



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE  
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

CLÁUDIA ANGELO FOSCHETE

**A INFLUÊNCIA DO TABAGISMO NO ENCURTAMENTO DE TELÔMEROS**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado no formato de artigo científico ao UniCEUB como requisito parcial para a conclusão do curso de Bacharelado em Biomedicina.

Orientador: Prof. Paulo Roberto Queiroz.

BRASÍLIA

2015

## A influência do tabagismo no encurtamento de telômeros

Cláudia Angelo Foschete<sup>1</sup>  
Paulo Roberto Queiroz<sup>2</sup>

### Resumo

Telômeros são complexos DNA-proteína que promovem a estabilidade do genoma, estando situados nas extremidades de cromossomos eucarióticos e em humanos são representados por sequências repetitivas de 6 nucleotídeos (TTAGGG)<sub>n</sub>. A cada replicação celular ocorre um encurtamento telomérico. Essa redução leva à senescência celular e à apoptose. O estresse oxidativo é um dos fatores que aceleram o encurtamento dos telômeros e o fumo de tabaco contribui para esse estresse. O objetivo deste trabalho é apresentar a associação entre o tabagismo e o comprimento de telômeros em seres humanos. Estudos evidenciam uma clara correlação entre o consumo de tabaco, o estresse oxidativo e a aceleração da diminuição do comprimento telomérico. A aceleração desse encurtamento contribui para o desenvolvimento de doenças, sendo o tabagismo um fator importante para o desenvolvimento de câncer, doenças pulmonares e cardiovasculares. Faz-se necessária uma intensificação de políticas públicas voltadas para o combate ao tabagismo, tendo o biomédico um papel fundamental nessa luta.

**Palavras chave:** telômero, tabagismo, estresse oxidativo, encurtamento telomérico.

### Smoking influence in telomere shortening

#### Abstract

Telomeres are DNA-protein complexes that promote genome stability. They are situated at the end of eukaryotic chromosomes and are represented in humans by repetitive sequences of 6 nucleotides (TTAGGG)<sub>n</sub>. At each cellular replication occurs a telomeric shortening. This reduction leads to cellular senescence and apoptosis. Oxidative stress is one factor that accelerates telomere shortening and tobacco smoke contributes for this stress. The objective of this study is to present an association between smoking and telomeres length in human beings. Studies show a clear correlation between tobacco consumption, oxidative stress and accelerated decrease in telomere length. This shortening acceleration contributes to the development of diseases and smoking is a major factor to the development of cancer, cardiovascular and pulmonary diseases. It is necessary to intensify public policies is necessary to fight tobacco smoking and biomedical scientists have a key role in this subject.

**Keywords:** telomere, tobacco smoking, oxidative stress, telomere shortening.

---

<sup>1</sup>Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

<sup>2</sup>Doutor em Biologia Animal pela Universidade de Brasília – UnB, Professor de Biomedicina no Centro Universitário de Brasília.

## 1 Introdução

Telômeros são complexos DNA-proteína, presentes nas extremidades de cromossomos eucarióticos, que protegem o material genético celular contra eventos que promovem a instabilidade do genoma. Tais eventos incluem a degradação e a fusão das regiões terminais dos cromossomos (BLACKBURN, 2005).

De acordo com Lu e colaboradores (2013) esse papel protetivo essencial dos telômeros é comprometido pela redução progressiva das extremidades do cromossomo, provocada pela replicação do DNA. Essa redução telomérica resulta na ativação de respostas celulares, tais como, a senescência e a morte celular programada (apoptose), minimizando, assim, a probabilidade de que uma célula com muitas anormalidades cromossômicas continue a se dividir e se desenvolva em um tumor.

Klug e colaboradores (2010) descrevem que em certas populações de células humanas que sofrem vasta proliferação, como as células embrionárias, germinativas e tumorais, o comprimento telomérico é mantido pela telomerase, que adiciona sequências de DNA telomérico no final dos cromossomos.

Segundo Von Zglinicki (2002), a taxa de encurtamento dos telômeros por divisão celular não é constante e pode variar em função do estresse oxidativo e das defesas antioxidantes. O dano oxidativo no DNA telomérico é maior do que em outras partes do cromossomo, sendo que o estresse oxidativo acelera a perda de pares de bases nos telômeros, enquanto antioxidantes desaceleram essa perda. Ito e Barnes (2009) acrescentam que a exposição dos telômeros a elevados níveis de estresse oxidativo causa lesão no DNA telomérico, acelerando o processo de envelhecimento e aumentando o risco do desenvolvimento de câncer.

Van der Vaart e colaboradores (2004) afirmam que a fumaça do cigarro contém uma mistura de compostos que geram espécies reativas de oxigênio. Os mesmos autores evidenciam, também, a ideia de que o fumo de tabaco é uma causa bem conhecida de estresse oxidativo sistêmico. Recentemente, Valdes e colaboradores (2005) e Morlá e colaboradores (2006) demonstraram que o tabagismo está relacionado ao encurtamento de telômeros em leucócitos circulantes.

O presente trabalho tem como objetivo fazer o levantamento entre o tabagismo e o comprimento de telômeros em seres humanos.

## 2 Metodologia

Trata-se de um trabalho de revisão narrativa, segundo Rother (2007) uma revisão que apresenta uma temática ampla no intuito de descrever e discutir o desenvolvimento de um determinado assunto, neste caso, a associação entre o tabagismo e o comprimento de telômeros.

Os artigos científicos foram localizados por meio de busca sistemática, realizada nos bancos de dados EBSCOhost, PubMed (US *National Library of Medicine*), SciELO (*Scientific Electronic Library Online*) e Google Academics, utilizando-se os descritores “telômero”, “telomerase”, “estresse oxidativo”, “tabagismo”, “envelhecimento celular”, “Fragmentos de Restrição Terminal”, “Hibridação *in situ* Fluorescente Quantitativa”, “Reação em Cadeia de Polimerase”, bem como os mesmos no idioma inglês. Foram ainda utilizados livros do acervo da biblioteca Reitor João Herculino – UniCEUB.

A pesquisa se concentrou em artigos publicados nos últimos dez anos, contudo também foram utilizados artigos e textos básicos anteriores para fundamentar o presente trabalho. Após a busca na literatura, foi realizada seleção dos artigos e livros que abordavam aspectos relacionados à associação entre o tabagismo, o estresse oxidativo e o comprimento telomérico, e identificados conceitos e aspectos relevantes à construção deste estudo.

## 3 Desenvolvimento

### 3.1 Estrutura e Função dos Telômeros

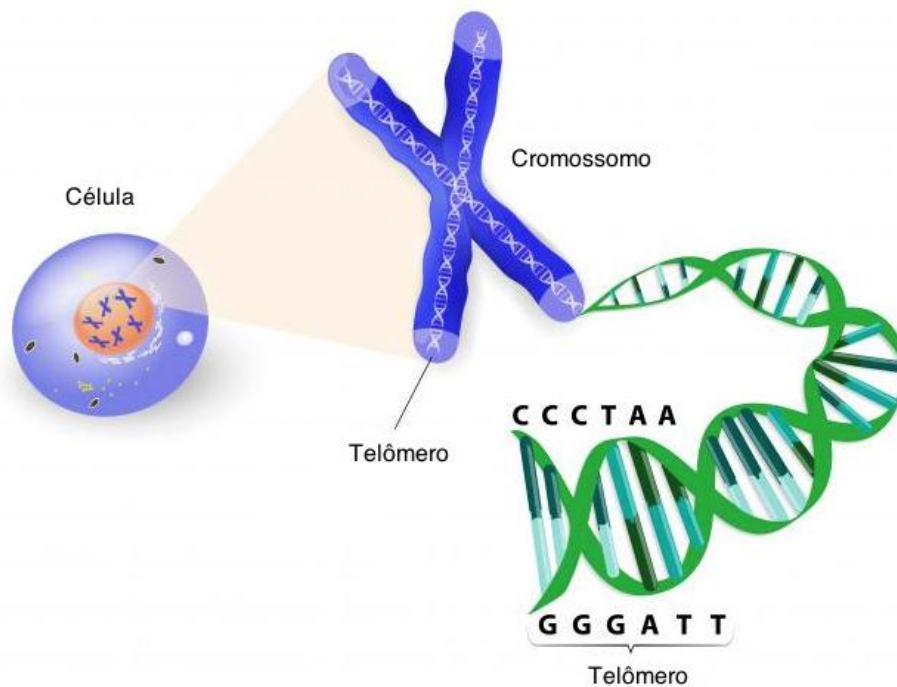
No início do século XX, Muller (1938) ao trabalhar com moscas da espécie *Drosophila melanogaster* e McClintock (1939), com milho, propuseram a existência de uma estrutura especial nas extremidades dos cromossomos que impediam que estas se fusionassem, assegurando a segregação adequada do material genético durante a divisão celular. As estruturas que Muller denominou de telômeros (do grego: *telos* - final e *meros* - parte) conferem identidade à parte final dos cromossomos, o que torna possível distingui-los dos fragmentos celulares gerados por quebras de DNA que devem ser fundidas para manter a integridade do material genético.

