



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

BASES MOLECULARES DE LA PROGERIA

Trabajo de Fin de Grado de Medicina

Arturo Araujo Varela
Curso 2017-2018

Tutora: María Teresa Alonso Alonso
*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y
Fisiología*

ÍNDICE

Resumen.....	1
1. Introducción	1
2. Fenotipo y fisiopatología	3
3. Láminas nucleares: bioquímica, funciones y vínculo con la enfermedad	4
4. El HGPS está causado por la expresión de una forma mutante de la lámina A, la progerina.....	7
5. Modelos de ratón de HGPS.....	9
6. Mecanismos moleculares y celulares que contribuyen a las patologías del HGPS	9
6.1. Defectos en la mecanotransducción	11
6.2. Cambios epigenéticos.....	11
6.3. Defectos en la reparación del DNA e inestabilidad genómica.....	12
6.4. Desregulación de las vías de señalización	14
6.5. Acortamiento de los telómeros	15
6.6. Regulación alterada de células madre adultas.....	16
6.7. Mecanismos del HGPS mediados por la matriz extracelular	16
7. Estrategias terapéuticas para el HGPS	17
8. Observaciones finales.....	20
9. Bibliografía	21

Bases moleculares de la Progeria

Palabras clave: envejecimiento, laminopatías, lámina nuclear, progerina, inestabilidad genómica, senescencia

Resumen

El Síndrome de Progeria de Hutchinson-Gilford (HGPS) es una enfermedad genética extremadamente rara que causa un envejecimiento prematuro semejante en algunos aspectos al proceso de envejecimiento normal. Los pacientes con HGPS mueren antes de alcanzar los 20 años debido a problemas cardiovasculares e insuficiencia cardíaca. El HGPS se asocia a una mutación en el gen *LMNA*, que codifica a la lámina A, una proteína de tipo filamento intermedio. La mutación *LMNA* más común relacionada con el HGPS da lugar a un corte y empalme (*splicing* en inglés) incorrecto del mRNA y produce una proteína mutante de la lámina A llamada progerina, y esta afecta a las propiedades de la envoltura nuclear. La expresión de progerina afecta a muchos procesos celulares importantes que proporcionan información sobre los posibles mecanismos de la enfermedad. Estos incluyen desorganización de la cromatina e inestabilidad genómica, y alteraciones en algunas de las vías señalización cruciales como la mecanotransducción,. Todo lo anterior conduce a la regulación aberrante de las células madre adultas, la producción defectuosa de la matriz extracelular y la senescencia celular prematura. En esta revisión, se discuten estas vías y su posible contribución a las patologías de la enfermedad, así como las estrategias terapéuticas utilizadas actualmente en los estudios preclínicos y clínicos.

1. Introducción

El término progeria proviene del griego *pro* (hacia, a favor de) y *geron* (viejo), es decir, envejecer prematuramente. El síndrome de Hutchinson-Gilford (HGPS), también conocido como progeria infantil, es un trastorno genético extremadamente raro, que afecta a 1 de 4 millones de recién nacidos con una prevalencia de 350-400 niños afectados en todo el mundo, caracterizado por un envejecimiento prematuro que comienza en la infancia, tal y como se puede ver en la **Figura 1** (1). Debe su nombre a los médicos Jonathan Hutchinson y Hastings Gilford, que la describieron por primera vez en 1886 (2,3).

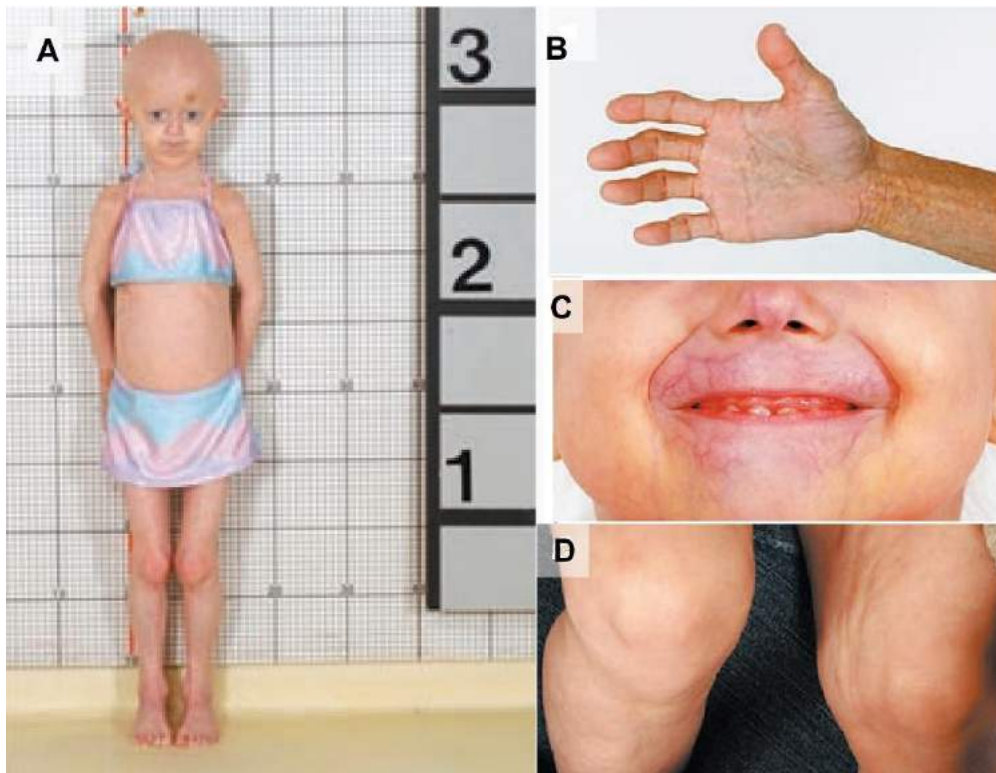


Figura 1. Hallazgos físicos en niños con síndrome de HGPS

A) Paciente de 7 años con estatura baja, alopecia y envejecimiento prematuro. **B)** Formación anómala de los dedos y contracturas de la articulación de la falange. **C)** Cianosis perioral. **D)** Hoyuelos en la pierna izquierda que muestran la pérdida de grasa subcutánea. Figura modificada de la Ref. 4.

El envejecimiento es un proceso natural en los seres vivos que se caracteriza por una disminución progresiva de las funciones celular y tisular. A nivel molecular y celular, se han propuesto nueve factores que participan en el envejecimiento, un proceso extremadamente complejo y multifactorial: la inestabilidad genómica y los defectos en la arquitectura nuclear; el desgaste de los telómeros; las alteraciones epigenéticas y la remodelación de la cromatina, la pérdida de proteostasis (homeostasis de proteínas), detección de nutrientes desregulada, disfunción mitocondrial, senescencia celular, agotamiento de la reserva de células madre y comunicación intercelular aberrante (5).

En las últimas dos décadas, el síndrome HGPS ha atraído una gran atención no solo por la gravedad de la enfermedad, sino también por la hipótesis de que la expresión de la variante de la lámina A causante de la enfermedad, llamada progerina, también puede estar relacionada con el proceso de envejecimiento normal. La forma más común de HGPS presenta una mutación puntual silenciosa en el gen *LMNA* que afecta al *splicing* del mRNA de prelámina A y conduce a la producción de la progerina (6,7). El uso esporádico del mismo sitio de *splicing* crítico en el mRNA de *LMNA* de tipo

salvaje puede conducir a la producción de mRNA de prelámina A erróneo y de esa forma progerina en células y tejidos de individuos sanos (8,9). Además, el HGPS y el envejecimiento normal comparten muchos fenotipos celulares, como la forma anormal del núcleo, las alteraciones epigenéticas y el aumento del daño del DNA, así como otras patologías tisulares como una densidad ósea reducida o la enfermedad cardiovascular (10).

