

## Telomere, telomeraza in prezgodnja odpoved jajčnikov

Telomeres, telomerase and premature ovarian failure

Renata Košir Pogačnik,<sup>1</sup> Nina Slabe,<sup>1</sup> Helena Meden Vrtovec<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 2, 1000 Ljubljana

<sup>2</sup> Ginekološka klinika, Univerzitetni Klinični center Ljubljana, Štajmerjeva 3, 1525 Ljubljana

### Korespondenca/ Correspondence:

prof. dr. Helena Meden Vrtovec, dr. med.  
Ginekološka klinika  
Univerzitetni klinični center  
Štajmerjeva 3, 1525 Ljubljana  
Tel: 01 522 38 84  
E-mail: helena.meden@kclj.si

### Ključne besede:

telomera, telomeraza, prezgodnja odpoved jajčnikov, reproduktivno staranje

### Key words:

telomere, telomerase, premature ovarian failure, reproductive senescence

### Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2011;  
80: 832–7

### Izvleček

Telomere so posebne strukture na koncu kromosomov, ki so sestavljene iz šestih ponavljajočih nukleotidov v zaporedju TTAGGG. Stabilnost genoma je delno odvisna od zgradbe telomer in se postopoma zmanjšuje zaradi krajšanja le-teh ob vsaki celični delitvi. Ko je dolžina telomer kritično kratka, celični mehanizmi spoznajo DNK kot okvarjeno in zaustavijo cikel celične delitve. Celica vstopi v fazo celične smrti oziroma apoptoze. Telomere zato tudi imenujemo celična mitotična ura. Encim, ki preprečuje krajšanje telomer z dodajanjem nukleotidov na 3'-konec DNK verige, se imenuje telomeraza. Sestavljena je iz podenote RNK (TR), ki je posebna oblika informacijske RNK (mRNK), iz katalitične beljakovinske podenote (TERT), ki deluje kot reverzna transkriptaza ter številnih povezovalnih beljakovin. Telomeraza je visoko aktivna v zarodnih, epitelijskih in hematopoetskih celicah, neaktivna pa v somatskih celicah. Dolžino telomer v literaturi vedno bolj povezujemo s prezgodnjo odpovedjo jajčnikov (POF). O POF govorimo, ko nastopi menopavza pri ženski, ki še ni dopolnila 40 let. Vzroki so lahko genetski, avtoimunski, iatrogeni ali če ne ugotovimo vzroka – idiopatski. V zadnjem času je mnogo raziskav, ki proučujejo povezavo med idiopatsko obliko POF, dolžino telomer in telomerazno aktivnostjo. Večinoma so ugotavljali, da imajo ženske s POF krajše telomere in nižjo telomerazno aktivnost kot zdrave ženske.

### Abstract

Telomeres are specialized structures at the ends of chromosomes, consisting of six repeated nucleotides in TTAGGG sequence. Genome stability is partly maintained by the architecture of telomeres and is gradually lost as telomeres progressively shorten with each cell replication. Critically shortened telomeres are recognized by DNA repair mechanisms as DNA damage and the cell replication cycle stops. The cell eventually dies or undergoes cell apoptosis. Telomere represents a cellular marker of biological age and are therefore also called cell mitotic clock. The enzyme that counteracts telomere shortening by adding nucleotides to the 3' end of DNA strand is called telomerase. It is composed of the RNA subunit (TR), which is special type of messenger RNA (mRNA), the catalytic protein subunit (TERT), which works as a reverse transcriptase and numerous additional proteins. Telomerase is active in some germline, epithelial and haemopoietic cells, but in most somatic cells the activity is undetectable. In literature, the length of telomeres is closely connected with premature ovarian failure (POF). POF is generally defined as the onset of menopause before the age of 40. The causes of disease are genetical, autoimmune, iatrogenic or if we cannot establish the cause – idiopathic. A lot of studies examined correlation between idiopathic POF, length of telomeres and telomerase activity. The studies mostly show that women with POF have shortened telomeres and decreased activity of telomerase as compared to healthy women.