Nas décadas de 60 e 70, Hayflick e Moorhead (1961), Watson (1972) e Olovnikov (1973) propuseram que as extremidades dos cromossomos não podiam ser copiadas pela

maquinaria de replicação, sendo esta a causa do encurtamento dos telômeros, e que o número de vezes que as células humanas em cultura podiam se dividir era limitado. Esta descoberta estava relacionada a outra característica dos telômeros: a cada divisão celular uma porção do telômero é perdida, até este atingir um comprimento mínimo crítico que causa a senescência e a morte celular.

No intuito de compreender melhor essas estruturas, Yao e Blackburn (1981) sequenciaram os telômeros de ciliados. Seus estudos foram determinantes para o atual entendimento de que os telômeros são complexos DNA-proteína que promovem a estabilidade do genoma, estando situados nas extremidades de cromossomos eucarióticos e representados em seres humanos por sequências repetitivas de 6 nucleotídeos (TTAGGG)<sub>n</sub>, denominadas DNA telomérico (Figura 1).

**Figura 1:** Representação da localização do telômero.



**Fonte:** Whiteman (2015).

Entende-se, assim, que os telômeros solucionam pelo menos dois problemas celulares. Primeiro, diferenciam as extremidades normais dos cromossomos das quebras de DNA, sem essa diferenciação o maquinário de reparo celular induziria paradas no ciclo celular e uniria as extremidades normais a outras. Segundo, os telômeros permitem ao DNA cromossômico ser replicado completamente até o fim (POLLARD; EARNSHAW, 2006).

### 3.2 Replicação Telomérica

A replicação celular dos organismos eucarióticos, segundo Zaha (2014), consiste em um processo no qual uma sequência de atividades enzimáticas duplica todo o material genético antes de uma divisão celular. O autor esclarece que esta replicação ocorre de maneira semiconservativa, pois as moléculas de DNA geradas após a replicação contêm somente uma das fitas recém-sintetizadas e a outra corresponde à fita do DNA parental (molde).

Para melhor entender o segundo problema celular solucionado pelos telômeros, Klug e colaboradores (2010) levantam a necessidade de considerar a complexa questão que a replicação semiconservativa gera na extremidade de uma molécula de DNA de fita dupla.

De acordo com Pollard e Earnshaw (2006) toda replicação de DNA procede com uma polaridade de 3' para 5' no DNA-molde (5' para 3' no DNA recém-sintetizado). As duas fitas de DNA são antiparalelas, mas as polimerases alongam o DNA apenas na direção 5' → 3'. Portanto, somente uma fita, a líder, é estendida continuamente na direção do movimento da forquilha de replicação; a outra fita, a descontínua, é sintetizada “descontinuamente” na direção oposta com uma série de fragmentos de Okazaki (COX et al., 2012).

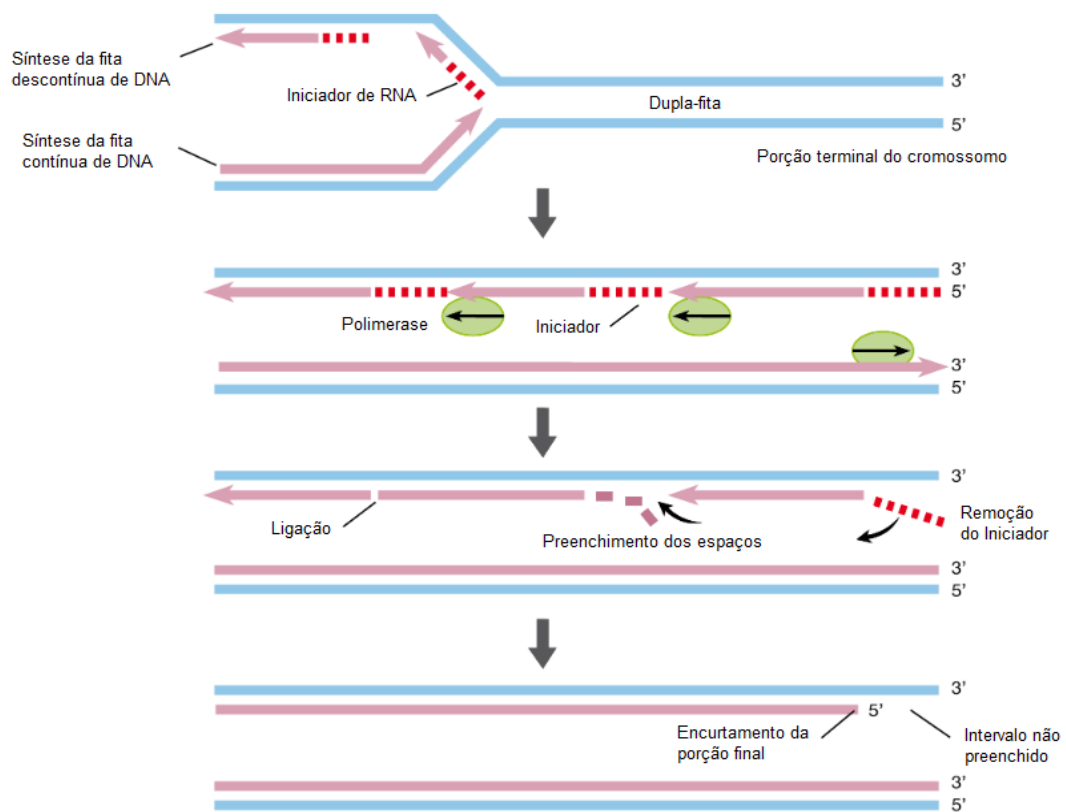
Durante a replicação, um iniciador de RNA é usado para indicar o local no qual a DNA polimerase III deve iniciar a síntese da nova fita. Na fita contínua a DNA polimerase III prossegue até o fim. Ocorre que na fita descontínua o RNA iniciador é inserido em intervalos regulares e a nova fita é alongada pela DNA polimerase III gerando fragmentos de Okazaki. A síntese dos fragmentos termina sempre que encontra o RNA iniciador anterior. Posteriormente, esses iniciadores são removidos e substituídos por sequências de DNA produzidas por DNA polimerases (POLLARD; EARNSHAW, 2006).

O problema reside na extremidade da fita descontínua, pois quando o iniciador final de RNA é retirado não há mais espaço na fita onde possa ser inserido novo iniciador de RNA, dessa maneira a DNA polimerase não consegue realizar o preenchimento desse último trecho da fita molde, resultando em uma fita-filha de DNA mais curta que a fita-mãe (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2012) (Figura 2).

Segundo Klug e colaboradores (2010) cada vez que a célula é replicada esse problema se repete, sendo o telômero encurtado a cada ciclo de replicação. Shay e Wright (1996) indicam que as repetições teloméricas de tecido somático normal encurtam aproximadamente de 30 a 200pb após cada divisão mitótica. Cano (2006) acrescenta que a maioria das células humanas somáticas se dividem aproximadamente 50 a 60 vezes antes que suas extremidades

teloméricas sejam suficientemente encurtadas a ponto de não mais ser possível protegerem os cromossomos.

**Figura 2:** Replicação da fita descontínua.



**Fonte:** Adaptada de Nobelförsamlingen (2009).

**Legenda:** Na replicação celular a fita descontínua o iniciador de RNA é inserido em intervalos regulares e a fita é sintetizada pela DNA polimerase III. Esses iniciadores são degradados após o alongamento da fita recém-sintetizada de DNA. Os espaços vazios são preenchidos pela polimerase. A DNA polimerase não consegue preencher o espaço deixado pelo iniciador de RNA, o que resulta no encurtamento da porção final a cada replicação.

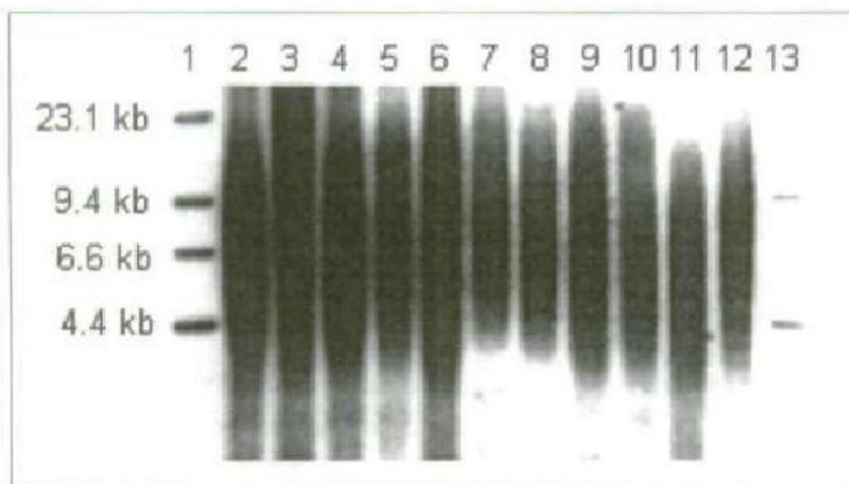
Esta perda de comprimento dos telômeros tem sido proposta como um mecanismo que funciona tal qual um relógio mitótico, tendo a finalidade de contar a quantidade de divisões sofrida pela célula e então sinalizar a senescência celular. Quando o número de divisões celulares for elevado, os telômeros tornam-se tão curtos que as células são direcionadas para sair do ciclo de divisão celular, característica da senescência replicativa (LIU, 1999). Logo, tem-se que o comprimento telomérico é um marcador do envelhecimento celular e da senescência (EPEL et al., 2004).