Existe un gran número de enfermedades progéricas que pueden agruparse en distintas familias, según la función del gen mutado. Las enfermedades más conocidas se relacionan con mutaciones en los genes que codifican láminas o enzimas que las procesan e incluyen el propio síndrome HGPS (6) y la dermatopatía restrictiva (11). Una segunda familia está relacionada con mutaciones en genes que codifican sistemas de reparación del DNA, lo que sugiere que el mantenimiento de la integridad del genoma tiene un papel crucial en el envejecimiento humano (12). Una mejor comprensión de la patogénesis molecular que subyace a los síndromes progeroides puede conducir a una mejor comprensión del proceso normal de envejecimiento humano. En esta revisión, se resumen las alteraciones genéticas de las láminas en el síndrome HGPS y sus consecuencias estructurales y funcionales. También se describen posibles mecanismos causales de la enfermedad y cómo pueden contribuir a los fenotipos celulares, tisulares y organismales. Finalmente, se resumen brevemente las posibles estrategias para el tratamiento del HGPS.

2. Fenotipo y fisiopatología

Los niños con HGPS parecen normales al nacer, pero comienzan a exhibir muchas características clínicas en el primer año de vida. Los síntomas clásicos de la progeria incluyen: retraso severo del crecimiento, pérdida de cabello y grasa subcutánea, ojos y venas del cuero cabelludo prominentes, piel envejecida, rigidez articular y densidad ósea reducida (13). A medida que los niños crecen, sufren de osteoporosis, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares. Los pacientes con HGPS mueren a una edad promedio de 14,6 años debido a infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca o aterosclerosis progresiva (14–16).

Los pacientes con HGPS desarrollan una apariencia progeroide muy característica. Son pequeños, no llegando la mayoría al 1,2 m de estatura o 30 kg de peso.

Comparados a los pares de la misma edad, estos pacientes presentan una tasa de aumento de peso lineal y disminuida que retiene el crecimiento (16). Los pacientes con HGPS también presentan características craneofaciales distintivas, desarrollando micrognatia, ojos prominentes y nariz de pico (16).

El HGPS es una “enfermedad de envejecimiento segmentaria”, ya que algunas características del envejecimiento normal están presentes mientras que otras están totalmente ausentes. El hígado, los riñones, los pulmones y el tracto gastrointestinal normalmente son competentes en estos pacientes (13,16). Los problemas más importantes de los pacientes con HGPS, y por los cuales acaban muriendo, son las complicaciones cardiovasculares. Los pacientes desarrollan una arteriosclerosis severa y progresiva, que finalmente lleva a una isquemia cardiaca, el infarto y los accidentes cerebrovasculares (13).

La arteriosclerosis que se desarrolla en los pacientes con HGPS tiene algunas diferencias importantes con la de población anciana normal, aunque en ambas se presentan calcificaciones, inflamación, y rotura de la placa. Los pacientes con HGPS no desarrollan hipercolesterolemia ni un aumento de proteína C reactiva en suero, habituales en la población normal con enfermedad cardiovascular (17).

Es interesante reflejar que los pacientes tienen una cognición normal y no muestran pérdidas de memoria o cognitivas a menudo asociadas con el envejecimiento normal (13). Este descubrimiento puede ser explicado porque la expresión de la lámina A está regulada en el cerebro por un microRNA, el miR-9, que impide así una expresión significativa de progerina en las células y tejidos neuronales (18). Aun así, muchos pacientes con HGPS tienen síntomas neurológicos como dolores de cabeza, debilidad muscular, o convulsiones como resultado del trastorno vascular y el flujo sanguíneo anormal (13).

3. Láminas nucleares: bioquímica, funciones y vínculo con la enfermedad

Las láminas son proteínas filamentosas intermedias de tipo V expresadas en todos los metazoos. Son los principales componentes de la envoltura nuclear, una compleja red filamentososa debajo de la membrana nuclear interna (MNI) (19). La familia de proteínas de las láminas posee algunos motivos y dominios específicos en el extremo Carboxilo-

terminal, como una señal de localización nuclear, un motivo similar al de las inmunoglobulinas altamente conservado y en la mayoría de los casos una caja CAAX (C = cisteína, a = residuo alifático, X = cualquier aminoácido) (19). Las láminas se clasifican en tipo A y B. Las láminas de tipo B se expresan durante el desarrollo, mientras que las láminas de tipo A se expresan débilmente o no lo hacen en absoluto en etapas embrionarias tempranas y en células madre embrionarias, pero se regulan a lo largo del desarrollo postnatal (19). En mamíferos, los genes *LMNB1* y *LMNB2* codifican las dos principales láminas de tipo B. Las láminas de tipo A derivan de un único gen, el *LMNA*, que mediante *splicing* alternativo, da lugar a las dos isoformas A principales (las láminas A y C, una variante más pequeña) y dos isoformas menos abundantes, la lámina C2 específica de células germinales y la lámina A Δ 10 (idéntica a la lámina A pero sin el exón 10) (19).

Las láminas son componentes estructurales que proporcionan soporte mecánico para el núcleo (19). Los estudios recientes han demostrado que las láminas definen las propiedades mecánicas del núcleo; la lámina A es responsable de la rigidez nuclear y la lámina de B de la elasticidad nuclear. Además de su papel estructural, las láminas participan en otras funciones, como la organización de la cromatina, la regulación genética, la reparación del DNA o la señalización (19,20).

Los primeros tres pasos de procesamiento, que se pueden ver en la **Figura 2**, son comunes para las láminas de tipo B y A e incluyen la adición de un grupo farnesilo al residuo de cisteína C-terminal por la farnesiltransferasa (FTasa) seguida de la escisión del tripéptido -aaX por las proteasas FACE1/ZMPSTE24 o FACE2/Rce1 y la carboximetilación del residuo de cisteína farnesilado por la isoprenil-cisteína carboximetiltransferasa (ICMT). El procesamiento de láminas de tipo B se detiene en este paso, dando como resultado la lámina madura B con un grupo farnesilo y carboximetilo C-terminal. El grupo hidrofóbico farnesilo tiene una interacción fuerte con la membrana nuclear interna, lo que lleva a la localización de las láminas de tipo B en la periferia nuclear. Por el contrario, la prelámina A farnesilada sigue procesándose mediante la acción de la proteasa ZMPSTE24, que elimina los 15 aminoácidos C-terminales, incluidos los residuos de cisteína farnesilados y carboximetilados. Como consecuencia, la lámina A madura carece del grupo farnesilo hidrofóbico y, por lo tanto, se localiza en la periferia del núcleo asociada con la membrana nuclear interna, aunque también pueden localizarse en el interior nuclear (19).

