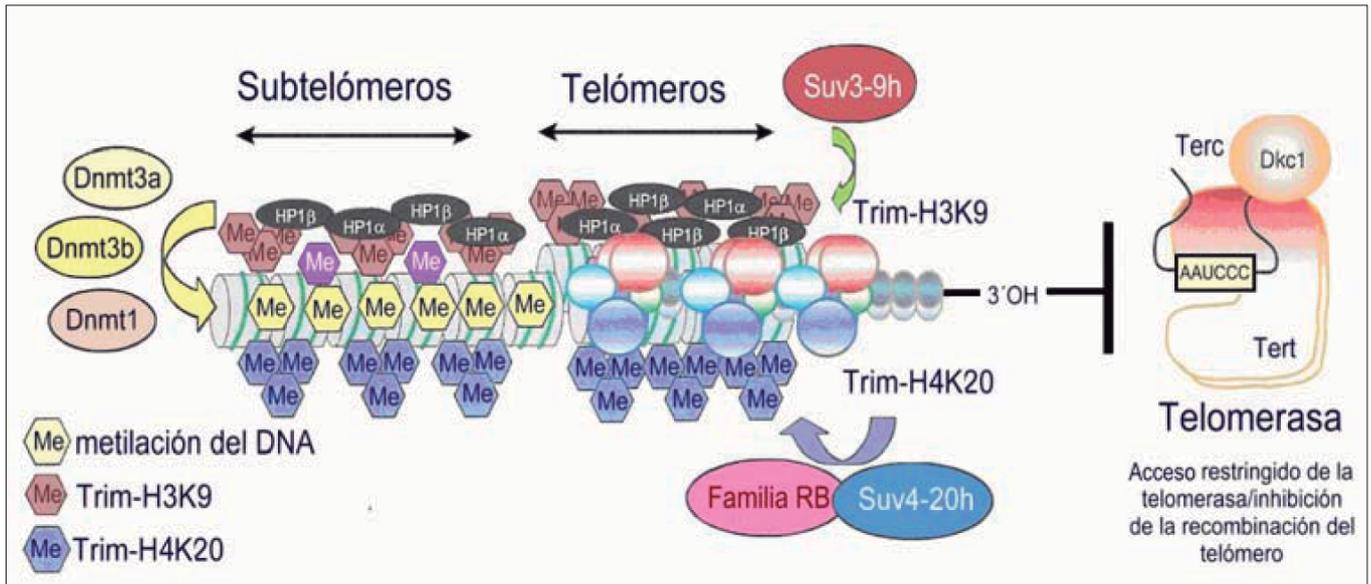


Figura 4. Los telómeros de mamíferos contienen nucleosomas que muestran modificaciones en las histonas que son características de los dominios de heterocromatina. El DNA subtelo mérico está fuertemente metilado. Estas modificaciones en la cromatina en los telómeros y subtelo méricos regulan negativamente la longitud telomérica y la recombinación de los telómeros. TriM, trimetil; Dnmt, DNA metiltransferasas [Blasco (2007a)].

la trimetilación de H4K20 en la cromatina telomérica y pericentromérica. Los telómeros humanos y murinos se encuentran también enriquecidos en HP1 (isoformas de proteínas de la hetero-cromatina). Además, las repeticiones teloméricas y subtelo méricas de mamíferos se caracterizan por bajos niveles de H3 y H4 acetiladas. Las observaciones que indican que el efecto de la posición telomérica humana se revierte cuando TRF1 se sobre-expresa y aumenta cuando los telómeros se alargan, sugieren que los componentes del complejo shelterina pueden afectar el *status* epigenético de los telómeros por su capacidad de regular su longitud.

Las alteraciones en la metilación del DNA y en la modificación de las histonas son comunes en cáncer humano. Dado que la estructura de la cromatina afecta la regulación de los telómeros, estos cambios epigenéticos pueden establecer una conexión importante entre la alteración de los telómeros y el desarrollo del cáncer. En particular, en tumores que muestran hipometilación en el DNA o menor trimetilación en las histonas H3K9 y H4K20 de regiones teloméricas, se favorece la activación de los mecanismos de elongación de telómeros (telomerasa o ALT), lo cual, a su vez, puede sostener el crecimiento tumoral en ausencia de telomerasa. Defectos en la metilación del DNA se han asociado a otras enfermedades.

El hallazgo de que los cambios epigenéticos en la cromatina telomérica y subtelo mérica se asocian con

telómeros muy cortos, sugiere que el acortamiento telomérico en las patologías relacionadas con la edad puede ser el resultado de defectos epigenéticos en los telómeros. Esto puede favorecer el desarrollo del cáncer por activación del mantenimiento de los telómeros por mecanismos tales como telomerasa o ALT. Finalmente, un número de factores ambientales (tabaco, obesidad, estrés), acelera la tasa de acortamiento de los telómeros y puede ejercer impactos en la modificación de la cromatina en los telómeros y en la expresión de genes subtelo méricos.