### 3.3 Técnicas de Determinação do Comprimento Telomérico

Existem atualmente diferentes métodos de mensuração do comprimento telomérico, sendo os principais: a análise do comprimento dos Fragmentos de Restrição Terminal (TRF) por Southern Blot, a Hibridação *in situ* Fluorescente Quantitativa (QFISH) e a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).

O método de análise de TRF foi desenvolvido para determinar o comprimento dos telômeros, e, portanto, é muitas vezes descrito como o método "padrão ouro". Nesse procedimento, o DNA genômico é fragmentado por enzimas de restrição. Os telômeros (fragmentos) são separados por eletroforese em gel de agarose por tamanho e então transferidos para uma membrana de nitrocelulose ou nylon. Posteriormente, pela técnica Southern Blot, uma sonda específica, marcada radioativamente ou com corantes fluorescentes, é utilizada para hibridar (parear) os fragmentos complementares a ela. Os diferentes comprimentos de telômeros apresentar-se-ão como bandas com tamanhos e intensidades que serão avaliados por comparação com um conjunto composto por tamanhos de fragmentos conhecidos (ALLSHIRE et al, 1989; HARLEY et al, 1990; KIMURA et al, 2010) (Figura 3).

**Figura 3:** *Southern Blot* de comprimento telomérico de leucócito de 11 pacientes com esquizofrenia. As colunas 1 e 13 contêm marcadores de peso molecular.



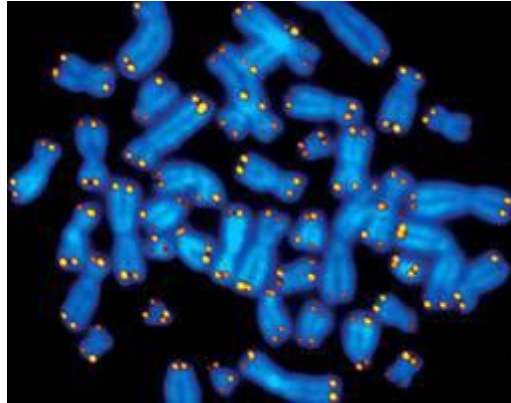
**Fonte:** Yu et al. (2008).

Na Hibridação *in situ* Fluorescente Quantitativa (QFISH) utiliza-se uma sonda fluorescente (3' CCCTAA 5')<sub>3</sub> que se hibrida às repetições teloméricas dos cromossomos. A



visualização dos telômeros é realizada em microscópio com filtros epifluorescentes. O substrato utilizado na técnica QFISH são células, ao invés de o DNA utilizado nos ensaios baseados em TRF e em PCR (MONPETIT et al., 2014) (Figura 4).

**Figura 4:** Linfócitos humanos em metáfase. Técnica Hibridação *in situ* Fluorescente Quantitativa (QFISH). DNA cromossômico em azul e telômeros em amarelo.



Fonte: Perkel (2002).

No intuito de solucionar a problemática da necessidade de grandes quantidades de DNA para avaliação telomérica, foi desenvolvida a técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Nesse método a região telomérica é amplificada quando uma mistura que contém o DNA a ser analisado, dNTPs (desoxirribonucleotídeos trifosfatos), iniciadores e a enzima Taq-polimerase são adicionados a uma solução tampão. Essa solução é levada para um termociclador que realiza ciclos em diferentes temperaturas pré-estabelecidas. Por meio da eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida o resultado é analisado em comparação com um marcador de peso molecular adicionado a uma das fileiras do gel. No qPCR o comprimento telomérico é mensurado por comparação entre a quantidade telomérica amplificada (T) e uma única cópia de sequência telomérica (S). Já na técnica de PCR tempo-real, a contagem de amplificações teloméricas é realizada à medida que os amplicons vão sendo gerados, ou seja, a cada ciclo, o que traz maior agilidade à técnica (MONPETIT et al., 2014).

### 3.4 Estrutura e Função da Telomerase

O complexo telomerase consiste em uma transcriptase reversa (TERT) de 1132 aminoácidos, codificada pelo gene *hTERT* (*human Telomerase Reverse Transcriptase*), localizado no cromossomo 5p15.33 e uma RNA telomerase (TERC) contendo 451

nucleotídeos (incluindo molde telomérico – CAAUCCCAAUC), codificado pelo gene *hTERC* (*human Telomerase RNA Component*), localizado no cromossomo 3q21-q28 (AVIV, 2004).

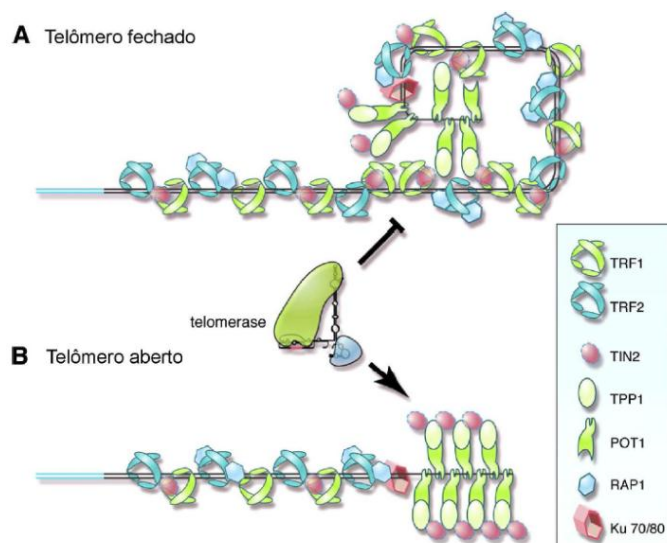
Para compreender melhor a ação da telomerase, Pollard e Earnshaw (2006) descrevem que a telomerase utiliza seu próprio RNA como molde para sintetizar sequências de DNA na extremidade do cromossomo alongando, assim, o telômero.

A maioria das células humanas diferenciadas não apresenta quase nenhuma atividade de telomerase. Porém, certos tipos de células, tais como, células tronco-embrionárias, células germinativas e algumas somáticas como, por exemplo, células endoteliais, endometriais e linfócitos B e T apresentam alta capacidade proliferativa (CANO, 2006). Além disso, a atividade da telomerase foi evidenciada em 90% das células extraídas de tumores humanos estudados por Chiu e Harley (1997).

Cong e Shay (2008) acrescentam que em humanos a maioria das células somáticas apresenta níveis de atividade da telomerase indetectáveis, isto ocorre porque a transcrição da subunidade catalítica *hTERT* é reprimida durante o início do desenvolvimento embrionário.

Blackburn (2001) propôs que os telômeros podem alternar entre um estado aberto (permitindo seu alongamento pela telomerase) e um estado fechado (inacessível à telomerase). Aubert e Landsorp (2008) sugerem que, quando o comprimento do telômero é longo o suficiente, a extremidade telomérica se dobra formando um t-loop e impedindo que a telomerase se encaixe; contrário a isso ocorre atividade da telomerase quando a extremidade do telômero está aberta (Figura 5).

**Figura 5:** Extremidade telomérica fechada e aberta.



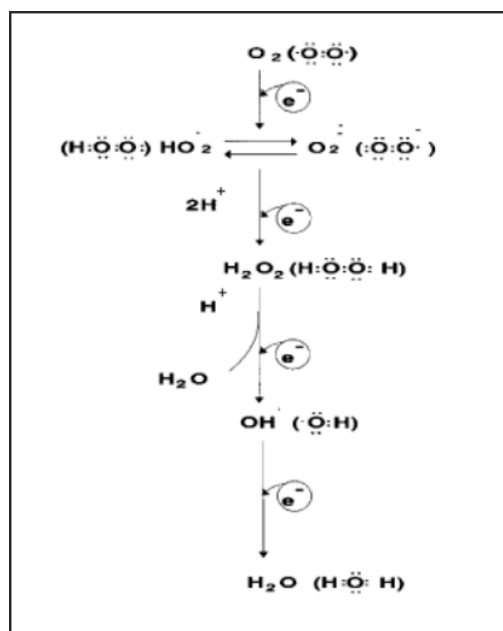
**Fonte:** Adaptado de Aubert e Landsorp (2008).

### 3.5 Estresse Oxidativo e Encurtamento de Telômeros

Sob condições fisiológicas, existe um equilíbrio entre a quantidade de espécies reativas de oxigênio produzidas no metabolismo celular normal e a defesa antioxidante endógena. Um desequilíbrio entre a capacidade antioxidante e a produção de espécies reativas de oxigênio conduz ao estresse oxidativo (TAVILANI et al., 2012).