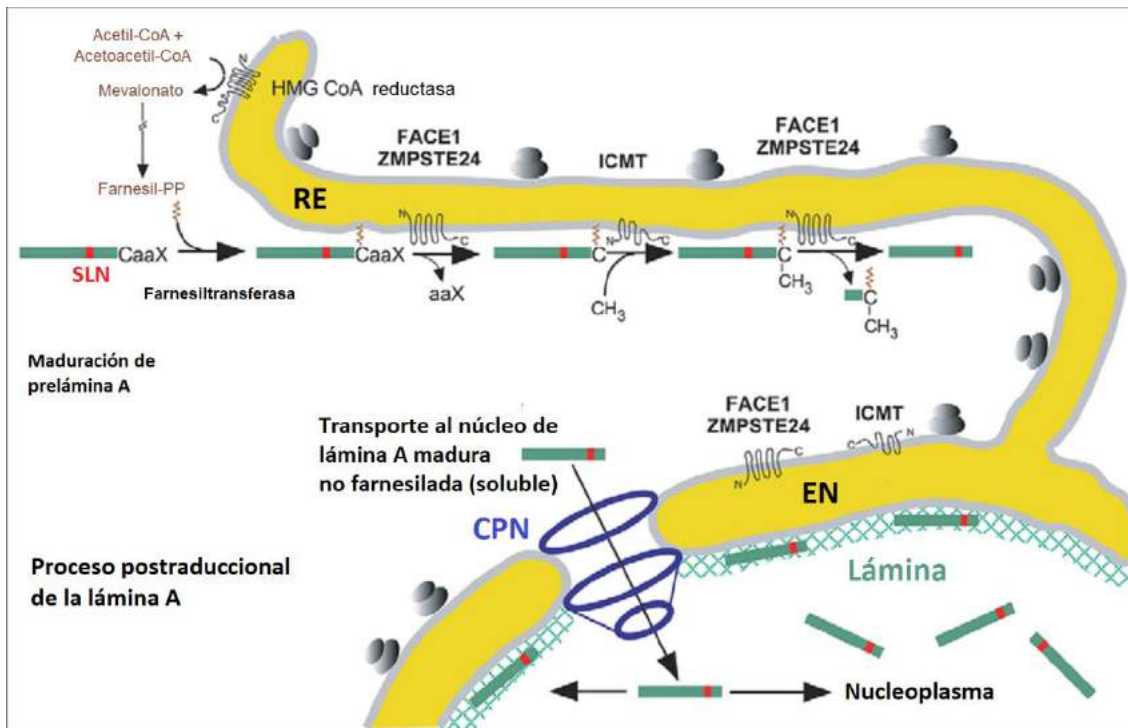


Figura 2. Proceso postraduccional de la lámina A

La prelámina A se modifica mediante una serie de cuatro modificaciones postraduccionales secuenciales: farnesilación por una farnesiltransferasa citosólica en la cisteína C-terminal que pertenece a la caja CaaX; una endoproteólisis de los tres últimos residuos -aaX por una metaloproteasa insertada en la membrana del retículo endoplásmico (RE); una carboximetilación de la cisteína terminal farnesilada por otra enzima del RE, la isoprenilcisteína-carboxil-metil-transferasa (ICMT). La farnesilación de la prelámina A permite la inserción del grupo farnesilo en la membrana del RE. La prelámina A farnesilada se procesa primero por la metaloproteasa FACE1/ZMPSTE24, que elimina los tres residuos finales -aaX; y luego mediante la ICMT. Finalmente, un segundo corte de FACE1/ZMPSTE24 libera la lámina madura al citosol. La lámina A se transporta al nucleoplasma a través del complejo del poro nuclear (CPN) usando la señal de localización nuclear de la lámina A (SLN). La lámina madura A se encuentra tanto en la envoltura nuclear como en el resto del nucleoplasma. La enzima FACE1/ZMPSTE24 no puede realizar el segundo corte en la progerina, debido a la eliminación de los 50 residuos donde se encuentra el punto de corte. La progerina por lo tanto mantiene su grupo farnesilo y permanece anclada en la membrana del RE, y luego en la envoltura nuclear (EN). La progerina probablemente se transporta al nucleoplasma como en el caso de las láminas B, que también permanecen farnesiladas. Figura modificada de la Ref. 12

Dada la multitud de funciones de las láminas, no es sorprendente que las mutaciones en las láminas y en las proteínas de unión a la lámina estén asociadas con una variedad de enfermedades humanas que exhiben patrones complejos de patologías específicas de tejidos (21). La mayoría de las enfermedades están causadas por mutaciones en el gen *LMNA* y se denominan colectivamente laminopatías. Hasta hoy se han descrito más de 500 mutaciones en el gen *LMNA* (<http://www.umd.be/LMNA>) (22) que muestran patologías superpuestas.

4. El HGPS está causado por la expresión de una forma mutante de la lámina A, la progerina

El síndrome de Hutchinson-Gilford (HGPS) es un trastorno genético autosómico dominante esporádico. En 2003, dos laboratorios identificaron simultáneamente y de forma independiente la mutación en el gen *LMNA* que causa el HGPS (6,7). El HGPS está causado por una mutación heterocigota *de novo* en la base citosina en posición 1824 de la secuencia nucleotídica a una timina, (1824C> T, p.G608G). Esta sustitución situada en el exón 11 del gen *LMNA*, activa un sitio alternativo de *splicing* críptico, que genera una delección interna de 150 pares de bases, como se puede ver en la **Figura 3**.

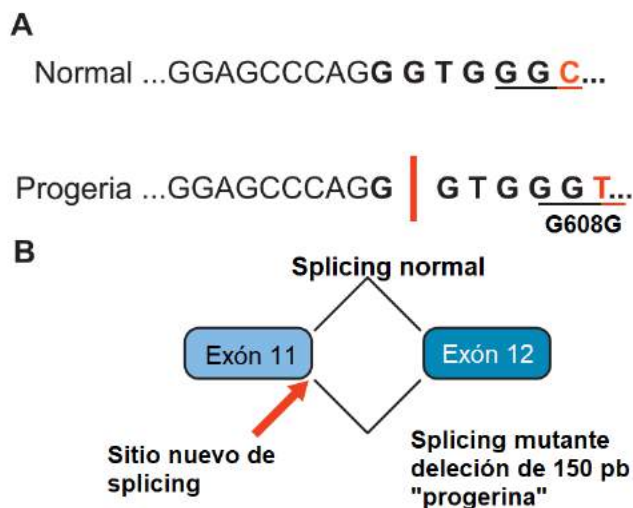


Figura 3. Mutación del gen *LMNA* en el HGPS

A) Secuencia parcial de DNA en el *LMNA* normal y en el de la progeria. La secuencia en negrita representa el sitio de *splicing* críptico. El codón para la glicina está subrayado y la mutación (C>T) se muestra en rojo. La línea roja vertical representa el punto de *splicing* usado en la progeria. **B)** representación del *splicing* mutante que da como resultado una delección de 50 aminoácidos de la lámina A, formándose así la progerina. Figura modificada de la Ref. 16

La transcripción de este gen de lámina A mutante genera una proteína aberrante denominada progerina, que posee una delección de 50 aminoácidos en el extremo C-terminal, el cual incluye el sitio de reconocimiento y corte de la proteasa ZMSPT24 (7). Como consecuencia, la progerina no está sujeta al paso de procesamiento proteolítico final y retiene permanentemente el grupo farnesilo en el extremo C-terminal, lo que lleva a su asociación estable con la membrana nuclear interna y su localización predominante en la periferia nuclear.

Aunque la mutación c.1824C>T es la más frecuente en los pacientes con HGPS, se han identificado otras mutaciones en el gen *LMNA* responsables de un aumento del uso del sitio de *splicing* críptico. Diferentes estudios señalan que la cantidad de progerina determina la severidad de la sintomatología de la enfermedad (23,24). Además de la clásica mutación 1824C> T del HGPS, también se han descubierto otras

mutaciones heterocigotas, homocigotas o heterocigotas compuestas en el gen *LMNA*, todas ellas causantes de síndromes progeroides atípicos. Estas patologías afectan a los mismos tejidos (hueso, piel, cabello y grasa corporal) y causan patologías similares (retraso del crecimiento, alopecia, piel tensa y nariz picuda) a los del HGPS, pero el curso y la gravedad de sus síntomas varían enormemente (25). También se han encontrado mutaciones en el gen que codifica la enzima *FACE*, que conducen a la pérdida completa de la función de la proteasa ZMPSTE24 y la consiguiente acumulación de prelámina A farnesilada, causantes de la dermatopatía restrictiva autosómica recesiva, un síndrome progeroide asociado con la muerte neonatal (11).

Al igual que muchas otras proteínas, las láminas sufren modificaciones postraduccionales que alteran su función. Entre estas se encuentran la fosforilación y la sumoilación. La primera se ha descrito por la enzima CDK1 (quinasa dependiente de ciclina 1) que facilita el desensamblaje de los filamentos laminares y la rotura de la envoltura nuclear en la etapa premitótica (26). Resultados experimentales en las células de HGPS, han mostrado que la fosforilación de la serina en posición 22 (S22) por la CDK1 durante la interfase está reducida, y los inhibidores de la prenilación pueden revertir este defecto (27). Por otra parte, impidiendo la fosforilación de la lámina A/progerina por inhibidores del CDK se acelera la senescencia de los fibroblastos de HGPS. Un segundo tipo de modificación postraducciona, la sumoilación, consiste en la adición covalente de un pequeño polipéptido modificador de tipo ubiquitina (small ubiquitin-like modifier, SUMO). La lámina A sufre sumoilación en la lisina K201 por la enzima SUMO E2 Ubc9 (28). La sumoilación es importante para la localización adecuada de la lámina A en el núcleo. Se ha encontrado que varias mutaciones de la lámina A como K201R, E203G, o E203K, encontradas en algunas cardiomiopatías poseen una sumoilación reducida y muestran un patrón de localización alterado, con la lámina A mutada acumulada en parches cerca de la periferia nuclear, en vez de un patrón continuo. Esto se acompaña de una senescencia celular acelerada. Estos resultados apoyan la idea de una importante función de la sumoilación en la localización y la función de la lámina A.