ALARGAMIENTO DE LOS TELÓMEROS

El principal mecanismo encargado de la elongación de los telómeros en mamíferos es la telomerasa (Figura 5). La composición proteica de la telomerasa contiene dos subunidades, la retrotranscriptasa (TERT) y la molécula de RNA asociada (TERC), y también una molécula de disquerina (Dkc1), proteína que estabiliza el complejo telomerasa. La pérdida de DNA telomérico durante el envejecimiento es probable que sea el resultado de cantidades limitantes de actividad telomerasa en el organismo adulto, incapaces de compensar el progresivo acortamiento de los telómeros que ocurre durante la proliferación celular implicada en la regeneración tisular. Esta pérdida progresiva de telómeros contribuye al envejecimiento del organismo. Por otro

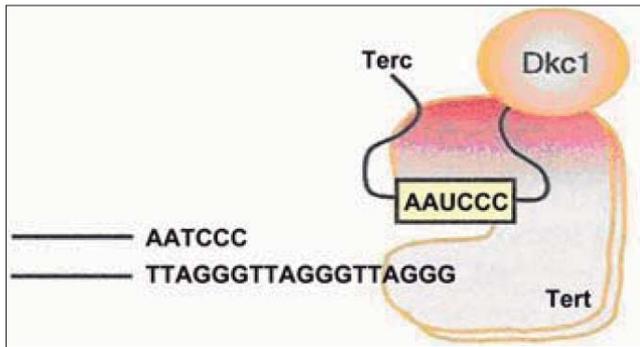


Figura 5. Elongación de los telómeros por la telomerasa. La telomerasa consiste en dos moléculas de la subunidad Tert y dos moléculas de la subunidad Terc que contiene el molde AAUCCC y se asocia a una molécula de disquerina (Dkc1), proteína que estabiliza el complejo. La telomerasa reconoce el terminal 3' de la cadena telomérica rica en G y añade repeticiones teloméricas de novo [Blasco (2007a)].

lado, la gran mayoría de los tumores y líneas celulares inmortales poseen elevados niveles de telomerasa, la cual sostiene el crecimiento tumoral previniendo la pérdida de telómeros y evadiendo la senescencia y la apoptosis.

Algunas líneas celulares inmortales y tumores que carecen de actividad telomerasa son capaces de mantener o alargar sus telómeros mediante mecanismos que se conocen como alargamiento alternativo de los telómeros (ALT), mecanismo no dependiente de la telomerasa, activado en una minoría sustancial de líneas celulares inmortales para contrarrestar la erosión telomérica en los sucesivos ciclos de división celular.

En levadura y en mamíferos se ha demostrado que ALT implica eventos de recombinación homóloga entre secuencias teloméricas (Figura 6). Las células ALT-positivas se caracterizan por telómeros heterogéneos, muy cortos o

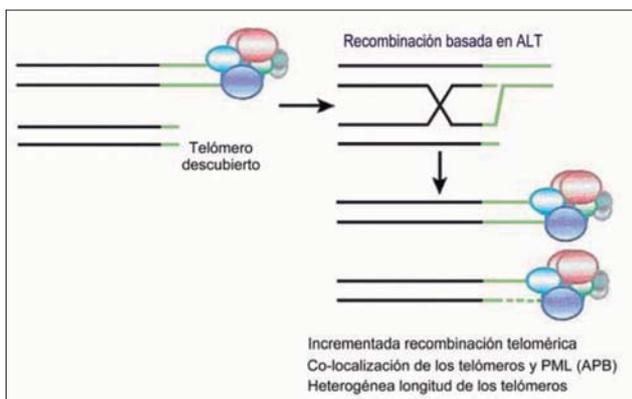


Figura 6. Las células deficientes en telomerasa pueden también mantener sus telómeros mediante recombinación homóloga entre los mismos, un mecanismo conocido como alargamiento alternativo de los telómeros (ALT) [Blasco (2007a)].

muy largos al mismo tiempo, y por la localización de los telómeros con cuerpos PML (cuerpos nucleares de la leucemia promielocítica), denominados cuerpos asociados a ALT (APB). Los APB son agregados nucleares donde el DNA telomérico se localiza con la proteína PML y la presencia de telómeros altamente heterogéneos en longitud, que oscila entre muy cortos y hasta superar las 50 kb.

La dinámica de la longitud telomérica de las células inmortalizadas telomerasa negativas sugiere que este mecanismo se basa en la recombinación. Así, los telómeros sufren grandes fluctuaciones en su longitud durante los ciclos celulares, con rápidos acortamientos y rápidos alargamientos. Las células ALT son capaces de elongar sus telómeros usando como molde secuencias teloméricas de otros cromosomas, proceso que puede ocurrir en cualquier lugar del telómero. Otras fuentes de DNA telomérico pueden utilizarse como moldes para la elongación de los telómeros. Los telómeros están organizados en una estructura de *T-loop* donde la cadena sencilla sobresaliente se dobla e invade el tracto de DNA telomérico de doble cadena y sintetiza la cadena complementaria. Otra fuente son las repeticiones teloméricas extracromosómicas, abundantes en las células ALT, organizadas en formas lineales, circulares y de *T-loop* y están parcialmente contenidas dentro de los APB. El DNA telomérico lineal asociado al APB, no es probable que sea la fuente principal del molde para la replicación, porque es muy corto y no serviría para los eventos rápidos de elongación de telómeros observados en células ALT. Trabajos recientes de Muntoni *et al.* han demostrado que los telómeros pueden ser amplificados sin la intervención de otros telómeros, lo que indica que la elongación telomérica puede también realizarse por copia del DNA intragenómico y prueba que el mecanismo ALT implica más de un método de elongación telomérica.

El mantenimiento de los telómeros por mecanismos no telomerasa, entre los que se incluye la recombinación, ocurre en células primarias y se inicia por los telómeros cortos, incluso en presencia de telomerasa. Resultados recientes de Morrish y Greider (2009) indican además que existe algún mecanismo de mantenimiento de los telómeros que no produce incremento significativo en la longitud telomérica.