Yu (1994) nos esclarece que radicais livres de oxigênio são espécies químicas que possuem um ou mais elétrons não pareados. Ao reagirem com outras moléculas, modificam suas estruturas moleculares retirando elétrons de suas órbitas. Segundo Salvador e Henriques (2004) a expressão “espécies reativas de oxigênio” (ERO) abrange tanto radicais livres de oxigênio, como radical hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ), óxido nítrico ( $\text{NO}\bullet$ ) e radical superóxido ( $\text{O}_2\dot{-}$ ), quanto não radicais derivados de oxigênio que podem gerar radicais livres, como peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ), ozônio ( $\text{O}_3$ ) e oxigênio singlete ( $\text{O}_2$ ). Berra e Menck (2006) elucidam que uma das principais formas de geração de ERO se dá como consequência do próprio metabolismo celular no homem. O oxigênio segue uma via metabólica na qual é reduzido a água, por meio da incorporação de quatro elétrons ao final da cadeia respiratória. Quando essa redução ocorre com um número menor de elétrons, ocorre a produção de ERO (Figura 6).

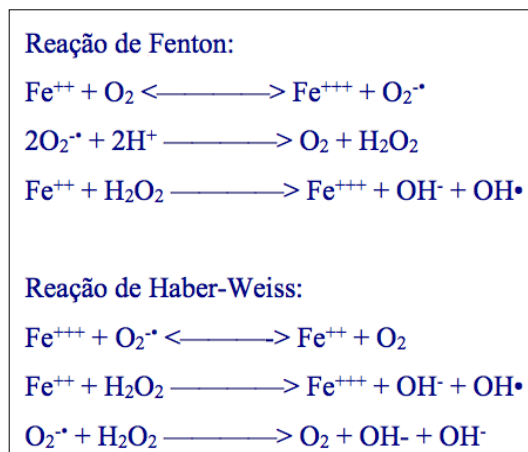
**Figura 6:** Redução tetraivalente do oxigênio molecular ( $\text{O}_2$ ) na mitocôndria até a formação de água ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Várias ERO são formadas no processo.



**Fonte:** Ferreira e Matsubara (1997).

O peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) é uma ERO que exerce importante papel no estresse oxidativo por ter a capacidade de atravessar as membranas celulares e nucleares e gerar o radical livre hidroxila ( $\text{OH}\cdot$ ) ao reagir com metais como o  $\text{Cu}^+$  e o  $\text{Fe}^{++}$ . A geração de  $\text{OH}\cdot$  se dá por meio das Reações de Fenton e Haber-Weiss representadas abaixo (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; BARREIROS; DAVID, 2006) (Figura 7).

**Figura 7:** Geração das espécies reativas de oxigênio.



**Fonte:** Da autora (2015).

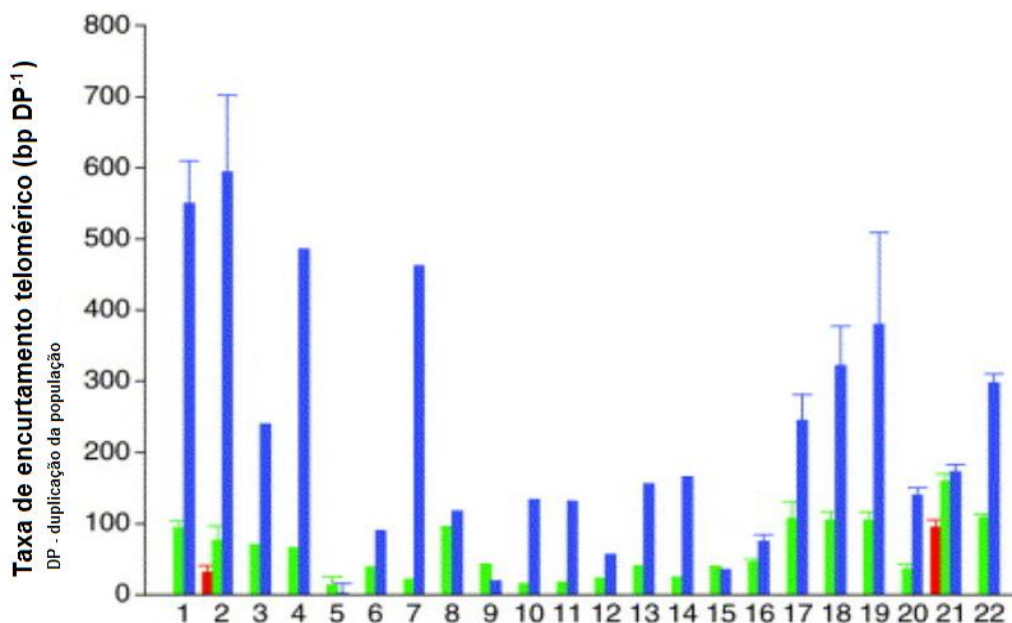
Salvador e Henriques (2004) descrevem que o radical hidroxila tem meia-vida de baixíssima duração, reagindo rapidamente com os componentes celulares que estiverem mais próximos, podendo causar lesões no DNA, lipídios, carboidratos e proteínas. Esse efeito devastador é potencializado pela inexistência de um sistema enzimático de defesa contra esse radical.

Inúmeras pesquisas têm sido realizadas quanto à influência do estresse oxidativo no encurtamento dos telômeros (ZGLINICKI et al., 1995, 2000a, 2000b; VAZIRI et al., 1997; FURUMOTO et al., 1998; HO et al., 2000; XU et al., 2000; ADELFAK et al., 2001; DUMONT et al., 2001; LORENZ et al., 2001). Destaca-se o consenso dentre pesquisadores quando defendem a ideia de que além da replicação celular levar ao encurtamento dos telômeros, o estresse oxidativo acelera esse processo, como por exemplo, Ito e Barnes (2009) ao sugerirem que os telômeros quando submetidos a elevados níveis de estresse oxidativo, encurtam-se progressivamente à medida que as células se dividem. Ainda, Aviv (2004) descreve que os telômeros de células somáticas cultivadas sofrem erosão a cada ciclo de replicação, sendo que o estresse oxidativo acelera essa redução telomérica.

Ademais, Kawanishi e Oikawa (2004) ao realizarem experimento submetendo cultura de fibroblastos WI-38 a irradiação UV-A, observaram que o peróxido de hidrogênio associado ao cobre causa danos no DNA, especificamente na sequência GGG dos telômeros (5' TTAGGG 3'); concluindo que o dano causado na região GGG da sequência telomérica induzida pelo estresse oxidativo acelera o encurtamento dos telômeros.

Complementarmente, Zglinicki (2002) realizou uma análise comparativa de diversos estudos que utilizaram cultura de células humanas em condições de exposição a diferentes tipos de estresse oxidativo, (Figura 8) evidenciando, dessa forma, o potencial impacto do estresse oxidativo no encurtamento de telômeros.

**Figura 8:** Encurtamento de telômero influenciado pelo estresse oxidativo.



Fonte: Zglinicki (2002).

Legenda: Dados relativos às taxas de encurtamento dos telômeros em condições de diminuição do estresse oxidativo (vermelho), cultura de células padrão (verde) e aumento do estresse oxidativo (azul). As células e as condições utilizadas foram: 1. fibroblastos embrionários humanos (HEF) WI-38, normóxia/40%hiperóxia (ZGLINICKI et al., 1995); 2. MRC-5 HEF, PBN/normóxia/hiperóxia (ZGLINICKI et al., 2000a); 3. HEF WI-38, normóxia/hiperóxia (VAZIRI et al., 1997); 4. fibroblastos de prepúcio humano (HFF) BJ, normóxia/hiperóxia (VAZIRI et al., 1997); 5. HEF BJ, normóxia/hiperóxia (LORENZ et al., 2001); 6. a 14. fibroblastos de pele humana (HSF) de diferentes doadores, normóxia/hiperóxia (ZGLINICKI et al., 2000b); 15. HFF normais/glicose-6-fosfato-desidrogenase-deficiente (HO et al., 2000); 16. HSF normal/Anemia Fanconi (ADELFALK et al., 2001); 17. HEF WI-38 controle/bolus terc-butil-hidroperóxido estresse (DUMONT et al., 2001); 18. HEF WI-38 controle/estresse repetido de terc-butil-hidroperóxido (DUMONT et al., 2001); 19. HEF WI-38 controle/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (DUMONT et al., 2001); 20. HEF MRC-5 controle/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ZGLINICKI et al., 2000a); 21. células endoteliais humanas (HUVEC) ascorbato-2-O-fosfato/controle/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (FURUMOTO et al., 1998); 22. HUVEC controle/homocisteína (XU et al., 2000).