Prispelo: 9. avg. 2010,  
Sprejeto: 26. okt. 2010

## Uvod

Življenje je odvisno od sposobnosti celic, da shranjujejo, obnavljajo in prevajajo genetski material, ki je potreben za nastanek in ohranjanje živih bitij. Dedna informacija se prenaša z materinske na hčerinsko celico ter iz ene generacije v drugo preko reproduktivnih celic organizma. Molekula DNK je sestavljena iz dveh polinukleotidnih verig, ki potekata antiparalelno in sta sestavljeni iz 4 različnih nukleotidnih podenot, purinov in pirimidinov. Verigi med seboj povezujejo vodikove vezi. Nukleotidne podenote na vsaki verigi so med seboj povezane v določeni smeri, s čimer vijajnica DNK pridobi dva različna konca, in sicer 5'-konec ter 3'-konec. Podvajanje genetskih informacij poteka tako, da se veriga DNK razpre, vsaka veriga pa se porabi kot osnova za nastanek nove komplementarne verige. Med nastajanjem komplementarne verige se sistem za podvajanje premika do konca vodilne verige, s čimer zmanjka prostora za nastajanje zadnjega začetnika RNK, na osnovi katerega nato nastane veriga DNK. V človeških celicah je ta problem rešen tako, da obstajajo značilna nukleotidna zaporedja, ki so vgrajena v strukturo, ki se imenujejo telomere. Telomere so predeli DNK na koncih linearnih kromosomov, za katere je značilno, da so sestavljeni iz značilno ponavljajočih se zaporedij nukleotidov. Njihova naloga je, da zaščitijo konce kromosomov pred uničenjem.

Obstoj končnih delov kromosomov je prvi omenil že Müller leta 1938.<sup>1</sup> Leta 1961 je Hayflick prepričljivo dokazal, da somatske celice niso nesmrtno, ampak imajo omejeno število delitev. Stopnjo, ko celice preidejo v obdobje staranja, imenujemo tudi Hayflickova meja in ponazarja obstoj znotrajceličnega mehanizma štetja delitev.<sup>2</sup> Prvi je leta 1971 prepoznal problem pri podvajanju genskega materiala je bil Rus Olovnikov. Trdil je, da se zaporedja DNK izgubijo v vsaki fazi podvajanja, dokler izguba zaporedij ne postane kritična, delitev celice pa se ustavi.<sup>3,4</sup> Leta 1972 je Watson pojav poimenoval »problem podvajanja koncev«. Leta 1978 sta Blackburn in Gall objavila, da imajo telomere preprosta ponavljajoča se zaporedja DNK, ki sestavljajo konce kromosomov. Za odkritje, kako so

kromosomi zaščiteni s telomerami, in odkritje telomerase so bili leta 2009 Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider in Jack W. Szostak nagrajeni z Nobelovo nagrado na področju medicine.

## Sestava in naloga telomer

Telomere predstavljajo značilno ponavljajoče se zaporedje nukleotidov na koncu linearnih kromosomov (Slika 1). Pri človeku je zaporedje zgrajeno iz šestih nukleotidov, TTAGGG, ki se ponavljajo na 3'-koncu molekule DNK. Dolžina telomer pri človeku je 8–15 kilobaznih parov.<sup>5,6</sup> Zaradi mehanizma dodajanja nukleotidov na 3'-konec je ta konec DNK vedno daljši kot 5'-konec. Tako ostane enovijačni konec DNK na 3'-koncu, ki se zavija navzad in tvori t-zanko. T-zanka predstavlja konec kromosoma z edinstveno zgradbo. Na telomerna zaporedja se vežejo različne regulatorne beljakovine, ki skupaj s telomernimi zaporedji tvorijo telomerni kompleks.<sup>7,8,9,10</sup> Telomerni kompleks omogoča, da celični popravilni mehanizmi normalne konce linearnih kromosomov ločijo od koncev naključno prelomljenih molekul DNK.<sup>11,12</sup> Telomerni kompleks zagotavlja stabilnost kromosomov, preprečuje njihovo encimsko razgradnjo, medsebojno zlepljanje koncev linearnih kromosomov, omogoča pa tudi normalno ločevanje kromosomov med procesom delitve celic.<sup>13,14</sup> Telomerna zaporedja sodelujejo tudi pri vzdrževanju pravilne strukture jedra, verjetno preko povezav z jedrnim matriksom.<sup>15</sup>