Los mecanismos ALT están también activados en ratones deficientes en *Terc*, en fibroblastos embrionarios y en células madre embrionarias y durante la formación del centro germinal, lo que indica que los mecanismos ALT pueden seleccionarse también en ambientes no tu-

de los telómeros, se vuelven inestables y es cuando la célula ha de morir. La reactivación de la actividad telomerasa estabiliza el acortamiento de los telómeros, la célula escapa de M2 y entra en la inmortalidad celular y de ahí al cáncer.

El acortamiento telomérico es motivo suficiente para que la célula emita señales de lesión del DNA que actúen induciendo mecanismos que previenen la proliferación. Se ha observado que la pérdida de un simple telómero en *S. cerevisiae* causa la parada del ciclo celular. Las proteínas p53, Rb, p21 se encuentran implicadas en la respuesta a la lesión del DNA que controla la progresión del ciclo celular. La expresión de p53 se induce inmediatamente cuando se pierden los telómeros, ya que el acortamiento telomérico hace sentir que existe lesión del DNA en su doble cadena. Esta proteína, la p53, induce la expresión de otras proteínas que poseen capacidad para unirse al antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), e inhibir directamente al complejo de replicación del DNA y la actividad de las quinasas dependientes de ciclina. Además, la fosforilación de factores, como la proteína Rb, por las mencionadas quinasas, es uno de los requerimientos para la progresión del ciclo celular.

Se considera, por lo tanto, que la replicación incompleta de los extremos de los cromosomas es la causa de la pérdida gradual del potencial proliferativo en la senescencia replicativa. La primera evidencia que asocia los telómeros con la senescencia celular fue obtenida en 1997 por Harley *et al.*, cuando analizando fibroblastos humanos en cultivo observaron que la longitud media de los fragmentos terminales de restricción decrecía de una manera dependiente de la replicación. Esta disminución se relacionaba también con la senescencia *in vivo*, ya que, tanto en fibroblastos como en linfocitos de sangre periférica, la longitud de estos fragmentos en donantes viejos era más corta que en los donantes más jóvenes. Por el contrario, la longitud de los telómeros no decrecía en células inmortalizadas *in vitro*, en células tumorales o en células germinales, que expresaban la telomerasa. Tales hallazgos han llegado a proponer que durante las sucesivas rondas de replicación del DNA, la pérdida progresiva de las secuencias teloméricas que ocurre en células normales somáticas llega a un acortamiento crítico percibido como lesión en el DNA que obliga a las células a salir del ciclo celular.

Aunque la hipótesis del envejecimiento relacionada con la longitud de los telómeros es atractiva porque proporciona el mecanismo molecular que contabiliza el

número de divisiones celulares en las células somáticas normales, estudios recientes han revelado una panorámica más compleja. Se han identificado líneas celulares inmortales telomerasa-negativas y también se ha detectado que el tratamiento de líneas humanas de linfocitos B y T inmortales con inhibidores de la telomerasa con ningún efecto sobre el fenotipo inmortal. Por otro lado, se ha observado que algunas células somáticas normales poseen actividad telomerasa, aunque sus telómeros continúan acortándose con cada ronda de replicación. La actividad telomerasa en varias células somáticas híbridas no se relaciona con su capacidad para sufrir la senescencia o continuar proliferando, lo que demuestra que algunos híbridos senescentes continúan expresando telomerasa. Estos datos sugieren que la actividad telomerasa por sí misma no mantiene la longitud de los telómeros e indican la existencia de mecanismos alternativos que alargan los telómeros (ALT) estabilizadores de los extremos de los cromosomas, independientes de la telomerasa. Existen observaciones adicionales no reconciliadas con la hipótesis de los telómeros, debido a que se ha comprobado que dos células hijas pueden poseer potencial proliferativo muy diferente, hasta en 30 duplicaciones, y también se ha detectado que con una serie de manipulaciones experimentales se puede incrementar significativamente el período vital de fibroblastos humanos.

ENVEJECIMIENTO Y CÁNCER

Hasta hace muy poco se ha considerado que cáncer y envejecimiento eran dos campos completamente separados, con una sola conexión y es que la incidencia del cáncer crece a medida que transcurre la edad. Sin embargo, esta idea está experimentando cambios y hoy se puede decir que envejecimiento y cáncer son dos caras de una misma moneda. En una reciente revisión de Serrano y Blasco se discuten los mecanismos convergentes y divergentes que gobiernan el envejecimiento y el cáncer. El envejecimiento es un fenómeno complejo, regulado a nivel genético, en el que se encuentran implicados un gran número de procesos moleculares y fisiológicos. El cáncer es también un proceso complejo y, al igual que el envejecimiento, no es posible encontrar un mecanismo simple que explique todos los cambios bioquímicos que ocurren durante su desarrollo. El mayor logro ha sido la hipótesis unificada del origen genético de la mayoría de cánceres, ya que hoy no se

duda de que la mayoría de ellos surge por mutaciones en múltiples genes que afectan al crecimiento normal de una célula. Envejecimiento y cáncer están desencadenados por acumulo de daño celular, de manera que aquellos mecanismos que protegen a la célula de sufrir ese daño, proporcionan protección contra el cáncer y contra el envejecimiento. A la vez, cáncer y longevidad requieren un potencial proliferativo celular. Sin embargo, aquellos mecanismos que limitan la proliferación proporcionan protección frente al cáncer, pero favorecen el envejecimiento.

Al enfrentar los conceptos senescencia y cáncer surge la siguiente pregunta: ¿Puede la senescencia celular proteger contra el cáncer? El cáncer es una enfermedad cuya principal característica es la proliferación celular incontrolada y cualquier mecanismo que pueda frenar este proceso puede, potencialmente, interrumpir su progresión. La inducción natural de la senescencia, mediada por el acortamiento de los telómeros, puede ser un mecanismo ideado a lo largo de la evolución para prevenir el cáncer en especies de larga vida. Sin embargo, el cáncer surge por evasión de los controles senescentes mediante el acumulo de mutaciones que afectan a los genes supresores, que son la clave del control del crecimiento.