O estudo demonstrou que células humanas cultivadas submetidas a estresse moderado, apresentaram encurtamento acelerado dos telômeros aliado à diminuição da expectativa de replicações celulares. O estresse moderado mencionado foi definido como aquele que permitisse pelo menos a ocorrência de algumas replicações celulares. Dentre os tipos de estresse aplicados tem-se hiperóxia crônica (ZGLINICKI et al., 1995; VAZIRI et al., 1997; LORENZ et al., 2001), o tratamento com homocisteína (XU et al., 2000), baixas doses de terc-butil-hidroperóxido (DUMONT et al., 2000), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (ZGLINICKI et al., 2000a e DUMONT et al., 2001). Uma aceleração similar da perda de telômeros e redução da proliferação celular também foi evidenciada em fibroblastos de indivíduos com Anemia de Fanconi (ADELFALK et al., 2001), uma condição que resulta no aumento do estresse oxidativo.

Dentre vinte e dois experimentos independentes relatados de sete laboratórios diferentes, confirmou-se em dezenove deles um aumento da taxa de encurtamento dos telômeros em condições de estresse. Nos três experimentos restantes, as taxas de encurtamento dos telômeros já eram muito baixas em condições de controle, aliado a isso a capacidade antioxidante intrínseca foi alta o suficiente para minimizar o efeito da hiperóxia (LORENZ et al., 2001; ZGLINICKI et al., 2000b); de acordo com o próprio pesquisador, um bom exemplo de “exceções que confirmam a regra”.

### **3.6 Tabagismo e Encurtamento de Telômeros**

Estudos indicam uma relação entre o tabagismo e o estresse oxidativo. Rufino e Silva (2006) citam que o fumo contém mais de 1.017 partículas e muitas são produtos oxidantes. “Muitas células inflamatórias são recrutadas para o pulmão em resposta à fumaça do cigarro, as quais também geram mais radicais oxidantes” (RUFINO; SILVA, 2006). Chung-Man e colaboradores (2001) destacam que a exposição ao fumo do cigarro conduz a níveis elevados de espécies reativas de oxigênio nas vias respiratórias humanas. Além disso, Ferreira e Matsubara (1997) enfatizam que a fumaça do cigarro é rica em ferro que, como visto anteriormente, é um metal que participa de reações geradoras do radical livre hidroxila (OH•).

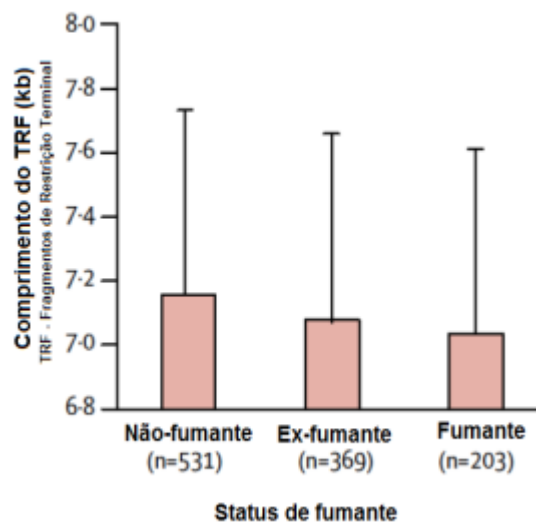
Dois estudos (Valdes et al., 2005; Morlá et al., 2006) correlacionaram a diminuição telomérica em leucócitos e linfócitos circulantes, respectivamente, ao tabagismo. Valdes e colaboradores (2005) investigaram 1.122 mulheres brancas com idades entre 18 e 76 anos. As participantes eram gêmeas (45 pares monozigóticas e 516 dizigóticas). Dessas, 531 (47%)

nunca fumaram, 369 (33%) eram ex-fumantes, 203 (18%) ainda eram fumantes e não se sabia a condição de fumante ou não-fumante de 19 (2%) delas.

O comprimento dos telômeros foi medido pelo método Southern Blot e a carga tabágica foi mensurada pela variável maço-ano. Tal carga expressa a exposição do indivíduo ao tabagismo, representada pelo produto do número de cigarros consumidos por dia pelo número de anos que o indivíduo fumou. Exemplificando, se um indivíduo fumou 30 cigarros por dia durante 15 anos, tem-se  $30/20 \times 15 = 22,5$  maços-ano.

Os achados demonstraram que os indivíduos que nunca fumaram tinham telômeros mais longos que ex-fumantes e ambos apresentaram telômeros mais compridos que os indivíduos que ainda eram fumantes (Figura 9). Ademais, os dados mostraram uma correlação entre a quantidade de cigarros fumados e o encurtamento telomérico. Para cada maço-ano constatou-se uma perda de 5 pb, ou 18% da média de perda telomérica anual, em comparação com a taxa da coorte geral.

**Figura 9:** Relação entre comprimento de telômeros e status de fumante.

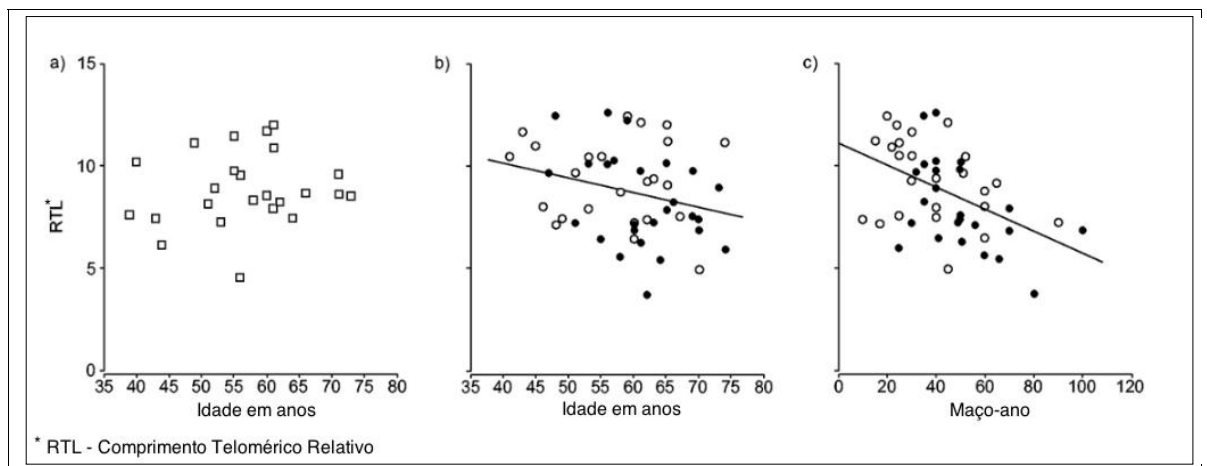


**Fonte:** Valdes et al. (2005).

No trabalho desenvolvido por Morlá e colaboradores (2006), o comprimento dos telômeros foi determinado por Híbridação *in situ* Fluorescente (FISH) em linfócitos circulantes de 26 (vinte e seis) indivíduos que nunca fumaram, 24 (vinte e quatro) fumantes com função pulmonar normal e 26 (vinte e seis) fumantes com obstru o moderada a grave das vias aéreas.

Esse estudo confirmou as informações publicadas por Valdes e colaboradores (2005) ao apresentar dados que comprovaram que em contraste a não-fumantes, o comprimento dos telômeros apresentou significativa diminuição com a idade em fumantes. Demonstrou também que houve uma relação dose-efeito entre a exposição de longa duração cumulativa ao fumo de tabaco e o comprimento dos telômeros em linfócitos circulantes. A presença e/ou gravidade da obstrução crônica das vias aéreas não modificou essa relação (Figura 10).

**Figura 10:** Relação entre o comprimento telomérico e idade, ambos em a) não-fumantes e b) fumantes. c) exposição cumulativa ao fumo. □: indivíduos que nunca fumaram; ○: fumantes com função pulmonar normal; •: fumantes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC).



**Fonte:** Morlá e colaboradores (2006)

Nova pesquisa foi realizada por Tomita e colaboradores (2010) relacionando o encurtamento telomérico ao tabagismo. Dessa vez foram analisados macrófagos alveolares de fumantes e não fumantes com o objetivo de avaliar o efeito do fumo de tabaco no comprimento dessas células. O comprimento telomérico dos macrófagos alveolares foi determinado por Híbridação *in situ* Fluorescente Quantitativa (QFISH).