## Skrajševanje telomer

Dolžino telomer pri človeku merimo v levkocitih periferne krvi in je označevalec biološkega staranja celic. Posameznikova dolžina telomere je predhodno genetsko določena, vendar je odvisna tudi od drugih dejavnikov. Starejši ljudje imajo krajše telomere; starejši kot je oče ob rojstvu otroka, daljše so telomere pri otroku. Moški imajo krajše telomere kot ženske, verjetno zaradi različnih koncentracij estrogena.<sup>16,17</sup> Tudi oksidativni stres in vnetje hitreje skrajšujeta telomere.<sup>18</sup>

**Slika 1:** Telomere.

Telomere so ponavljajoče se zaporedje nukleotidov na koncu linearnih kromosomov.



Telomere somatskih celic se z vsako celično delitvijo skrajšajo za 30–200 baznih parov.<sup>19,20</sup> Vzrok za pojav krajšanja telomer je problem podvajanja koncev linearnih kromosomov, ki ga je Olovnikov opisal že leta 1973.<sup>4</sup> V replikaciji DNK sodeluje encim DNK polimeraza, ki katalizira združevanje nukleotidov v polinukleotide in deluje le v smeri od 5'-konca proti 3'-koncu. Na vodilni strani DNK polimeraza naredi komplementarno verigo DNK brez težav, saj deluje v smeri od 5'-konca proti 3'-koncu, medtem ko poteka replikacija na sledilni verigi v nasprotno smer. Na sledilno verigo se pripnejo manjši fragmenti RNK, ki delujejo kot zač-

etniki. Tako nastanejo Okazakijski fragmenti, ki jih DNK-polimeraza poveže in ustvari novo verigo DNK. Ker pa pred zadnjim fragmentom RNK zmanjka verige DNK, je zadnja RNK uničena z encimi, ki uničijo vse ostanke RNK na DNK. Tako se del telomere izgubi skozi vsak cikel replikacije na 5'-koncu sledilne verige. Pri krajšanju telomer sodeluje tudi encim eksonukleaza 5'-3', ki deluje sama ali kot sestavni del DNK-polimeraze in ima verjetno pomembno vlogo pri razgradnji začetnikov RNK na sledilni verigi.<sup>21,22</sup> Izguba telomernih zaporedij na 5'-koncu sledilne verige je večja, kot bi pričakovali, če bi prišlo do izgube telomernih zaporedij le zaradi problema podvajanja koncev linearnih kromosomov.<sup>23</sup> Raziskave *in vitro* so namreč pokazale, da so telomere zelo občutljive na oksidativni stres.<sup>24,25</sup> Krajšanje telomer zaradi prostih radikalov pojasni razliko med pričakovano izgubo dolžine ob delitvi zaradi problema podvajanja koncev linearnih kromosomov, kjer se izgubi približno 20 baznih parov, in dejanskim skrajšanjem telomere, ki predstavlja nekje 50–100 baznih parov. Stopnja krajšanja telomer je sorazmerna z dolžino 3' previsa in ni enaka v vseh celicah.<sup>26</sup> Vedno več je dokazov, da dolžina telomer določa proliferacijo celic, zato telomere imenujemo tudi celična mitotična ura.

**Sestava in naloga telomeraze**

Telomeraza je encim reverzna transkriptaza, ki ima ključno vlogo pri stabilnosti genoma. Ima edinstveno zmožnost, da katalizira številne matrične kopije in doda stotine nukleotidov na isti začetnik DNK. Z dodajanjem nukleotidnih zaporedij, ki jih sintetizira s pomočjo matrice RNK, podaljšuje 3' konec verige DNK.<sup>27,28</sup> V nasprotnem primeru bi se konec kromosoma skrajšal z vsako celično delitvijo. Telomeraza vsebuje svojo lastno matrico RNK, ki je del encimskega kompleksa in je komplementarna telomernemu zaporedju nukleotidov na vodilni verigi DNK. Uporaba te matrice dovoljuje encimu, da naredi številne kopije telomernih ponavljajočih se zaporedij in s tem vzdržuje nespremenjeno dolžino telomer kljub odsotnosti običajne matrice DNK.