Existe un consenso general que el acumulo de lesión celular es el evento inicial del envejecimiento y el cáncer. El cáncer se desarrolla cuando se acumulan daños genéticos y epigenéticos. De igual manera, el envejecimiento ocurre debido al acumulo de lesiones en las macromoléculas, lo cual conduce a una alteración en la regeneración tisular. Así que aquellos mecanismos que protegen las células de sufrir lesión protegen del cáncer y del envejecimiento. Otros mecanismos tienen efectos opuestos sobre cáncer y envejecimiento, protegiendo del cáncer, pero promoviendo el envejecimiento. Entre éstos están el acortamiento telomérico y la desrepresión del *locus* INK4a/ARF, cuyo propósito es prevenir la excesiva proliferación celular, lo cual produce efectos contrarios en cáncer y en envejecimiento. Mientras la protección frente al cáncer produce un efecto beneficioso para el organismo, la longevidad y la regeneración resultan limitadas. Estos mecanismos divergentes están diseñados para prevenir del cáncer no para promover el envejecimiento.

Se ha propuesto que la senescencia celular se controla por una familia de genes que se activan al final de la vida proliferativa y conducen al estado senescente. La inmortalidad sólo ocurre cuando los genes senescentes

acumulan defectos y pierden su operatividad, lo cual permitirá a la célula escapar del programa de la senescencia. La telomerasa se re-expresa en la mayoría de los tumores y líneas celulares inmortalizadas, mientras que en la mayoría de células normales somáticas no posee actividad porque existe un mecanismo genético represor de la actividad telomerasa. Las células tumorales y las inmortales han perdido o inactivado el gen represor putativo.

La repercusión fisiológica de la senescencia celular es muy interesante ya que supone un mecanismo supresor de tumores al prevenir a la célula de la adquisición de mutaciones múltiples que la llevarían a la transformación maligna. Muchos tumores poseen células con un potencial indefinido de división de modo que el proceso tumorigénico selecciona a aquellas células que pueden total o parcialmente evadir la senescencia. Ciertos oncogenes (celulares o víricos) actúan ampliando el período de vida proliferativo. Por ello las mutaciones oncogénicas y las estrategias de los virus oncogénicos acarrear la activación de mecanismos que pueden evadir el estado senescente. Entre los genes necesarios para establecer y mantener la senescencia están los supresores *p53* y los del *locus* INK/ARF, que son los que se pierden más fácilmente o están reprimidos en la mayoría de tumores humanos. La supresión tumoral es el valor adaptable de la senescencia ya que cualquier proceso limitante del crecimiento puede suprimir la tumorigénesis.

La senescencia celular o replicativa es una parada irreversible de la proliferación unida a una alteración en la función celular, que se encuentra controlada por múltiples genes y no depende del tiempo sino del número de divisiones celulares. Las células al volverse senescentes adquieren tres características:

1. Frenan su crecimiento cuando se encuentran en la fase G1 del ciclo celular por pérdida de la capacidad de entrar en la fase S (síntesis del DNA) en respuesta a mitógenos, y poseen un contenido diploide de DNA. Permanecen metabólicamente activas y aunque muchos genes se mantienen todavía inducibles, existen represiones en genes reguladores clave del crecimiento o superexpresiones en genes tales como los que inhiben las quinasas dependientes de ciclina;
2. las células senescentes por su estado no proliferativo irreversible se asemejan a las células diferenciadas terminales, y

3. las células senescentes adquieren resistencia a la apoptosis y son bastante estables.

La conexión entre la senescencia replicativa, la inmortalización y el acortamiento de telómeros se encuentra en la actualidad sometida a una intensa investigación. No está claro el mecanismo que utiliza la célula para frenar la proliferación, una vez que la longitud de los telómeros ha alcanzado el estado M1 o límite Hayfick, como tampoco lo está cuando se activa la telomerasa en el momento crítico del estado M2, para que las células inmortales mantengan su longitud telomérica. La posibilidad de que la manipulación de la longitud de los telómeros pudiera alterar la entrada en el estado senescente y afectar las enfermedades degenerativas del

envejecimiento presenta un escenario atractivo en el que se necesita encontrar explicación al papel todavía misterioso de este fascinante elemento de los cromosomas.

TELOMERASA EN CÉLULAS MADRE

Las células madre adultas o somáticas son la fuente regeneradora de los distintos tejidos del organismo. Se ponen en acción cuando se produce un daño tisular y emigran desde sus nichos hasta el lugar que tienen que reparar o restaurar. Sin embargo, si se multiplican en exceso, o demasiado poco, pueden ser origen de cáncer o de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, respectivamente (Figura 8).