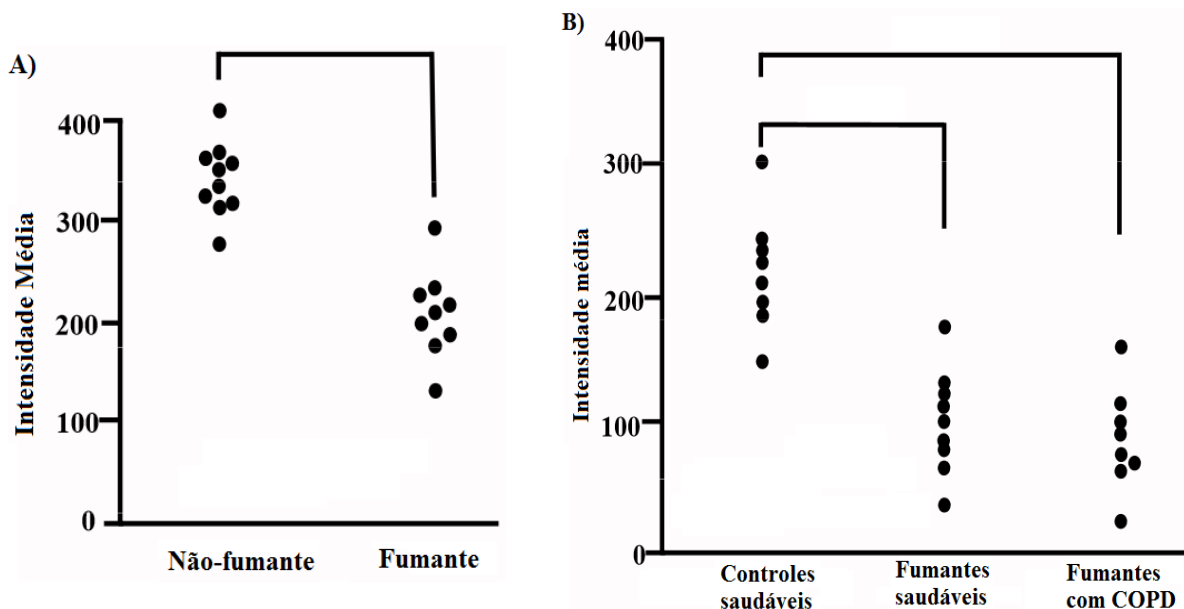
No estudo em questão foram recrutados dois grupos. No primeiro, havia dezenove indivíduos saudáveis com idade de  $24,6 \pm 2,2$  anos, dentre eles, nove nunca fumaram e tinham funções pulmonares normais, e dez eram fumantes com um histórico de carga tabágica de pelo menos 10 maços-ano. O segundo grupo era formado por indivíduos com idade de  $68,3 \pm 5,4$  anos, desses, oito fumantes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), nove fumantes sem obstrução das vias aéreas e oito não fumantes com funções pulmonares



normais. Nesse segundo grupo os fumantes tinham histórico de carga tabágica de pelo menos 20 maços-ano.

Esse estudo demonstrou que no grupo mais jovem, o comprimento telomérico apresentava-se 1,6 vezes menor em macrófagos alveolares dos fumantes quando comparados aos dos não-fumantes. Demonstrou, também, um comprimento significativamente menor nos telômeros em macrófagos teciduais em fumantes com e sem DPOC em comparação com os não-fumantes da mesma idade (Figura 11).

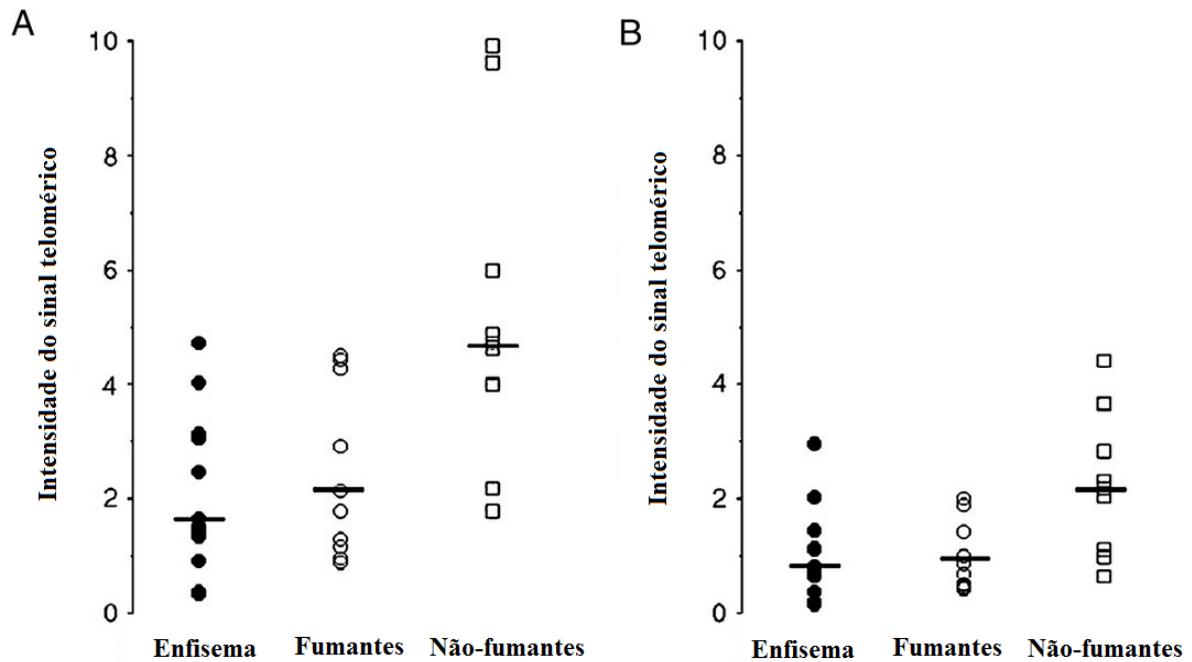
**Figura 11:** A) Comprimento telomérico reduzido em jovens fumantes. B) Comprimento telomérico em controles saudáveis, fumantes saudáveis e pacientes com COPD.



Fonte: Tomita et al. (2010).

Outra investigação foi realizada por Tsuji e colaboradores (2006) visando determinar se a senescência de células alveolares epiteliais e endoteliais era acelerada em indivíduos com enfisema pulmonar. A pesquisa analisou três grupos de indivíduos, sendo 13 pacientes fumantes com enfisema pulmonar (idade de  $64,3 \pm 2,3$  anos), 10 fumantes assintomáticos (idade de  $62,5 \pm 4,5$  anos) e 11 indivíduos não-fumantes assintomáticos (idade de  $63,3 \pm 3,5$  anos). Utilizou-se a técnica de FISH para medição dos telômeros. Os resultados do estudo indicaram que a intensidade de sinal dos telômeros nas células de tipo II e nas células endoteliais dos pacientes com enfisema e dos fumantes assintomáticos foi significativamente menor do que dos não fumantes (Figura 12).

**Figura 12:** Análise quantitativa dos telômeros nas células alveolares tipo II (A) e células endoteliais (B). As barras horizontais indicam os valores medianos.



Fonte: Tsuji et al. (2006)

McGrath e colaboradores (2007) investigaram a associação entre o comprimento de telômeros, tabagismo e risco de câncer de bexiga em um estudo de caso-controle realizado com 184 indivíduos com diagnóstico de câncer de bexiga (caso) e 192 indivíduos saudáveis quanto ao câncer de bexiga (controle). A média de idade dos indivíduos estudados era de 64,1 anos. Dentre os casos, 18% eram fumantes, 50,3% ex-fumantes e 31,7% não fumantes; dentre os controles, 15,3% eram fumantes, 53,2% ex-fumantes e 31,6% não fumantes. O comprimento dos telômeros foi avaliado pela técnica PCR tempo-real.

Resultados desse estudo indicaram uma diferença significativa no comprimento dos telômeros em todas as categorias de maço-ano de tabagismo; o comprimento médio relativo dos telômeros de controles que fumavam  $\geq 30$  maços-ano foi de 0,25 em comparação com 0,29 para não fumantes. Foram demonstrados, também, telômeros significativamente menores em indivíduos saudáveis fumantes do que nos não fumantes.

Recentemente, Cassidy e colaboradores (2010) publicaram artigo a respeito de investigação por eles realizada cujo objetivo era determinar a relação entre dieta alimentar, estilo de vida e encurtamento telomérico de leucócitos do sangue periférico de 2.284 mulheres

com idade entre 43 e 68 anos. O método de PCR quantitativo em tempo-real foi utilizado para medição telomérica. Diferentes variáveis foram analisadas nessa pesquisa, tais como: dieta alimentar, reposição hormonal pós-menopausa, atividade física, massa corporal, idade e tabagismo. Os resultados relatados foram relacionados ao objetivo do estudo, qual seja, determinar a associação entre a circunferência abdominal, consumo de gordura polinsaturada e dieta com fibras e o comprimento telomérico, sendo o tabagismo e a idade utilizados somente como variáveis de adaptação.

Além disso, os autores relataram não terem encontrado associação entre o comprimento dos telômeros e tabagismo, atividade física, ou reposição hormonal pós-menopausa. Evidenciaram, ainda, que apesar de vários estudos anteriores terem observado uma associação entre o tabagismo e a redução telomérica, no estudo em questão e em outros (Broberg et al., 2005; Bischoff et al., 2006; Brouillette et al.; Fitzpatrick et al., 2007) o tabagismo não foi associado com o comprimento telomérico.

Analisando os estudos referidos por Cassidy e colaboradores (2010) citados acima, foram encontrados os seguintes dados: Broberg e colaboradores (2005) investigaram a associação entre o comprimento telomérico de células bucais (medido por PCR quantitativo em tempo-real) e o risco de desenvolvimento de câncer de bexiga. Foram analisados, também, se fatores genéticos e ambientais associados a danos ao DNA (i.e. tabagismo) poderiam modificar a associação entre o comprimento dos telômeros e o risco de câncer. Os dados encontrados indicaram que os fumantes tinham telômeros seis vezes mais curtos do que ex-fumantes ou não-fumantes.