En general estos estudios demuestran que la lámina A sufre una variedad de modificaciones postraduccionales que son importantes para su adecuada localización y funcionamiento. Las alteraciones en estas modificaciones provocan fenotipos inducidos por la progerina.

5. Modelos de ratón de HGPS

Con el objetivo de abordar el estudio de los mecanismos moleculares involucrados en el síndrome HGPS, se han creado varios modelos de ratón progeroide. Uno de los primeros modelos se generó mediante la activación de un alelo *Lmna* mutante (*Lmna*^{HG}) que produce exclusivamente progerina pero no lámina A/C de tipo salvaje (29). Este modelo de ratón knock-in mostraba un fenotipo similar al de los niños con HGPS, incluía síntomas como la alopecia (pérdida de cabello) y la pérdida de grasa subcutánea, osteoporosis y muerte prematura, aunque no se encontraron defectos cardiovasculares. Otro modelo de ratón transgénico creado introduciendo el alelo *LMNA* humano G608G mutado en un cromosoma bacteriano artificial (G608G BAC) desarrolla una pérdida progresiva de células de músculo liso vascular, característica descrita también en pacientes con HGPS, aunque no mostró la mayor parte las otras patologías (30). Un tercer modelo de ratón, en el que una mutación puntual en el gen *Lmna* causó la pérdida del exón 9 (*Lmna*^{L530P / L530P}, también conocido como *Lmna*Δ9), también mostró un fenotipo similar al HGPS, aunque el mecanismo involucrado en este caso todavía no se ha elucidado y puede diferir del HGPS clásico (31).

Estos modelos transgénicos no reproducen completamente las alteraciones moleculares que ocurren en el locus del *LMNA* en pacientes con HGPS. Por lo tanto, se creó una línea de ratón knock-in que porta una mutación en el gen *Lmna* del ratón (1827C> T; G609G), que es equivalente a la mutación del HGPS (1824C> T; G608G); y produce progerina debido al *splicing* anormal del mRNA de *Lmna* endógeno, análogamente a lo que ocurre en los pacientes con HGPS (32). Estos ratones abren nuevas vías hacia la investigación del *splicing* en el HGPS y la identificación de fármacos que pueden corregir esta alteración.

6. Mecanismos moleculares y celulares que contribuyen a las patologías del HGPS

Se ha demostrado que las mutaciones causantes del HGPS afectan a muchos procesos celulares fundamentales, pero no se comprende completamente cómo estos contribuyen a las patologías descritas. En la mayoría de los casos, no conocemos los detalles sobre los mecanismos moleculares involucrados en la cascada de la expresión

de la progerina y cómo esta puede dar lugar al fenotipo del HGPS. Sin embargo, en base a lo que se conoce acerca de la función normal de la lámina A/C y la bioquímica de la progerina, se pueden formular hipótesis sobre posibles vías y mecanismos que se detallan a continuación, y se pueden ver en la **Figura 4**.

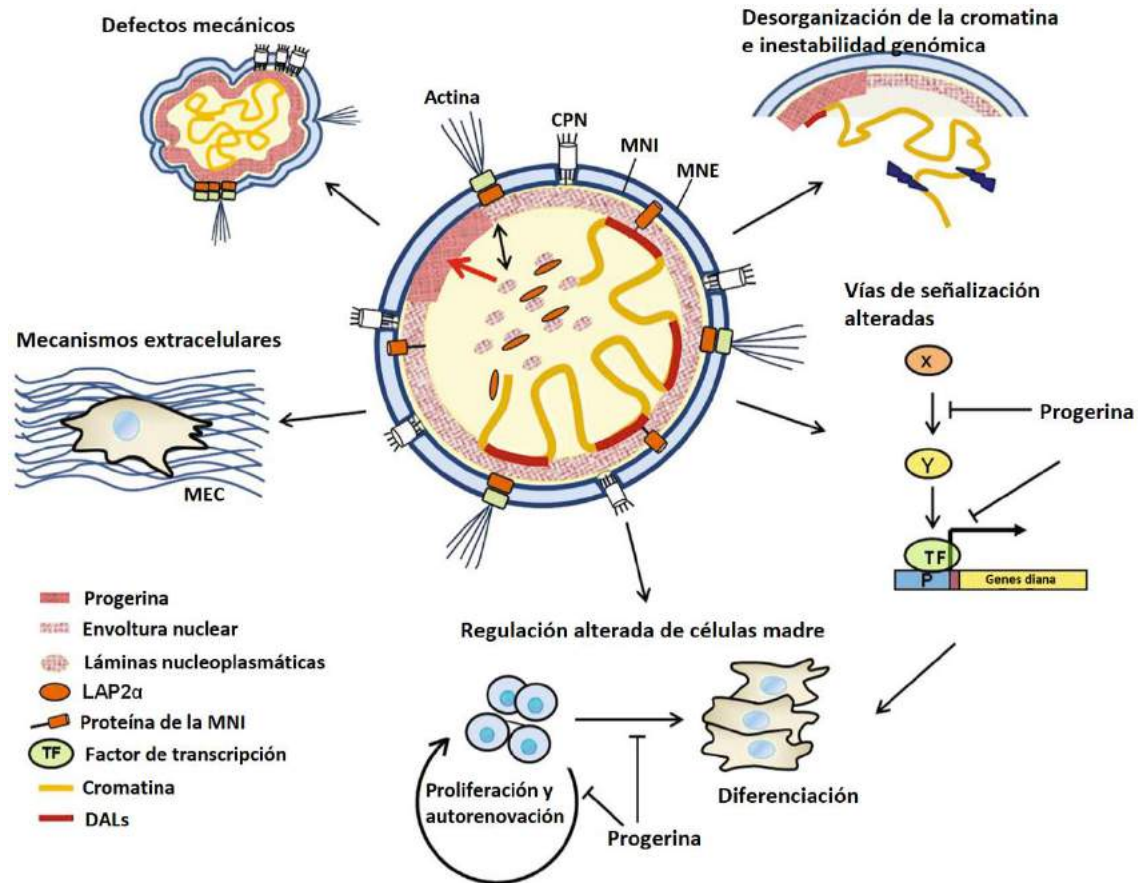


Figura 4. Funciones celulares y moleculares alteradas en las células que expresan progeria

La progerina se acumula en la envoltura nuclear y tiene un efecto dominante negativo, que lugar a niveles reducidos de lámina A/C nucleoplásmica, LAP2α. Estos cambios en las propiedades de la lámina afectan a las propiedades estructurales, conducen a la disociación de dominios asociados a la lámina (DALs) en el genoma y alteran las vías de señalización y expresión génica. Todo ello contribuye a defectos en la autorrenovación y diferenciación de células madre, la producción de una matriz extracelular (MEC) defectuosa y a la senescencia celular prematura. Figura modificada de la Ref. 52

La progerina se expresa en múltiples tejidos, principalmente de origen mesenquimal, que incluyen la piel, el hueso, el músculo esquelético, el tejido adiposo, el corazón y las arterias (1). La expresión de progerina tiene un efecto dominante negativo que induce varios defectos celulares como: una disfunción mitocondrial, unos núcleos muy lobulados con la envoltura engrosada, una pérdida de heterocromatina periférica, diferentes defectos de reparación del DNA, un *splicing* alternativo defectuoso, un acortamiento acelerado de los telómeros y la expresión génica desregulada, que

conduce a defectos en la diferenciación celular y a la senescencia celular prematura (33–39).