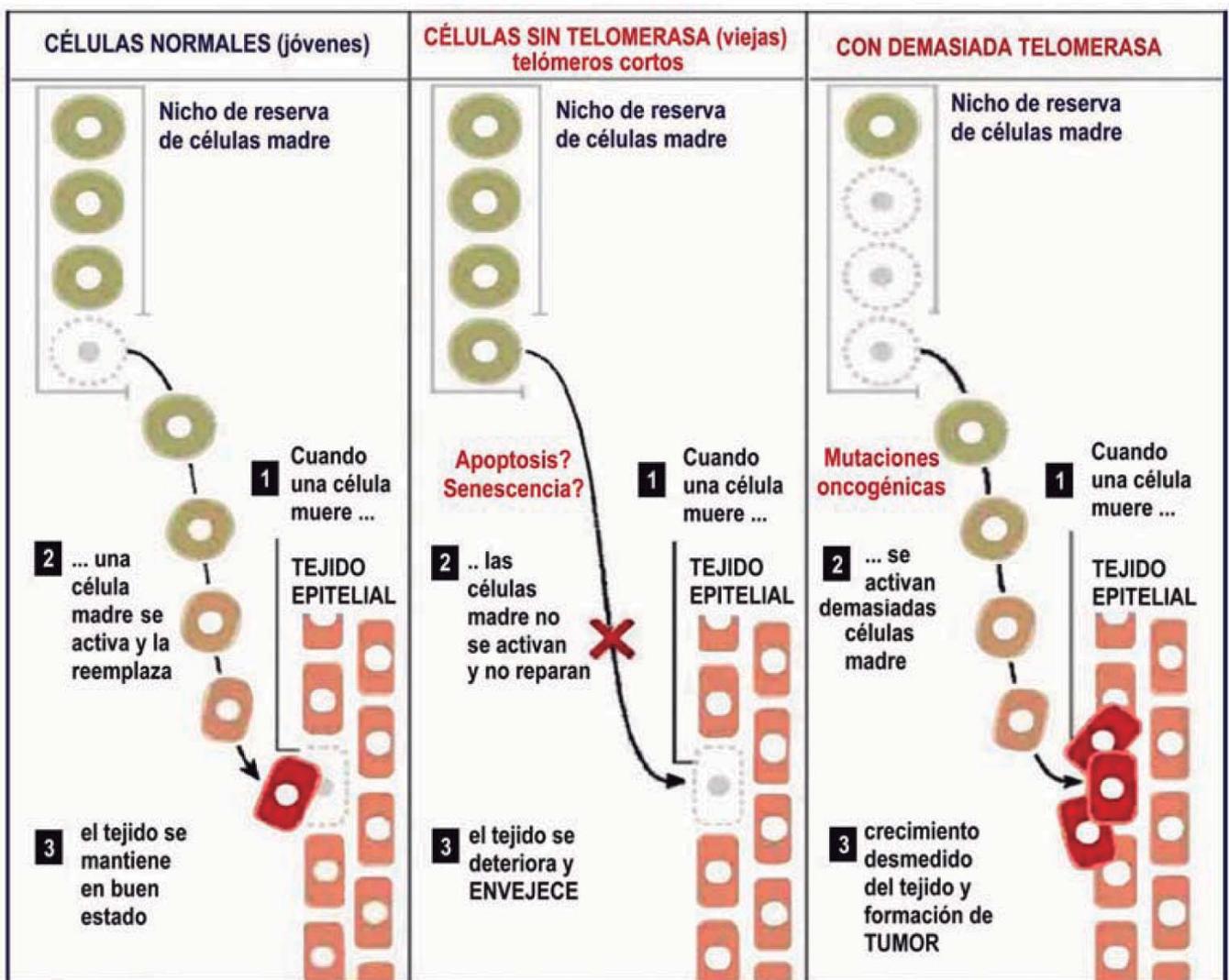


Figura 8. Papel de la telomerasa en el funcionamiento de las células madre que conduce al envejecimiento o al cáncer. El acortamiento de los telómeros, en células sin telomerasa, conduce a menor capacidad de las células madre a abandonar el nicho y regenerar los tejidos, con lo cual el tejido se deteriora y envejece. Los mecanismos que intervienen en esta menor movilización es probable que se deban a la senescencia y apoptosis en respuesta a los telómeros cortos. Por el contrario, la sobre-expresión de telomerasa conduce a la aberrante movilización de las células madre fuera del nicho, la cual, en combinación con mutaciones oncogénicas, puede contribuir a la formación de tumor [Blasco (2007b)].

Uno de los eventos intrínsecos más conocidos de la célula, propuesto por Harley *et al.* en 1990, que mejor describe el mecanismo implicado en el envejecimiento celular, es el acortamiento de los telómeros en cada ronda de división celular. El ritmo al cual los telómeros se acortan con la edad es muy variable y puede estar influenciado por factores que se aceleran por varias enfermedades humanas típicas de la vejez, tales como la enfermedad cardiovascular y la infección, entre otras. Existe una correlación entre la longitud de los telómeros y el riesgo de muerte por enfermedad cardíaca. También la longitud de los telómeros es un marcador predictivo de demencia o alteraciones cognitivas.

Recientemente se ha descubierto que el comportamiento de las células madre está determinado por sus telómeros y la cantidad de telomerasa que contienen. Los telómeros y la telomerasa son determinantes importantes de la mortalidad e inmortalidad celular y uno de los mecanismos mejor conocidos que controlan el cáncer y el envejecimiento. Mantener los extremos de los cromosomas en buen estado permite que las células madre funcionen eficazmente. Las células madre epiteliales cuando tienen telómeros muy cortos no abandonan sus nichos ni regeneran la piel y el pelo de manera adecuada, lo cual provoca el envejecimiento prematuro de la piel. Por el contrario, cuando la proteína encargada de alargar los telómeros, la telomerasa, se encuentra en exceso, lo que ocurre en más del 90% de los tumores, las células madre epiteliales abandonan en exceso sus nichos para regenerar los tejidos, con lo que la piel y el pelo crecen más de lo que es normal, provocando mayor susceptibilidad de formar tumores epiteliales (Figura 8). Estos descubrimientos indican que la longitud telomérica y la cantidad de telomerasa determinan el comportamiento de las células madre.