Bischoff e colaboradores (2006) realizaram estudo no qual o comprimento telomérico de leucócitos foi medido pela técnica Southern Blot com o propósito de investigar se esse parâmetro poderia ser usado como um preditor da expectativa de vida remanescente de 812 indivíduos cuja idade variava entre 73 e 101 anos. Foi incluída nesse estudo a análise da correlação entre o tabagismo e o comprimento telomérico dos indivíduos citados. Porém, os autores relataram não terem conseguido comprovar tal associação.

Brouillette e colaboradores (2007) pesquisaram 484 indivíduos que desenvolveram doença coronária (caso) e 1058 que não desenvolveram a doença (controle), com o objetivo de determinar se o comprimento telomérico de leucócitos (medido pelos métodos PCR tempo-real e Southern Blot) era preditor do desenvolvimento da doença em questão. Apesar dos autores incluírem o tabagismo como critério de análise, não demonstraram nenhum resultado que fizesse a correlação do fumo de tabaco com o encurtamento telomérico.

Fitzpatrick e colaboradores (2007) desenvolveram também estudo com o objetivo de determinar se o comprimento telomérico de leucócitos (medido pela técnica Southern Blot) era preditor do desenvolvimento de doença coronária. A população de 419 indivíduos analisada tinha média de idade de 74,2 anos, sendo que mais da metade desses nunca fumou e apenas 11% eram tabagistas. Segundo os autores os resultados encontrados não correlacionaram o tabagismo ao comprimento telomérico.

Cassidy e colaboradores (2010) não encontraram associação entre o comprimento de telômeros e o fumo de tabaco, porém, seus estudos abordavam muitas variáveis, o que pode ter comprometido o resultado esperado. Os dados por eles obtidos foram surpreendentes, uma vez que o encurtamento do telômero é acelerado pelo estresse oxidativo. Apesar desses autores terem citado que outros pesquisadores (Broberg et al., 2005; Bischoff et al., 2006; Brouillette et al.; Fitzpatrick et al., 2007) não chegaram a conclusões que fizessem a referida correlação, observam-se possíveis equívocos de interpretação ou mesmo vieses nos estudos que podem ter interferido nos resultados apresentados.

Broberg e colaboradores (2005) demonstraram sim uma associação entre o fumo de tabaco e o encurtamento de telômeros. Já os indivíduos estudados por Bischoff e colaboradores (2006) tinham idades muito avançadas, entre 73 e 101 anos, o que por si só já seria causa suficiente para que tivessem seus telômeros encurtados. Brouillette e colaboradores (2007) sequer apresentaram resultados especificamente relacionados ao fumo de tabaco e telômeros. Finalmente, Fitzpatrick e colaboradores (2007) ressaltaram que a idade avançada dos indivíduos e a pequena amostra de fumantes devem ter afetado seus resultados relativos à associação entre o tabagismo e o comprimento telomérico.

Por fim, os dados da pesquisa de Valdes e colaboradores (2005) sugeriram que o tabagismo acelera o envelhecimento humano. Salientaram que ser fumante ou ex-fumante corresponde em média a 4,6 anos de envelhecimento e que fumar um maço por dia durante 40 anos corresponde a 7,4 anos de envelhecimento. Morlá e colaboradores (2006) também concluíram que a exposição ao fumo acelera o encurtamento telomérico. Tomita e colaboradores (2010) forneceram evidências de que o tabagismo provoca diminuição do comprimento telomérico em macrófagos alveolares. E, ainda, McGrath e colaboradores (2007) observaram uma associação estatisticamente significativa entre encurtamento do comprimento dos telômeros e o fumo de tabaco.

#### **4 Considerações Finais**

Com o desenvolvimento deste trabalho analisamos estudos que demonstraram a associação entre o tabagismo e o encurtamento de telômeros, evidenciando-se uma clara correlação entre o consumo de tabaco, o estresse oxidativo e a aceleração da diminuição do comprimento telomérico.

Algumas pesquisas analisadas neste estudo utilizaram variáveis que também influenciam o comprimento telomérico, como: diferença de idade entre os indivíduos estudados, doenças pré-existentes, estilo de vida (estresse, dieta, realização de atividade física, dentre outros) e idades avançadas dos participantes, não conseguindo, portanto, demonstrar com precisão a influência do tabagismo no encurtamento de telômeros. Contudo, pesquisas que conseguiram minimizar essas variáveis e utilizaram métodos de mensuração de comprimento telomérico, reconhecidos por sua eficiência e produção de dados fidedignos, apresentaram resultados que demonstraram com acurácia a citada correlação tabagismo/estresse oxidativo/encurtamento telomérico.

Deprendemos das leituras dos artigos e livros que o encurtamento telomérico leva ao envelhecimento celular e conseqüentemente a um comprometimento do metabolismo celular, da capacidade de resposta a estímulos e da defesa do organismo. A aceleração desse encurtamento contribui para o desenvolvimento de doenças, sendo o tabagismo um fator importante para o desenvolvimento de câncer, doenças pulmonares e cardiovasculares.

O fumo de tabaco continua sendo uma das principais causas de mortes evitáveis, dessa forma, faz-se necessária uma intensificação de políticas públicas voltadas para o combate ao tabagismo, tais como campanhas de conscientização da população quanto aos malefícios do fumo de tabaco, proibição de fumo em ambientes coletivos, aumento de carga tributária de produtos que contêm tabaco, proibição de propaganda de cigarro, bem como oferta de tratamento para indivíduos que queiram parar de fumar.

As conclusões do presente trabalho evidenciam o papel fundamental do biomédico na luta contra o tabagismo, seja na realização de pesquisas que demonstrem seus malefícios, no desenvolvimento de tratamentos que minimizem os efeitos ou curem as doenças decorrentes do consumo de tabaco ou ainda na participação em ações governamentais no combate ao tabagismo.

## 5 Referência Bibliográfica

ADELFALK, C. et al. Accelerated telomere shortening in Fanconi anemia fibroblasts – a longitudinal study. **FEBS Letters**. Amsterdam, v. 506, n. 1, p. 22–26, set. 2001.

ALLSHIRE, R. C.; DEMPSTER M.; HASTIE N. D. Human telomeres contain at least three types of G-rich repeat distributed non-randomly. **Nucleic Acids Research**. Bethesda, v. 17, n. 12, p. 4611-4627, jun. 1989.

AUBERT, G.; LANSDORP P. M. Telomeres and aging. **Physiological Reviews**. Washington, v. 88, n. 2, p. 557-579, abr. 2008.

AVIV, A. Telomeres and human aging: facts and fibs. **Science of Aging Knowledge Environment**. Washington, v. 51, n. 43, dez. 2004.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**. São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, jan./fev. 2006.

BERRA, C. M.; MENCK, C. F. M; DI MASCIO, P. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1340-1344, nov./dez. 2006.

BISCHOFF, C. et al. No association between telomere length and survival among the elderly and oldest old. **Epidemiology**. Cambridge, v. 17, n. 2, p. 190–194, mar. 2006.

BLACKBURN, E. H. Switching and signaling at the telomere. **Cell**. Cambridge, v. 106, n. 6, p. 661-673, set. 2001.

BLACKBURN, E. H. Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and the effects of altering their functions. **Febs Letters**. Amsterdam, v. 579, n. 4, p. 859-862, fev. 2005.

BROBERG, K. et al. Constitutional short telomeres are strong genetic susceptibility markers for bladder cancer. **Carcinogenesis**. New York, v. 26, n. 7, p. 1263–1271, jul. 2006.

BROCARD, G. A. **Avaliação do comprimento dos telômeros em células infectadas pelo vírus HTLV-I utilizando a técnica hibridização in situ fluorescente e citometria de fluxo (Flow-FISH)**. 2008. Dissertação (Mestrado em Distúrbios do Crescimento Celular, Hemodinâmicos e da Hemostasia) 177f. Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BROUILLETTE, S. W. et al. Telomere length, risk of coronary heart disease, and statin treatment in the West of Scotland Primary Prevention Study: a nested case-control study. **Lancet**. London, v. 369, n. 9556, p. 107–114, jan. 2013.

CANO, M. I. N. A vida nas ‘pontas’ dos cromossomos. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v.39, n. 229, p. 17-23, ago. 2006.

CASSIDY, A. et al. Associations between diet, lifestyle factors, and telomere length in women. **The American Journal of Clinical Nutrition**. Bethesda, v. 91, n. 5, p. 1273-1280, maio 2010.

CHIU, C. P.; HARLEY, C. B. Replicative senescence and cell immortality: the role of telomeres and telomerase. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**. Malden, v. 214, n. 2, p. 99-106, fev. 1997.