6.1. Defectos en la mecanotransducción

Se cree que la presencia del grupo farnesilo en la lámina A produce el principal efecto pernicioso de la patogénesis de la enfermedad. La acumulación de progerina en la membrana nuclear interna durante el envejecimiento de las células del HGPS conduce a la inmovilización de lámina A de tipo salvaje en la envoltura nuclear, lo que provoca su engrosamiento y el aumento de su rigidez, adquiriendo una forma polilobulada y un incremento del número de los poros nucleares (33). En general, estas alteraciones alteran la integridad estructural y funcional de la envoltura nuclear y pueden hacer que las células sean más susceptibles al daño a través del estrés mecánico (40). Estudios recientes han demostrado un efecto dosis-dependiente de la cantidad de progerina expresada en fibroblastos normales y la penetrancia del fenotipo del HGPS (41). Esto sugiere que la reducción de los niveles de progerina por debajo de un umbral mínimo podría ser suficiente para reducir la severidad del fenotipo.

La mecanotransducción es un mecanismo mediante el cual las células se ajustan a los cambios en la carga mecánica ejercida por su entorno en parte activando vías específicas de expresión génica (37). Mientras que la estimulación mecánica en células no patológicas induce señales proliferativas, las células del HGPS carecen de este tipo de respuesta. Estas respuestas diferentes al estrés pueden explicar los efectos específicos de tejido de la progerina. Así, por ejemplo, tejidos sometidos a niveles elevados de estrés mecánico como son el hueso, el músculo esquelético, el corazón, o los vasos sanguíneos, pueden verse especialmente afectados por la expresión de progerina. (37).

6.2. Cambios epigenéticos

Se ha observado que la expresión de progerina produce alteraciones en la arquitectura global de la cromatina producidas por la modificación de histonas, mediante la metilación o acetilación, o la propia metilación del DNA. Concretamente, en el HGPS, se ha descrito una reducción de represores transcripcionales como son algunos tipos de histonas modificadas o proteínas asociadas a ellas. Entre las primeras, destacan, por ejemplo, la histona H3 trimetilada (me3) en las lisinas (K) en las posiciones 9 (H3K9me3) (8,34). Es interesante que estos cambios de la cromatina se observan en células de individuos ancianos, lo que indicaría su implicación en el envejecimiento

fisiológico (8). Los cambios en H3K27me3 se correlacionan con la regulación positiva de genes que normalmente se expresan poco y con la regulación negativa de genes altamente expresados, una tendencia que se observa en las células HGPS senescentes (36).

Recientemente, la desregulación de H3K27me3 en células HGPS se ha relacionado con la interacción alterada de la progerina con el polipéptido- α asociado a la lámina (LAP2 α) (42). Esta proteína se une de forma fuerte a la lámina A, facilitando la interacción de la lámina A con la eucromatina. Las células con déficit de LAP2 α muestran una unión reducida de las láminas A/C a dominios eucromáticos. En contraste, la progerina interactúa pobremente con el LAP2 α , y la expresión de progerina reduce drásticamente los niveles celulares de LAP2 α (39). Esto se acompaña de niveles reducidos de H3K23me3 y defectos proliferativos, que se corrigen aumentando los niveles de LAP2 α (39,41). Estudios recientes sugieren un papel del LAP2 α en la estabilización de la estructura de los telómeros y la cromatina mediante el aumento de histonas epigenéticas H3K27me3 (41). Como la expresión de progerina reduce los niveles de lámina A/C nucleoplásmica y LAP2 α es concebible que la organización de la cromatina en el interior nuclear se vea particularmente afectada en el HGPS (39,43).

Las células de pacientes con HGPS también mostraron expresión reducida de componentes del complejo NURD (desacetilasa remodeladora del nucleosoma, de sus siglas en inglés) (37,44). Curiosamente, la inactivación del complejo NURD en células de tipo salvaje también puede inducir defectos de la cromatina asociados al envejecimiento, similares a los observados en pacientes con HGPS. Los cambios en la organización de la cromatina y la regulación epigenética en las células de progeria pueden a su vez tener un profundo impacto en la expresión génica y en la estabilidad del genoma, contribuyendo así a muchos fenotipos de la enfermedad (37).

Todos estos estudios revelan que la expresión de progerina induce cambios epigenéticos, y que estrategias que reviertan estos cambios podrían ser investigadas como posibilidad terapéutica.

6.3. Defectos en la reparación del DNA e inestabilidad genómica

Los fibroblastos de pacientes con HGPS y de modelos de ratón de progeria mostraron acumulación de lesiones en el DNA, inestabilidad cromosómica, hipersensibilidad a los

agentes nocivos del DNA (45), y una respuesta mantenida al daño en el DNA (DDR, DNA Damage Response) (8).

A partir de fibroblastos de pacientes con HGPS pueden generarse células madre pluripotentes inducidas (HGPS-iPSCs) (46). Estas no expresan ni progerina ni tampoco muestran anomalías morfológicas del núcleo, lo que indica que el gen *LMNA* está silenciado en las células madre pluripotentes. A lo largo del proceso de diferenciación, se ha demostrado una correlación entre la expresión de progerina y la aparición de fenotipos asociados a la progerina como, por ejemplo, el daño en el DNA, lo que lleva a la senescencia prematura de las células. Estas células mostraron una notable supresión de la polimerasa poly-(ADP-ribosa) 1 (PARP1), una enzima que participa en la reparación de roturas del DNA de hebra simple (ssDNA, single strand) y es crítica para la fidelidad de la replicación del DNA. La pérdida de PARP1 en las células de músculo liso lleva a un aumento del sistema de reparación del DNA mediante recombinación no homóloga (en inglés NHEJ) durante la fase S, contribuyendo al fallo mitótico y la muerte celular (46).

La expresión de la progerina también puede afectar la estabilidad del genoma al afectar negativamente a las vías de reparación del daño del DNA (47). Las células de HGPS y las células derivadas de ratones sin la metaloproteasa *Zmpste24* (*Zmpste24^{-/-}*) muestran un reclutamiento alterado de los factores de reparación específicos de los cortes de doble cadena del DNA (DSB, double strand break) (48). El daño persistente del DNA activa al gen supresor de tumores p53, y promueve la senescencia, uno de los fenotipos distintivos del HGPS (49).

Otros factores que contribuyen a la inestabilidad genómica en las células HGPS es la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), debida a la disfunción mitocondrial. Los fibroblastos HGPS son incapaces de reparar el daño inducido por ROS, mostrando una sensibilidad mayor al estrés oxidativo que los fibroblastos normales (48). Además, estudios de proteómica cuantitativa realizados en fibroblastos normales y de pacientes con HGPS muestran una reducción significativa en los niveles de proteínas mitocondriales que participan en la fosforilación oxidativa en los fibroblastos de HGPS, que provoca disfunción mitocondrial. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en modelos de ratón de progeria, donde se observó una disfunción mitocondrial, sugiriendo que estos problemas son comunes en las laminopatías (50).

NRF2 es un factor de transcripción que regula la expresión de proteínas antioxidante en humanos. En condiciones normales, la vía NRF2 ejerce su función uniéndose al elemento de respuesta a los antioxidantes (ARE), presente en la región promotora de los genes diana. Se ha demostrado una actividad alterada de la vía del NRF2 en el HGPS que puede contribuir a aumentar la susceptibilidad al estrés oxidativo en las células enfermas (51). La progerina se une fuertemente al NRF2, causando deslocalización subnuclear y alterando la formación de los complejos transcripcionales en los motivos ARE. Como consecuencia, los genes diana de NRF2-ARE estarían reprimidos en el HGPS, y se incrementaría el estrés oxidativo crónico. La reactivación de la vía del NRF2 mejora las alteraciones clásicas en las células de HGPS, reduciendo los niveles de progerina, disminuyendo el estrés oxidativo, y restableciendo los niveles de lámina B1. Este descubrimiento remarca la importancia del estrés oxidativo en el fenotipo HGPS y sugiere que los compuestos activadores de NRF2 pueden servir para mejorar el fenotipo HGPS.