Los defectos en la longitud de los telómeros de las células madre preceden en el tiempo a la aparición de los primeros síntomas visibles de envejecimiento prematuro o cáncer. Por lo tanto, la medida de la longitud telomérica o de actividad de la telomerasa en células madre puede considerarse uno de los parámetros utilizables en el pronóstico. Las terapias que permitiesen controlar estas variables en las células madre podrían ser beneficiosas en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el envejecimiento y el cáncer. Desvelar los parámetros que determinan estos defectos es esencial para el establecimiento de posibles terapias celulares sin causar efectos secundarios indeseables. Tales defectos son: el acu-

mulo de errores en la maquinaria de replicación, cambios en la fluidez de la membrana, daños por la acción de las especies reactivas de oxígeno (ROS), aumento de los productos terminales de glicosilación avanzada, resistencia a la insulina, reducción de la longitud de los telómeros, autoinmunidad y apoptosis.

Las células madre expresan la telomerasa en contraste con la mayoría de las células somáticas. Sin embargo, en las células madre hematópoyéticas (HSC) la actividad telomerasa es baja, aunque suficiente como para mantener los telómeros durante el envejecimiento limitando su vida proliferativa. Por otro lado, en un modelo de trasplante seriado en ratón con sobre-expresión de telomerasa, las HSC de animales transgénicos y no transgénicos no pudieron ser trasplantados más de cuatro veces, lo que indica que otros mecanismos, que no son la telomerasa, limitan también la función de las células madre. Además, la disfunción de los telómeros altera también el nicho de las células madre. Utilizando ratones knockout en telomerasa (*Terc*^{-/-}), se ha demostrado que la carencia de telomerasa induce alteraciones en el microambiente de la médula ósea por disminuir el compartimento de las células del estroma y reducir la capacidad de las células de la médula ósea en su actividad de soporte de la hematopoyesis. La actividad de soporte hematopoyético depende de la edad y se relaciona con el progresivo acortamiento de telómeros en estas células estromales. Además, la disfunción de los telómeros altera la expresión de varias citoquinas en plasma de los ratones viejos *Terc*^{-/-}, antes citados. Estos datos proporcionan evidencia clara de que el acortamiento de los telómeros no es el único mecanismo intrínseco implicado en el envejecimiento celular de las HSC, aunque la pérdida de telómeros induce alteraciones asociadas a la edad en el ambiente de las células madre que puede alterar la función y el enraizamiento de las HSC en casos de trasplante.

Es en los últimos años cuando se ha empezado a estudiar el papel específico de la telomerasa en diferentes compartimentos de células madre en subtipos bien caracterizados, tales como las células madre hematópoyéticas (HSC), las células madre epidérmicas (ESC) y las células madre neurales (NSC). Las HSC derivadas de humanos y de ratón pierden el DNA telomérico con la edad, a pesar de poseer actividad telomerasa detectable. Este progresivo acortamiento telomérico actúa como una barrera del desarrollo para las HSC, las cuales pueden limitar la regeneración he-

matopoyética. En apoyo de esta idea, las HSC obtenidas a partir de ratones deficientes en *Terc* con telómeros cortos muestran una capacidad reducida para repoblar ratones irradiados.

RECIENTES APORTES AL REJUVENECIMIENTO

La relación entre telómeros y envejecimiento se conoce desde 1990 a raíz de las investigaciones de Harley y Greider, pues la ausencia de la telomerasa es causa de una parte importante de los efectos adversos del envejecimiento. Por otro lado, estudios previos habían observado que elevando la cantidad de esta enzima se corría mayor riesgo de cáncer.

El aumento combinado de la telomerasa y de ciertos supresores tumorales ha dado como resultado un ratón transgénico que es más resistente al cáncer y envejece mucho más tarde. María Blasco y sus colaboradores han desarrollado un *superratón* en el que se han conseguido dos cualidades: aumentar la longevidad y potenciar la resistencia al cáncer. La fórmula de este complejo hallazgo se ha basado en elevar la telomerasa en ratones resistentes al cáncer. Estos científicos han creado, por un lado, un ratón resistente al cáncer y, por otro, un ratón con mayor cantidad de *Tert*, gen que codifica la subunidad catalítica de la telomerasa. En este ratón se conjuga el aumento de la longevidad y la resistencia al cáncer, en base a incrementar la expresión de *Tert*, en combinación con el aumento en la expresión de los supresores tumorales p53, p16INK y p19ARF.

El cruce de estos ratones modificados genéticamente ha dado lugar al *superratón de laboratorio* antes citado, que envejece más tarde, es más longevo y es resistente al cáncer. Este *superratón* presenta una buena coordinación neuromuscular a edades avanzadas, además de una mayor y mejor tolerancia a la glucosa, lo que supone menor riesgo de diabetes. Además, los tejidos de la piel y del tracto digestivo se mantienen como en ratones jóvenes durante más tiempo. Es la primera vez que se consigue desvelar que la telomerasa puede frenar el envejecimiento. Estos autores han encontrado que el envejecimiento es un proceso ajustado a nivel genético, de manera estricta a lo largo de la evolución, que para modularlo de manera efectiva en un mamífero no basta con manipular solo un gen sino que hay que hacer combinaciones de genes. El nuevo paso dado por este equipo de investigadores ayuda a desvelar los genes que son im-

portantes para determinar y ajustar la esperanza de vida de las especies, sin aumentar con ello el riesgo de cáncer.

Sobre las futuras *implicaciones clínicas* de estos descubrimientos, Blasco matiza que “aunque no podemos conseguir humanos transgénicos, la función de los genes se puede mimetizar con fármacos”. Ya hay algunos que aumentan la cantidad de *p53* y también de telomerasa. Actualmente están en fase clínica para el cáncer (*p53*) y para enfermedades de envejecimiento precoz debido a acortamiento prematuro de los telómeros (*Tert*).