Telomeraza je visoko aktivna pri zarodnih, epitelnih in hematopoetskih celicah, zaradi česar imajo te celice nespremenjeno dolžino telomer. Pri zrelih somatskih celicah pa aktivnost encima preneha, kar zagotovi omejeno število mitotičnih delitev in povzroča staranje celic.<sup>23,29,30</sup> Skrajšanje telomer na kritično dolžino privede do aktiviranja popravljalnih mehanizmov, ki ustavijo celični cikel in sprožijo staranje celice ali pa programirano celično smrt – apoptozo.<sup>31,32</sup> Staranje celic je v povezavi s tumor supresorskimi geni p53 in pRb oz. z njihovimi beljakovinami.<sup>33</sup> Le ob inaktivaciji tumor supresorskih genov p53 in pRb se proliferacija celic lahko nadaljuje.<sup>34</sup>

Telomeraza je zgrajena iz več podenot: podenote RNK (TR), katalitične beljakovinske podenote (telomerazna reverna transkriptaza, TERT) in številnih povezovalnih beljakovin.<sup>35-44</sup>

## Vpletenost telomer pri prezgodnji odpovedi jajčnikov (POF)

Prezgodnjo odpoved jajčnikov (POF) opredelimo kot trajno odsotnost menstrualnega cikla pri ženskah pred 40. letom starosti. Vzrokov za POF je več, vendar gre najpogosteje za idiopatsko POF.<sup>45</sup> Merila za postavitev diagnoze POF so amenoreja, ki traja 4 mesece ali več, ter dvakrat izmerjena vrednost serumskega folikel stimulirajočega hormona, ki je večja od 40 mIU/ml v razmiku enega ali več mesecev pri ženski, mlajši od 40 let. POF lahko glede na izvid biopsije jajčnikov razdelimo na dva tipa, in sicer na tip z disfunkcijo foliklov ter tip z izčrpanimi folikli.<sup>46</sup> Čeprav zmanjšanje števila jajčnih foliklov z višanjem starosti ženske pričakujemo, pa natančnega vzroka za zmanjšano delovanje jajčnikov pri mladih ženskah ne poznamo. Nepravilnosti v dolžini telomer in aktivnosti telomeraze v celicah granulose jajčnikov so lahko pokazatelji POF. Krajše telomere omejujejo mitotično aktivnost primordijalnih zarodnih celic v obdobju fetalnega razvoja in s tem omejujejo število vseh foliklov.<sup>47</sup> Različne raziskave, v katerih so preiskovali aktivnost telomeraze, dolžino

telomer in reproduktivno staranje človeka, so pokazale pozitiven in negativen vpliv aktivnosti telomeraze ter dolžine telomer na reproduktivno staranje.<sup>48,49,50</sup> Nenormalna homeostaza telomer je povezana s POF pri mladih ženskah.

Objavljenih je bilo kar nekaj raziskav, v katerih so potrdili, da imajo ženske s POF krajše dolžine telomer ter različno aktivnost telomeraze.<sup>6,51,52,53</sup> Leta 2000 je bila objavljena raziskava, v kateri so pokazali, da je telomeraza prisotna v ženskem jajčniku in da se aktivnost telomeraze z leti zmanjšuje. Bolnice s POF z disfunkcijo foliklov so imele visoko aktivnost telomeraze, medtem ko so imele bolnice s POF z izčrpanimi folikli zelo nizko aktivnost telomeraze. Na podlagi navedenih rezultatov so zaključili, da je zmanjšana aktivnost telomeraze v jajčnikih povezana s pomanjkanjem primordijalnih foliklov, ki se pojavi ob staranju. Tako bi aktivnost telomeraze lahko uporabili kot označevalec funkcionalne starosti jajčnikov.<sup>54</sup>