6.4. Desregulación de las vías de señalización

Las láminas sirven como punto de anclaje para diversas moléculas de señalización y factores de transcripción, regulando así su actividad (19). También, secuestran otros factores de transcripción y sus moléculas reguladoras en la periferia nuclear atenuando su función en los genes diana (35). Por lo tanto, no es sorprendente que la expresión de progerina cause una regulación errónea de varias vías de señalización (37).

Los fibroblastos del modelo de progeria ratón *Lmna* $\Delta 9$ tienen reducida la vía de señalización de Wnt/ β -catenina, y muestran una menor actividad del factor de transcripción LEF1, que regula la expresión de genes de la matriz extracelular (31). Como la señalización de Wnt es importante para el desarrollo de cartílago y hueso, una señalización de Wnt alterada puede contribuir al fenotipo óseo en pacientes con HGPS. Estos estudios sugieren que deficiencias en la señalización de Wnt puede causar cambios en la composición de la matriz extracelular, contribuyendo a la rigidez vascular en el HPGS (52). La señalización de Notch, otra importante vía que controla el destino y la diferenciación de células madre durante la osteogénesis y la adipogénesis, también se ve afectada en células que expresan progerina (35).

Los fibroblastos HPGS mostraron defectos en la vía de señalización de la proteína supresora de tumores retinoblastoma (pRb) y estos defectos se revierten con el tratamiento con inhibidores de la farnesiltransferasas (FTIs) (53). Las proteínas Rb

inducen un estado más compactado de la cromatina alrededor de promotores eucromáticos y también participan en el ensamblaje de las regiones cromosómicas de heterocromatina, como los centrómeros y los telómeros (54). Así, la deficiencia en la función Rb en las células HGPS podría contribuir a defectos proliferativos, cambios en la expresión génica, así como alteraciones en la estructura y la función de las regiones heterocromáticas. (48).

6.5. Acortamiento de los telómeros

Los fibroblastos derivados de pacientes con HGPS muestran un desgaste acelerado en comparación con los fibroblastos normales durante la proliferación celular en cultivo, lo que causa daño en el DNA y la entrada prematura en la senescencia (38). La expresión de la telomerasa revierte los cambios inducidos por la progerina en la expresión génica. En particular, muchos genes desregulados en las células que expresan progerina están relacionados con la senescencia, y la telomerasa puede rescatar la mayoría de estos cambios (41). Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la progerina causa disfunción telomérica y que la telomerasa protege a las células HGPS de los efectos nocivos de la progerina.

Las deficiencias en la reparación de los cortes de doble cadena del DNA (DSBs) y la disfunción de los telómeros son los principales contribuyentes a la inestabilidad del genoma en las células en senescencia. Los telómeros disfuncionales se reconocen como DSBs y activan la vía de reparación por recombinación no homóloga (NHEJ) (38). La disfunción persistente de los telómeros y su acortamiento por debajo de una longitud crítica provocan la interrupción permanente del crecimiento conocida como senescencia replicativa (38).

Algunos estudios han demostrado que las alteraciones en la biología de los telómeros inducen a la acumulación de progerina. Por ejemplo, la inducción de la disfunción telomérica por la expresión de una proteína dominante negativa TRF2 (TRF2^{ΔBΔM}) resulta en niveles aumentados de progerina (59).

En general, estos estudios revelan una relación nociva y recíproca entre los telómeros y la progerina, de tal modo que una telomérica induce la producción de progerina y viceversa. Tanto la expresión de progerina como el acortamiento de los telómeros se observa en células de individuos ancianos. Así, mantener la función telomérica protege del envejecimiento celular no solo evitando la inestabilidad cromosómica, sino también

asegurando el control adecuado del *splicing* alternativo, el cual en el caso del gen *LMNA* puede tener grandes efectos perniciosos.

6.6. Regulación alterada de células madre adultas

Las células madre adultas reemplazan constantemente a las células no funcionales y a las que mueren en muchos tejidos, y un descenso en su capacidad regenerativa relacionado con la edad es un factor importante en el envejecimiento fisiológico (55). Varias líneas de investigación sugieren que la lámina A puede estar involucrada en la regulación de la proliferación y diferenciación de las células madre mesenquimales (MSCs) así como de las células progenitoras de los tejidos. Las MSCs son células madre adultas importantes para la regeneración de muchos tejidos afectados en el HGPS, como los huesos, la piel, los músculos y el tejido adiposo (35). Tanto la autorrenovación como la diferenciación de las células madre adultas pueden verse afectadas en el HGPS a través de la señalización alterada y la organización de la cromatina como se describió anteriormente. En línea con esto, los modelos de progeria ratón *Zmpste 24^{-/-}* (56) y *tetop-Lmna^{G608G; K5tTA} +* (57) muestran una reducción en el número de las células madre epidérmicas, y células madre/progenitoras derivadas de músculo (MDPSC) y su capacidad proliferativa alterada (58). Los fibroblastos postnatales derivados del modelo de ratón con progeria *Lmna Δ 9*, muestran detención proliferativa y senescencia prematura al contrario de lo que ocurre en los fibroblastos embrionarios. Por qué este fenotipo es detectable solo en las células posnatales sigue siendo desconocido, pero está probablemente vinculado a una producción de matriz extracelular (MEC) alterada (31).

6.7. Mecanismos del HGPS mediados por la matriz extracelular

Varios estudios recientes sugieren que la expresión de progerina puede dar lugar a una expresión alterada de los componentes de la matriz extracelular (MEC) y la formación de una MEC defectuosa, que a su vez puede ser causa de muchos de los fenotipos celulares observados en el HGPS. Se sabe que la MEC tiene un papel principal en la proliferación, la diferenciación, la adhesión y la migración celulares, así como en la supervivencia celular (59). La producción de MEC también se ve comprometida durante el envejecimiento fisiológico (60).

Los análisis de expresión génica en fibroblastos de pacientes HGPS mostraron una desregulación profunda de los componentes de la MEC (39). Experimentos realizados con un modelo progérico de ratones quiméricos para *Zmpste24* que contienen una

proporción similar de células deficientes en *Zmpste24* (acumulan prelámina A) y de células competentes en *Zmpste24* (contienen lámina A madura). Sorprendentemente, estos ratones se desarrollan con normalidad y mantienen la misma proporción de células mutantes frente a células salvajes en sus tejidos durante toda la vida, lo que indica que las células progeroides *Zmpste24*^{-/-} se desarrollan normalmente en un fondo genético que proporciona la MEC normal y posiblemente otros factores extrínsecos (61). En este estudio también se demostró que la acumulación de prelámina A previene la invasión de cáncer y da como resultado una reducción en la incidencia de carcinomas infiltrantes asociados a componentes alterados de la MEC.

7. Estrategias terapéuticas para el HGPS

Actualmente, los enfoques para el tratamiento en el HGPS se plantean a diferentes niveles: desde corregir la función proteica, el *splicing* del RNA y las mutaciones en el gen *LMNA*, hasta estrategias de reemplazo celular y tratamientos para revertir los fenotipos celulares (1). Se pueden ver en la **Figura 5** las algunas de las dianas clave en el tratamiento de la progeria, que serán comentadas a continuación.