CHUNG-MAN, H. J. et al. Differential expression of manganese superoxide dismutase and catalase in lung cancer. **Cancer Research**. Chicago, v. 61, n. 23, p. 8578-8585, dez. 2001.

CONG, Y.; SHAY, J. W. Actions of human telomerase beyond telomeres. **Cell Research**. Beijing, v. 18, n. 7, p. 725-732, jul. 2008.

COX, M. M.; DOUDNA, J. A.; O'DONNELL, M. **Biologia molecular: princípios e técnicas**. Porto Alegre: Artmed, 2012.

DUMONT, P. et al. Induction of replicative senescence biomarkers by sublethal oxidative stresses in normal human fibroblast. **Free Radical Biology and Medicine**. New York, v. 28, n. 3, p. 361-373, fev. 2000.

DUMONT, P. et al. Growth kinetics rather than stress accelerate telomere shortening in cultures of human diploid fibroblasts in oxidative stress-induced premature senescence. **FEBS Letters**. Amsterdam, v. 502, n. 3, p. 109-112, ago. 2001.

EPEL, E. S. et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Washington, v. 101, n. 49, p. 17312-17315, dez. 2004.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, mar. 1997.

FITZPATRICK, A. L. et al. Leukocyte telomere length and cardiovascular disease in the cardiovascular health study. **American journal of epidemiology**. Baltimore, v. 165, n. 1, p. 14-21, jan. 2007.

FURUMOTO, K. et al. Age-dependent telomere shortening is slowed down by enrichment of intracellular vitamin C via suppression of oxidative stress. **Life sciences**. Oxford, v. 63, n. 11, p. 935-948, ago. 1998.

HAYFLICK, L.; MOORHEAD, P. S. The serial cultivation of human diploid cell strains. **Experimental cell research**. New York, v. 25, n. 3, p. 585-621, dez. 1961.

HARLEY, C. B.; FUTCHER, A. B., GREIDER, C. W. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. **Nature**. London, v. 345, n. 6274, p.458-460, maio 1990.

HO, H.Y. et al. Enhanced oxidative stress and accelerated cellular senescence in glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficient human fibroblasts. **Free Radical Biology and Medicine**. New York, v. 29, n. 2, p. 156-169, jul. 2000.

ITO, K.; BARNES, P.J. A DPOC como uma doença de envelhecimento acelerado. **Revista Portuguesa de Pneumologia**. Lisboa, v. 15, n. 4, p. 743-746, ago. 2009.

JARDIM, L.B.; ASHTON-PROLLA, P.; MALUF, S.W. O Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina de 2009: o papel dos telômeros e da telomerase na manutenção dos cromossomos. **Clinical & Biomedical Research**, Porto Alegre, v. 29, n. 3, p. 271-275, jan. 2010.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2012.

KIMURA, M. et al. Measurement of telomere length by the Southern blot analysis of terminal restriction fragment lengths. *Nature Protocols*. London, v. 5, n. 9, p. 1596-1607, set. 2010.

KAWANISHI, S.; OIKAWA S. Mechanism of telomere shortening by oxidative stress. **Annals of the New York Academy of Sciences**. New York, v. 1019, n. 1, p. 278-284, jun. 2004.

KLUG, W.S.; CUMMINGS, M.R.; SPENCER, C.A. **Conceitos de genética**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

LIU, J. P. Studies of the molecular mechanisms in the regulation of telomerase activity. **The FASEB Journal**. Bethesda, v. 13, n. 15, p. 2091-2104, dez. 1999.

LORENZ, M. et al. BJ fibroblasts display high antioxidant capacity and slow telomere shortening independent of hTERT transfection. **Free Radical Biology and Medicine**. New York, v. 31, n. 6, p. 824-831, set. 2001.

LU, W. et al. Telomeres—structure, function, and regulation. **Experimental Cell Research**. New York, v. 319, n. 2, p. 133-141, jan. 2013.

MCCLINTOCK, B. The behavior in successive nuclear divisions of a chromosome broken at meiosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Washington, v. 25, n. 8, p. 405, ago. 1939.

MCGRATH, M. et al. Telomere length, cigarette smoking, and bladder cancer risk in men and women. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**. Philadelphia, v. 16, n. 4, p. 815-819, abr. 2007.

MONTPETIT, A. J. et al. Telomere length: a review of methods for measurement. *Nursing Research*. New York, v. 63, n. 4, p. 289-299, jul./ago. 2014.

MORLÁ, M. et al. Telomere shortening in smokers with and without COPD. **European Respiratory Journal**. Copenhagen, v. 27, n. 3, p. 525-528, mar. 2006.

MULLER, H. J. The remaking of chromosomes. **Collecting Net**. Woods Hole, v. 13, p. 181-198, s.m. 1938.



NOBELFÖRSAMLINGEN. **Maintenance of chromosomes by telomeres and the enzyme telomerase.** The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009. Disponível em: <[http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2009/press.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2009/press.html)>. Acesso em: 23 nov. 2015.

OLOVNIKOV, A. M. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. **Journal of theoretical biology.** London, v. 41, n. 1, p. 181-190, set. 1973.

PERKEL, J. M. Telomeres as the key to cancer. **The Scientist.** Midland, v. 16, n. 11, p. 38, maio 2002.

POLLARD, T.D.; EARNSHAW, W.C. **Biologia celular.** Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

RUFINO, R.; SILVA, J. R. L. Bases celulares e bioquímicas da doença pulmonar obstrutiva crônica. **Jornal brasileiro de pneumologia.** São Paulo, v. 32, n. 3, p. 241-248, jun. 2006.

SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo.** Canoas: Ulbra, 2004.

SHAY, J. W.; WRIGHT, W. E. Telomerase activity in human cancer. **Current opinion in oncology.** Philadelphia, v. 8, n. 1, p. 66-71, jan. 1996.

TSUJI, T.; AOSHIBA, K.; NAGAI, A. Alveolar cell senescence in patients with pulmonary emphysema. **American journal of respiratory and critical care medicine,** New York, v. 174, n. 8, p. 886-893, out. 2006.

TAVILANI, H. et al. Oxidative stress in COPD patients, smokers, and non-smokers. **Respiratory care.** Philadelphia, v. 57, n. 12, p. 2090-2094, dez. 2012.

TOMITA, K. et al. Telomere shortening in alveolar macrophages of smokers and COPD patients. **Open Pathology Journal.** Beijing, v. 4, p. 23-29, s.m. 2010.

VALDES, A. M. et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. **The Lancet,** London, v. 366, n. 9486, p. 662-664, ago. 2005.

VAN DER VAART, H. et al. Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. **Thorax.** London, v. 59, n. 8, p. 713-721, ago. 2004.

VAZIRI, H. et al. ATM-dependent telomere loss in aging human diploid fibroblasts and DNA damage lead to the post-translational activation of p53 protein involving poly (ADP-ribose) polymerase. **The EMBO journal.** Eynsham, v. 16, n. 19, p. 6018-6033, out. 1997.

VON ZGLINICKI, T. Oxidative stress shortens telomeres. **Trends in biochemical sciences.** Amsterdam, v. 27, n. 7, p. 339-344, jul. 2002.

WATSON, J. D. Origin of concatemeric T7 DNA. **Nature: New biology.** London, v. 239, n. 94, p. 197-201, out. 1972.

WHITEMAN, H. Scientists find way to increase length of human telomeres. **Medical News Today**. Disponível em: <<http://www.medicalnewstoday.com/articles/288515.php>>. Acesso em: 23 nov. 2015.

XU, D. et al. Homocysteine accelerates endothelial cell senescence. **FEBS letters**. Amsterdam, v. 470, n. 1, p. 20-24, mar. 2000.

YAO, M. C.; BLACKBURN, E.; GALL J. Tandemly repeated C-C-C-C-A-A hexanucleotide of Tetrahymena rDNA is present elsewhere in the genome and may be related to the alteration of the somatic genome. **The Journal of cell biology**. New York, v. 90, n. 2, p. 515-520, ago. 1981.

YU B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiological reviews**. Washington, v. 74, n. 1, p. 139-162, jan. 1994.

YU, W. Y. et al. Short telomeres in patients with chronic schizophrenia who show a poor response to treatment. **Journal of psychiatry and neuroscience**. Ottawa, v. 33, n. 3, p. 244-247, maio 2008.

ZAHA, A. **Biologia molecular básica**, Porto. Alegre: Mercado Aberto, 2014.

ZGLINICKI, T.V. et al. Mild hyperoxia shortens telomeres and inhibits proliferation of fibroblasts: a model for senescence? **Experimental cell research**. New York, v. 220, n. 1, p. 186-193, set. 1995.

ZGLINICKI, T.V. et al. Accumulation of single-strand breaks is the major cause of telomere shortening in human fibroblasts. **Free Radical Biology and Medicine**. New York, v. 28, n. 1, p. 64-74, jan. 2000a.

ZGLINICKI, T.V. et al. Short telomeres in patients with vascular dementia: an indicator of low antioxidative capacity and a possible risk factor? **Laboratory investigation**. Baltimore, v. 80, n. 11, p. 1739-1747, nov. 2000b.