El organismo de este *superratón*, diseñado con más cantidad de TERT/p53 y p16INK/p19ARF, muestra un alargamiento de la vida. De hecho, este ratón a edad avanzada se comporta como los ratones jóvenes y vive un 40% más que los normales, lo que trasladado a los humanos equivaldría a superar los 120 años. Ante la duda de si existe algún riesgo real del incremento de los telómeros en el ser humano, se puede concluir que el aumento de los telómeros en humanos no sería un riesgo sino un beneficio, siempre que fuera acompañado por un aumento de los genes supresores, para evitar el riesgo del cáncer.

PATOLOGÍAS RELACIONADAS CON EL ACORTAMIENTO DE TELÓMEROS

La velocidad a la que se acortan los telómeros puede estar influenciada por factores que son riesgo de muerte prematura, tales como estrés, tabaco y obesidad. El acortamiento de los telómeros se acelera también en varias enfermedades asociadas a la vejez: enfermedad cardiovascular e infecciones, entre otras. También, la longitud de los telómeros parece ser predictiva de demencia y de alteraciones cognitivas.

Algunos síndromes humanos se caracterizan por mutaciones en los genes de la telomerasa, los cuales dan lugar a ritmos acelerados de acortamiento telomérico con la edad. Entre estos se incluyen algunos casos de disqueratosis congénita, anemia aplásica y fibrosis idiopática pulmonar. Los pacientes con *disqueratosis congénita* acarrean mutaciones en componentes del complejo telomerasa que dan lugar a una disminución de la estabilidad de la telomerasa y a telómeros más cortos. Estas mutaciones afectan a uno u otro de los genes *Tert* y *Terc*, en pacientes con la variante de disqueratosis congénita dominante autonómica, o al gen *Dkc1* que codifica una proteína que interacciona con la telomerasa implicada en la estabilidad de *Terc* y en el procesamien-

to de RNA pequeño nucleolar, en pacientes con la forma de enfermedad asociada a X. Los pacientes con disqueratosis congénita desarrollan muchas de las patologías demostradas en el modelo experimental de ratón con deficiencia en *Terc*, tales como corta estatura, hipogonadismo e infertilidad, defectos en la piel y del sistema hematopoyético, fallos en la médula ósea y muerte prematura. Los pacientes con disqueratosis congénita muestran también una elevada inestabilidad cromosómica a medida que envejecen, lo cual está de acuerdo con una pérdida telomérica más rápida. Finalmente, estos enfermos y los ratones deficientes en *Terc* muestran afectada la progenia, lo que hace pensar que los telómeros cortos contribuyen al padecimiento de la enfermedad. Una diferencia importante existe entre los pacientes de esta enfermedad y los ratones deficientes en *Terc* y es que los enfermos muestran elevada incidencia en cáncer espontáneo, mientras que esto no ocurre a los ratones deficientes en *Terc*, excepto en aquellos con deficiencia en *p53* y sobre-expresión de TRF2. Una razón que puede explicar esta diferencia es que, en contraste con los ratones deficientes en *Terc*, los pacientes con esta patología retienen todavía genes de la telomerasa que pueden ser activados durante la tumorigénesis.

Un número de pacientes diagnosticados con *anemia aplásica* muestran también mutaciones en los genes de la telomerasa *Tert* y *Terc*, lo que ocasiona un acortamiento acelerado de los telómeros y muerte prematura. Recientemente se han encontrado mutaciones en los componentes de la telomerasa en algunos casos de *fibrosis idiopática pulmonar*, enfermedad letal de aparición en adultos, que se caracteriza por fibrosis pulmonar y fallo respiratorio, cuya patología se debe a deficiencias en la regeneración celular asociada al acortamiento de los telómeros.

Además de las enfermedades ya citadas en el párrafo anterior, que se asocian a actividad telomerasa deficiente y telómeros cortos, se han caracterizado otras enfermedades de síndromes asociados al envejecimiento, producidas por mutaciones en las proteínas de reparación del DNA, tales como el síndrome de rotura Nijmegen (*Nbs1*), la enfermedad similar a la ataxia telangiectasia (*Mre11*), el síndrome de Werner (*WRN*), el síndrome de Bloom (*BLM*), la ataxia telangiectasia (*ATM*) y la anemia de Fanconi (proteínas codificadas por genes *FANC*), muchas de las cuales interactúan con la proteína de unión a los telómeros TRF2. Los síndromes de Werner, Bloom y *ATM* han sido reproducidos en ratón sólo en combina-

ción con deficiencia en telomerasa y telómeros cortos, en el contexto de modelo de ratón deficiente en *Terc*.

CONCLUSIONES

El acortamiento de los telómeros es un hecho que ocurre en tanto en cuanto el organismo envejece y se acelera en enfermedades humanas asociadas con mutaciones en la telomerasa (disqueratosis congénita, fibrosis idiopática pulmonar y anemia aplásica). Los individuos con estas enfermedades y los ratones deficientes en *Terc*, muestran una menor expectativa de vida que coincide con una pérdida prematura de renovación de tejidos, lo que indica que la telomerasa es un factor limitante de la homeostasis tisular y la supervivencia del organismo. Estos hallazgos presentan especial relevancia ya que sugieren que la actividad telomerasa y la longitud de los telómeros pueden afectar directamente la capacidad de las células madre para renovación y regeneración de los tejidos. De ser esto cierto, la disfunción de las células madre provocada por el acortamiento de telómeros ha de ser uno de los mecanismos responsables del envejecimiento del organismo tanto en ratones como en humanos.