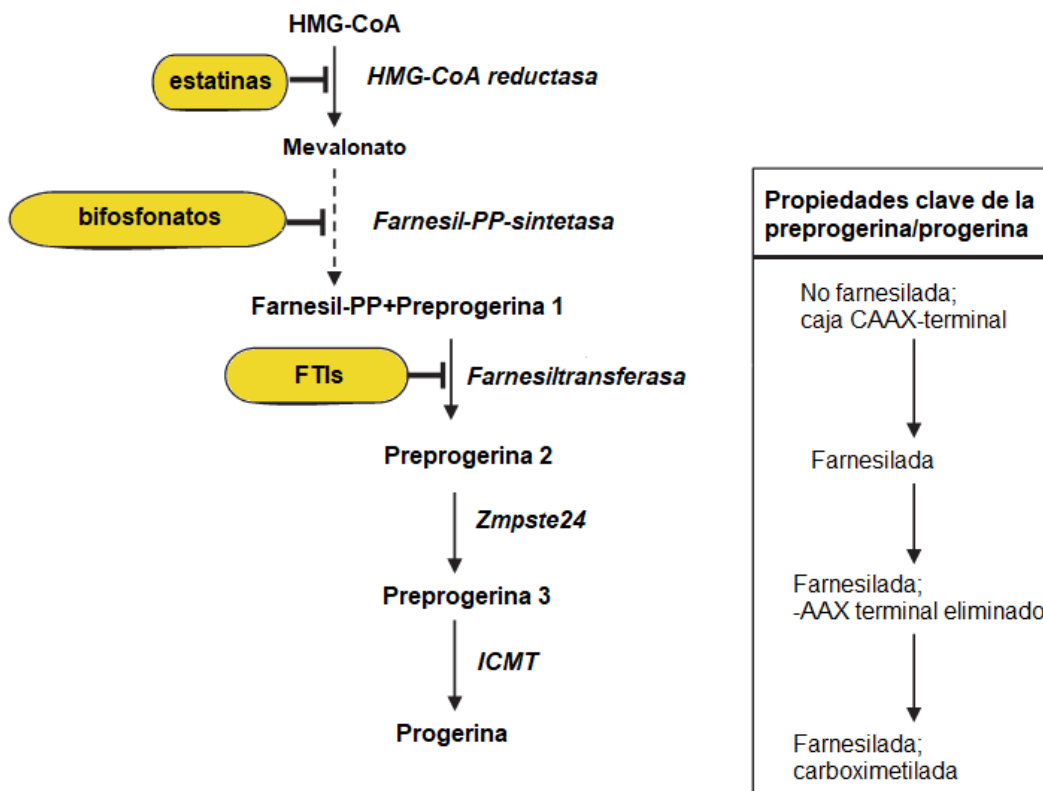


Figura 5. Terapias actuales del HGPS dirigidas a prevenir la formación de progerina mediante la inhibición de la farnesilación

Las enzimas que facilitan cada paso están en cursiva. La línea discontinua indica que no se muestran varios pasos en la ruta. Los medicamentos destinados a inhibir la farnesilación de proteínas están en amarillo. Figura modificada de la Ref. 14.

En los últimos años, algunas terapias han demostrado resultados prometedores en las etapas preclínicas. Se están empezando ensayos clínicos con algunos compuestos para determinar su valor en pacientes. El primero de estos compuestos que logró éxito en células derivadas de pacientes con HGPS *in vitro*, y con modelos de ratón de progeria *in vivo*, fueron los FTIs, que inhiben el procesamiento de prelámina A, la forma madura lámina A, o en el caso del HGPS, progerina (62–64). Uno de los FTI empleados, el lonafarnib, durante dos años en un ensayo clínico de pacientes con HGPS mejoró algunos de los signos como la velocidad de la onda de pulso, la ecodensidad de la pared de la carótida, y síntomas como la incidencia de ACV (accidente cerebrovascular), dolores de cabeza y convulsiones. Sin embargo, el tratamiento solo alargó la supervivencia una media de 1,6 años (14,64).

Tras un primer ensayo clínico, se ha descubierto que el tratamiento con los FTIs podría activar una vía minoritaria de prenilación, es decir, la modificación postraduccional mediante la transferencia de una fracción de geranilo-geranilo alternativa. Este hecho podría explicar la moderada eficacia del tratamiento con FTI en ensayos preclínicos (63). Por esta razón, posteriormente se probaron tratamientos farmacológicos combinados en el modelo de progeria ratón *Zmpste 24^{-/-}*. Se utilizó un tratamiento combinado con un aminobifosfonato (ácido zoledrónico) y estatinas (pravastatina), inhibiendo la farnesil-pirofosfatasa sintasa y la HMG-CoA reductasa, respectivamente (63). Un segundo ensayo clínico que combina estatinas y aminobifosfonatos se inició de 2008 a 2013 en La Timone Children's Hospital de Marsella, pero los resultados del estudio aún no se han publicado (15).

Un tema actual de mucho interés es el mecanismo de degradación de progerina. Aunque hasta el momento no se ha realizado un estudio detallado sobre las vías potenciales implicadas en la degradación de progerina, varias observaciones sugieren que la progerina puede eliminarse activando la vía de la autofagia. El tratamiento con rapamicina, un inhibidor de la vía de la diana de la rapamicina en mamíferos (mammalian Target of Rapamycin con sus siglas en inglés, mTOR), regula positivamente la autofagia y extiende la vida útil desde las de levaduras hasta la de los mamíferos (65). El tratamiento con rapamicina de células HGPS en cultivo aumenta el aclaramiento de progerina mediante rutas relacionadas con macrófagos y reduce

algunos de los fenotipos de la enfermedad, como los núcleos lobulados, los niveles de LAP2 α y el daño del DNA (66).

Se ha iniciado un ensayo en fases I-II para determinar los efectos de la administración combinada de everolimus, un inhibidor de la vía mTOR similar a la rapamicina, y lonafarnib (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02579044?term=Hutchinson-Gilford+Disease&rank=1>) (67). Se espera que el everolimus pudiera reducir los niveles de progerina activando su eliminación y podría tener un efecto sinérgico con el lonafarnib (66). Sin embargo, un estudio comparativo del efecto de estos tres tratamientos -un FTI, rapamicina, o una combinación de zolendronato y prevastatina- en células iPSCs derivadas de HGPS dio resultados variables. Mientras que todos los tratamientos mejoraron la morfología nuclear, se observaron diferencias entre ellos en la mejora de otros fenotipos celulares. Además, algunas combinaciones tuvieron efectos citotóxicos. Por eso es necesario extremar las precauciones en el diseño de los ensayos clínicos para los pacientes con HGPS, ya que esta toxicidad podría enmascarar los posibles efectos beneficiosos (68).

Se descubrió que el sulforafano, un antioxidante derivado de plantas crucíferas, que estimula la actividad del proteasoma y la autofagia en cultivos de fibroblastos con HGPS y sin enfermedad, mejora el aclaramiento de progerina por autofagia y revierte las características típicas de las células del HGPS (69). Además, dos estudios recientes sugirieron que los retinoides solos (70) o en combinación con la rapamicina (71) reducen la cantidad de progerina y rescatan los fenotipos progeroides en células en cultivo. Los fármacos activadores de la autofagia podrían ser particularmente beneficiosos en el tratamiento de la progeria, pero se deben realizar análisis cuidadosos *in vivo* antes de incluirlos en ensayos clínicos.

La introducción de un oligonucleótido morfolino antisentido capaz de bloquear el sitio de *splicing* críptico en el exón 11 del pre-mRNA de progerina, produjo una disminución dependiente de la concentración en los niveles de RNAm y de progerina y la reversión de fenotipos celulares en cultivos de células HGPS (43). Una estrategia similar se probó con éxito *in vivo* en modelos de progeria ratón *Zmpste24^{-/-}* y *Lmna^{G609G/G609G}*, lo que dio como resultado un aumento del peso corporal, una esperanza de vida prolongada y la mejora de varios fenotipos HGPS (32).

Otras estrategias incluyen el uso de inhibidores de la enzima responsable de la carboximetilación de la farnesil-cisteína de la progerina (72); la N-acetil cisteína, que secuestra ROS y reduce la cantidad de daño irreparable en el DNA por el aumento de

ROS (48); el azul de metileno, que es un antioxidante mitocondrial (73); o el resveratrol, un potenciador de la actividad de la desacetilasa SIRT1 que alivia las características progeroides (74).

El mejor tratamiento para los pacientes con HGPS sigue siendo un tema activo de discusión y controversia. Entender el espectro completo de los efectos funcionales de los diferentes fármacos nos permitirá encontrar estrategias en los próximos años que mejorarán el dramático fenotipo característico del HGPS a la vez que disminuirémos su toxicidad.