Vendar pa so leta 2009 objavili rezultate raziskave, ki je pokazala, da so imele bolnice s POF daljše telomere kot bolnice v kontrolni skupini brez POF. Večja dolžina telomer pri bolnicah s POF tako ne podpira hipoteze, da gre pri teh ženskah za pospešeno celično staranje. Ena izmed razlag povečane dolžine telomer je, da je posledica konstitucijsko in genetsko določene počasnejše delitve celic zaradi podaljšanega celičnega cikla. To lahko privede do zmanjšane zaloge foliklov med zgodnjim embrionalnim razvojem, manjšega števila celičnih delitev hematopoetičnih zarodnih celic ter tako do daljših telomer v celicah periferne krvi. Drug možen vzrok za daljše telomere pri POF so avtoimunske bolezni pri teh ženskah. Vendar je zaradi pomanjkanja raziskav, ki bi dokazovale vpliv avtoimunskih bolezni na dolžino telomer pri POF, to manj verjeten razlog.<sup>55,53</sup> Ker pa je bil vzorec preisovank v raziskavi iz leta 2000 majhen, razlika pa ni bila statistično značilna, so avtorji navedli, da raziskava ni dovolj povedna.<sup>56</sup>

Želimo si, da bi raziskave granuloznih celic jajčnika pripeljale do boljšega razumevanja reproduktivnih motenj na molekularni ravni. Z nadaljnjimi raziskavami želimo odkriti tarčne molekularne poti v celicah



granuloze jajčnika, ki bi lahko napovedale tveganje neplodnosti zaradi POF.

## Zaključek

Telomere so vpletene v biološko staranje in bolezenske procese. Raziskave kažejo, da sta krajšanje telomer in celično staranje povezano s fenotipskim staranjem.<sup>56</sup> Z izčrpanjem matičnih celic in s kopičenjem starajočih se celic lahko razložimo starostno oslABLJENO funkcijo organov. Da bi izvedeli še več o vlogi telomer pri staranju človeka in pešanju organov, potrebujemo večje kohortne raziskave populacij, pri katerih bi večkrat merili dolžino telomer in aktivnost telomeraz. Telomeraza je prisotna v celicah jajčnika, njena aktivnost pa se s starostjo niža. V nekaterih raziskavah so dokazali, da imajo ženske s prezgodnjo odpovedjo jajčnikov krajše telomere in nižjo telomerazno aktivnost kot zdrave ženske. Sklepamo, da je nižja telomerazna aktivnost povezana s starostnim zmanjšanjem števila primordialnih foliklov. Aktivnost telomeraze lahko uporabimo kot označevalec funkcionalne starosti jajčnika.<sup>40</sup> Če bi v prihodnosti dokazali, da je biologija telomer vzročno povezana s POF, bi ta lahko postala osnova za nove pristope pri zdravljenju.