El hecho de que sea necesario un largo período de espera antes de que pueda observarse un freno en la proliferación celular hace pensar que los inhibidores de la telomerasa no son convenientes como primer tratamiento para el cáncer. Parece razonable pensar que los inhibidores de la telomerasa han de ser administrados como agentes quimiopreventivos o después de la eliminación de la masa tumoral por cirugía o por quimioterapia. Existe también el peligro que los inhibidores de la telomerasa originen efectos colaterales no deseables en células normales proliferativas, tales como las células germinales y las células somáticas progenitoras.

La discusión de las aplicaciones de los inhibidores de la telomerasa como terapia del cáncer ha sido casi completamente confinada a su uso en la quimiopreención y quimioterapia. En teoría los inhibidores de la telomerasa presentan la posibilidad de un uso amplio. Las repeticiones teloméricas se han caracterizado en diversos organismos parásitos y la actividad telomerasa se ha detectado en el *Plasmodium falciparum*. Estas observaciones sugieren que puede ser posible obtener ventajas de las diferencias entre parásito y hospedador o enzimas fúngicos para diseñar selectivamente fármacos tóxicos. A pesar de las posibles aplicaciones de los inhibidores

de la telomerasa en la terapia del cáncer, estos inhibidores en otros organismos no afectarían la telomerasa en células progenitoras del hospedador, reduciéndose así el riesgo de efectos colaterales indeseables. Nuestro conocimiento de la biología básica del mantenimiento de la longitud telomérica sugiere que el descubrimiento de nuevos fármacos anti-telomerasa representaría una nueva clase de agentes terapéuticos actuando sobre un mecanismo diferente.

Abreviaturas:

ALT, alargamiento alternativo de los telómeros; H3 y H4, histonas; H3K9, histona 3 trimetilada en la lisina 9; H4K20, histona 4 trimetilada en la lisina 20; HP1, proteína de la heterocromatina; Ku80, proteína componente de NHEJ; MRE11, recombinación meiótica; TPE, efecto de la posición del telómero; p53, proteína supresora de tumores; PCNA, antígeno nuclear de proliferación celular; Pot/TTP heterodímero protector de los telómeros; Rb, proteína del retinoblastoma supresora de tumores; SUV3-9H1 y SUV3-9H2, enzimas que trimetilan a H3 en la lisina 9; SUV4-20H1 y SUV4-20H2, enzimas que trimetilan la H4 en la lisina 20; TEBP, proteína de enlace al extremo sobresaliente 3' del DNA telomérico; TEP, proteína asociada al telómero; TRF1 y TRF2, factores de enlace a las repeticiones teloméricas; Terc, segmento de RNA componente de la telomerasa; Tert, subunidad catalítica de la telomerasa; TTAGGG, repetición seis de nucleótidos, timina, adenina y guanina (rica en guanina), que forman los telómeros; TRF, fragmentos de restricción terminal.

Agradecimiento:

Nuestra profunda gratitud a la inestimable ayuda prestada por D.^a Adoración Urrea Salazar en la preparación y corrección del manuscrito, en la búsqueda de bibliografía y en la realización del ajuste electrónico de las figuras.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Autexier, C. & Greider, C.W. *Telomerase and cancer: revisiting the telomere hypothesis*. Trends Biol. Sci., 21, 387-391 (1996).
 [2] Blackburn, E.H. *Telomeres*. Ann. Rev. Biochem., 61, 113-129 (1992).

[3] Blackburn, E.H., Greider, C.W. & Szostak, J.W. *Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging*. Nat. Med., 12, 1133-1138 (2006).
 [4] Blasco, M.A. *The epigenetic regulation of mammalian telomeres*. Nature Rev. Genet., 8, 299-309 (2007a).
 [5] Blasco, M.A. *Telomere length, stem cells and aging*. Nat. Chem. Biol., 3, 640-649 (2007b).
 [6] Boticario, C. y Cascales, M. *Telómeros, envejecimiento y cáncer*. En "¿Por qué tenemos que envejecer? y enfermedades relacionadas", pp 115-145. Ed. UNED, Plasencia (2009).
 [7] Cascales, M. *Telómeros, Telomerasa, Senescencia y Cáncer*. Anales de la Real Academia de Doctores, 3, 83-101 (1999).
 [8] Greider, C.W. *Telomere length regulation*. Annu. Rev. Biochem., 65, 337-365 (1996).
 [9] Harley, C.B. & Greider, C.W. *Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts*. Nature, 245, 458-460 (1990).
 [10] Hayflick, L. *The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains*. Exp. Cell Res., 37, 614-636 (1965).
 [11] Murnane, J.P. *Telomere loss as a mechanism for chromosome instability in human cancer*. Cancer Res., 70, 4255-4259 (2010).
 [12] Santos-Ruiz, A. y Cascales, M. *Implicaciones fisiopatológicas de la Telomerasa*. Anales de la Real Academia Nacional Medicina, 117, 427-445 (2000).
 [13] Serrano, M. & Blasco, M.A. *Cancer and ageing: convergent and divergent mechanisms*. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 8, 715-722 (2007).
 [14] Tian, X., Chen, B. & Liu, X. *Telomere and telomerase as targets for cancer therapy*. Appl. Biochem. Biotechnol., 160, 1460-1472 (2010).

Consuelo Boticario Boticario
 Dpto. de Ciencias Analíticas

Directora del Centro Asociado de la UNED en
 Plasencia

María Cascales Angosto
 Doctora ad honorem del CSIC
 Doctora Honoris Causa de la UNED