## Literatura

- Muller HJ. The remaking of chromosomes. *The Collecting Net* 1938; 8: 182 – 195.
- Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961; 25: 585 – 621.
- Olovnikov AM. Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides. *Doklady Akademii Nauk SSSR* 1971; 201: 1496 – 9.
- Olovnikov AM. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol* 1973; 41: 181 – 90.
- Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature* 1991; 350: 569 – 73.
- Hastie ND, Dempster M, Dunlop MG, Thompson AM, Green DK, Allshire RC. Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature* 1990; 346: 866 – 8.
- Blackburn EH. Switching and signaling at the telomere. *Cell* 2001; 106: 661 – 73.
- Smogorzewska A, de Lange T. Regulation of telomerase by telomeric proteins. *Annu Rev Biochem* 2004; 73: 177 – 208.
- Cech TR. Beginning to understand the end of the chromosome. *Cell* 2004; 116: 273 – 9.
- De Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 2005; 19: 2100 – 10.
- Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, Stansel RM, Bianchi A, Moss H, et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell* 1999; 97: 503 – 14.
- Ferreira EN, Pires LC, Parmigiani RB, Bettoni F, Puga RD, Pinheiro DG, et al. Identification and complete sequencing of novel human transcripts through the use of mouse orthologs and testis cDNA sequences. *Genet Mol Res* 2004; 3: 493 – 511.
- Dahse R, Fiedler W, Ernst G. Telomeres and telomerase: biological and clinical importance. *Clin Chem* 1997; 43: 708 – 14.
- Lundblad V. DNA ends: maintenance of chromosome termini versus repair of double strand breaks. *Mutat Res* 2000; 451: 227 – 40.
- Luderus ME, van Steensel B, Chong L, Sibon OC, Cremers FF, de Lange T. Structure, subnuclear distribution and nuclear matrix association of the mammalian telomeric complex. *J Cell Biol* 1996; 135: 867 – 81.
- Kyo S, Takakura M, Kanaya T, Zhuo W, Fujimoto K, Nishio Y, et al. Estrogen activates telomerase. *Cancer Res* 1999; 59: 5917 – 21.
- Hunt SC, Chen W, Gardner JP, Kimura M, Srinivasan SR, Eckfeldt JH, et al. Leukocyte telomeres are longer in African Americans than in whites: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study and the Bogalusa Heart Study. *Aging Cell* 2008; 7: 451 – 8.
- De Meyer T, Rietzschel ER, De Buyzere ML, Van Criekinge W, Bekaert S. Studying telomeres in a longitudinal population based study. *Front Biosci* 2008; 13: 2960 – 70.
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 1990; 345: 458 – 60.
- Vaziri H, Schachter F, Uchida I, Wei L, Zhu X, Efron R, et al. Loss of telomeric DNA during aging of normal and trisomy 21 human lymphocytes. *Am J Hum Genet* 1993; 52: 661 – 7.
- Siegal G, Turchi JJ, Myers TW, Bambara RA. A 5' to 3' exonuclease functionally interacts with calf DNA polymerase epsilon. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9377 – 81.
- Makarov VL, Hirose Y, Langmore JP. Long G tails at both ends of human chromosomes suggest a C strand degradation mechanism for telomere shortening. *Cell* 1997; 88: 657 – 66.
- Oeseburg H, A. de Boer R, H. van Gilst W, Van der Harst P. Telomere biology in healthy aging and disease. *Eur J Physiol* 2010; 459: 259 – 68.
- Von Zglinicki T, Serra V, Lorenzi M, Saretzki G, Lenzen-Grossimlighaus R, Gessner R, et al. Short telomeres in patients with vascular dementia: an indicator of low antioxidative capacity and a possible risk factor? *Lab Invest* 2000; 80: 1739 – 47.
- Von Zglinicki T, Saretzki G, Döcke W, Lotze C. Mild hyperoxia shortens telomeres and inhibits proliferation of fibroblasts: a model for senescence? *Exp Cell Res* 1995; 220: 186 – 93.
- Huffman KE, Levene SD, Tesmer VM, Shay JW, Wright WE. Telomere shortening is proportional

- to the size of the 3'G-rich telomeric overhang. *J Biol Chem* 2000; 275: 19719 – 22.
27. Mitchell M, Gillis A, Futahashi M, Fujiwara H, Skordalakes E. Structural basis for telomerase catalytic subunit TERT binding to RNA template and telomeric DNA. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17: 513 – 8.
  28. Kilian A, Bowtell DD, Abud HE, Hime GR, Venter DJ, Keese PK, et al. Isolation of a candidate human telomerase catalytic subunit gene, which reveals complex splicing patterns in different cell types. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 2011 – 9.
  29. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 1990; 345: 458 – 60.
  30. Theimer CA, Feigon J. Structure and function of telomerase RNA. *Curr Opin Struct Biol* 2006; 16: 307 – 18.
  31. Preston JR. Telomeres, telomerase and chromosome stability. *Radiation Res* 1997; 147: 529 – 34.
  32. Karlseder J, Broccoli D, Dai Y, Hardy S, de Lange T. p53- and ATM-dependent apoptosis induced by telomeres lacking TRF2. *Science* 1999; 283: 1321 – 5.
  33. Busuttill RA, Dollé M, Campisi J, Vijga J. Genomic instability, aging, and cellular senescence. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1019: 245 – 55.
  34. Bodnar AG, Quelling M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, et al. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 1998; 279: 349 – 52.
  35. Wyatt HD, West SC, Beattie TL. InTERTpreting telomerase structure and function. *Nucleic Acids Res.* 2010; 38: 5609-22.
  36. Luzar B, Gale N, Cör A. Telomere in telomeraza pri človeku – zgradba, funkcija in vloga v procesu kancerogeneze. *Med Razgl* 2000; 39: 271 – 9.
  37. Chen JL, Blasco MA, Greider CW. Secondary structure of vertebrate telomerase RNA. *Cell* 2000; 100: 503 – 14.
  38. Theimer CA, Feigon J. Structure and function of telomerase RNA. *Curr Opin Struct Biol* 2006; 16: 307 – 18.
  39. Chen JL, Greider CW. Template boundary definition in mammalian telomerase. *Genes Dev* 2003; 17: 2747 – 52.
  40. Autexier C, Pruzan R, Funk WD, Greider CW. Reconstitution of human telomerase activity and identification of a minimal functional region of the human telomerase RNA. *EMBO J* 1996; 15: 5928–35.
  41. Tesmer VM, Ford LP, Holt SE, Frank BC, Yi X, Aisner DL, et al. Two inactive fragments of the integral RNA cooperate to assemble active telomerase with the human protein catalytic subunit (hTERT) in vitro. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 6207–16.
  42. Gillis AJ, Schuller AP, Skordalakes E. Structure of the *Tribolium castaneum* telomerase catalytic subunit TERT. *Nature* 2008; 455: 633–7.
  43. Mitchell M, Gillis A, Futahashi M, Fujiwara H, Skordalakes E. Structural basis for telomerase catalytic subunit TERT binding to RNA template and telomeric DNA. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17: 513–8.
  44. Holt SE, Aisner DL, Baur J, Tesmer VM, Dy M, Ouellette M, et al. Functional requirement of p23 and Hsp90 in telomerase complexes. *Genes Dev* 1999; 13: 817–26.
  45. Keefe DL, Marquard K, Liu L. The telomere theory of reproductive senescence in women. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006; 18: 280 – 5.
  46. Anasti JN. Premature ovarian failure: an update. *Fertil Steril* 1998; 70: 1 – 15.
  47. Dorland M, van Kooij RJ, te Velde ER. General ageing and ovarian ageing. *Maturitas* 1998; 30: 113 – 8.
  48. Aydos SE, Elhan AH, Tükün A. Is telomere length one of the determinants of reproductive life span? *Arch Gynecol Obstet* 2005; 272: 113 – 6.
  49. Keefe DL. Telomeres and meiosis in health and disease. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64: 115 – 6.
  50. Butts S, Riethman H, Ratcliffe S, Shaunik A, Couatifaris C, Barnhart K. Correlation of Telomere Length and Telomerase Activity with Occult Ovarian Insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 4835 – 43.
  51. Slagboom PE, Droog S, Boomsma DI. Genetic determination of telomere size in humans: a twin study of three age groups. *Am J Hum Genet* 1994; 55: 876 – 82.
  52. Benetos A, Okuda K, Lajemi M, Kimura M, Thomas F, Skurnick J, et al. Telomere length as an indicator of biological aging: the gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity. *Hypertension* 2001; 37: 381 – 5.
  53. Hanna CW, Bretherick KL, Gair JL, Fluker MR, Stephenson MD, Robinson WP. Telomere length and reproductive aging. *Human Reproduction* 2009; 24: 1206 – 11.
  54. Kinugawa C, Murakami T, Okamura K, Yajima A. telomerase activity in normal ovaries and premature ovarian failure. *Tohoku J Exp Med* 2000; 190: 231 – 8
  55. Jeanclos E, Krolewski A, Skurnick J, Kimura M, Aviv H, Warram JH, et al. Shortened telomere length in white blood cells of patients with IDDM. *Diabetes* 1998; 47: 482 – 6.
  56. Karlseder J, Smogorzewska A, de Lange T. Senescence induced by altered telomere state, not telomere loss. *Science* 2002; 295: 2446 – 9.