8. Observaciones finales

A pesar de todo lo que se sabe sobre el HGPS y los notables avances en la comprensión de la enfermedad, queda mucho por aprender. No solo se necesita urgentemente de un tratamiento, sino que un mejor entendimiento del HGPS aportaría conocimientos sobre el proceso de envejecimiento fisiológico. Solo algunas de las cuestiones de esta enfermedad se han resuelto. Por ejemplo, es sorprendente que los pacientes con progeria no desarrollen cáncer, dada la asociación entre el cáncer y el envejecimiento. Se podría hipotetizar que la esperanza de vida reducida en el HGPS oculta una mayor propensión al desarrollo de cáncer en las células que expresan progerina, sin embargo, investigaciones recientes indican que la expresión de progerina puede inhibir la transformación celular, explicando un riesgo normal de cáncer en estos pacientes (75). A pesar de que se han identificado numerosas vías celulares afectadas por la expresión de la progerina, los detalles que subyacen a estos efectos todavía no están claros en la mayoría de los casos. Los resultados de los primeros ensayos clínicos nos enseñaron que se pueden lograr algunas mejoras en los fenotipos de la enfermedad mediante el tratamiento con FTIs, y otros compuestos. A medida que avanza la investigación, el HGPS continúa revelando misterios poco apreciados del envejecimiento. El HGPS, con todas sus complejidades, ofrece un modelo único para explicar los nuevos roles de las láminas A/C y la progerina en la célula. Será importante dilucidar cuáles de las numerosas rutas que se encuentran alteradas en el HGPS son las más relevantes en las patologías, y cuáles son meras espectadoras.

9. Bibliografía

1. Gordon LB, Rothman FG, Lopez-Otin C, Misteli T. Progeria: a paradigm for translational medicine. *Cell*. 2014;156(3):400-7.
2. Hutchinson J. Congenital Absence of Hair and Mammary Glands with Atrophic Condition of the Skin and its Appendages, in a Boy whose Mother had been almost wholly Bald from Alopecia Areata from the age of Six. *Medico-Chir Trans*. 1886;69(Journal Article):473-7.
3. Gilford H. On a Condition of Mixed Premature and Immature Development. *Medico-Chir Trans*. 1897;80(Journal Article):17-46.25.
4. Merideth MA, Gordon LB, Clauss S, Sachdev V, Smith AC, Perry MB, et al. Phenotype and course of Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *N Engl J Med*. 2008;358(6):592-604.
5. Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153(6):1194-217.
6. De Sandre-Giovannoli A, Bernard R, Cau P, Navarro C, Amiel J, Boccaccio I, et al. Lamin A truncation in Hutchinson-Gilford progeria. *Science*. 2003;300(5628):2055.
7. Eriksson M, Brown WT, Gordon LB, Glynn MW, Singer J, Scott L, et al. Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature*. 2003;423(6937):293-8.
8. Scaffidi P, Misteli T. Lamin A-dependent nuclear defects in human aging. *Science*. 2006;312(5776):1059-63.
9. McClintock D, Ratner D, Lokuge M, Owens DM, Gordon LB, Collins FS, et al. The mutant form of lamin A that causes Hutchinson-Gilford progeria is a biomarker of cellular aging in human skin. *PloS One*. 2007;2(12):e1269.
10. Burtner CR, Kennedy BK. Progeria syndromes and ageing: what is the connection? *Nat Rev Cell Biol*. 2010;11(8):567-78.
11. Navarro CL, Cadinanos J, De Sandre-Giovannoli A, Bernard R, Courrier S, Boccaccio I, et al. Loss of ZMPSTE24 (FACE-1) causes autosomal recessive restrictive dermopathy and accumulation of Lamin A precursors. *Hum Mol Genet*. 2005;14(11):1503-13.
12. Navarro CL, Cau P, Levy N. Molecular bases of progeroid syndromes. *Hum Mol Genet*. 2006;15 Spec No 2(Journal Article):R151-61.
13. Ullrich NJ, Gordon LB. Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Handb Clin Neurol*. 2015;132(Journal Article):249-64.
14. Gordon LB, Massaro J, D'Agostino RB S, Campbell SE, Brazier J, Brown WT, et al. Impact of farnesylation inhibitors on survival in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Circulation*. 2014;130(1):27-34.
15. Cau P, Navarro C, Harhoury K, Roll P, Sigaudy S, Kaspi E, et al. WITHDRAWN: Nuclear matrix, nuclear envelope and premature aging syndromes in a translational research perspective. *Semin Cell Dev Biol*. 2014;(Journal Article).
16. Kieran MW, Gordon L, Kleinman M. New approaches to progeria. *Pediatrics*. 2007;120(4):834-41.
17. Olive M, Harten I, Mitchell R, Beers JK, Djabali K, Cao K, et al. Cardiovascular pathology in Hutchinson-Gilford progeria: correlation with the vascular pathology of aging. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(11):2301-9.
18. Jung HJ, Coffinier C, Choe Y, Beigneux AP, Davies BS, Yang SH, et al. Regulation of prelamin A but not lamin C by miR-9, a brain-specific microRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(7):E423-31.
19. Gruenbaum Y, Foisner R. Lamins: nuclear intermediate filament proteins with fundamental functions in nuclear mechanics and genome regulation. *Annu Rev Biochem*. 2015;84(Journal Article):131-64.
20. Dittmer TA, Misteli T. The lamin protein family. *Genome Biol*. 2011;12(5):222-2011-12-5-222. Epub 2011 May 31.
21. Worman HJ. Nuclear lamins and laminopathies. *J Pathol*. 2012;226(2):316-25.
22. The UMD-LMNA mutations database [Internet]. 2012. Disponible en: <http://umd.be/LMNA/>

23. Moulson CL, Fong LG, Gardner JM, Farber EA, Go G, Passariello A, et al. Increased progerin expression associated with unusual LMNA mutations causes severe progeroid syndromes. *Hum Mutat.* 2007;28(9):882-9.
24. Reunert J, Wentzell R, Walter M, Jakubiczka S, Zenker M, Brune T, et al. Neonatal progeria: increased ratio of progerin to lamin A leads to progeria of the newborn. *Eur J Hum Genet EJHG.* 2012;20(9):933-7.
25. Doubaj Y, De Sandre-Giovannoli A, Vera EV, Navarro CL, Elalaoui SC, Tajir M, et al. An inherited LMNA gene mutation in atypical Progeria syndrome. *Am J Med Genet A.* 2012;158A(11):2881-7.
26. Snider NT, Omary MB. Post-translational modifications of intermediate filament proteins: mechanisms and functions. *Nat Rev Cell Biol.* 2014;15(3):163-77.
27. Moiseeva O, Lopes-Paciencia S, Huot G, Lessard F, Ferbeyre G. Permanent farnesylation of lamin A mutants linked to progeria impairs its phosphorylation at serine 22 during interphase. *Aging.* 2016;8(2):366-81.
28. Zhang YQ, Sarge KD. Sumoylation regulates lamin A function and is lost in lamin A mutants associated with familial cardiomyopathies. *J Cell Biol.* 2008;182(1):35-9.
29. Yang SH, Bergo MO, Toth JI, Qiao X, Hu Y, Sandoval S, et al. Blocking protein farnesyltransferase improves nuclear blebbing in mouse fibroblasts with a targeted Hutchinson-Gilford progeria syndrome mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(29):10291-6.
30. Varga R, Eriksson M, Erdos MR, Olive M, Harten I, Kolodgie F, et al. Progressive vascular smooth muscle cell defects in a mouse model of Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(9):3250-5.
31. Hernandez L, Roux KJ, Wong ES, Mounkes LC, Mutalif R, Navasankari R, et al. Functional coupling between the extracellular matrix and nuclear lamina by Wnt signaling in progeria. *Dev Cell.* 2010;19(3):413-25.
32. Osorio FG, Navarro CL, Cadinanos J, Lopez-Mejia IC, Quiros PM, Bartoli C, et al. Splicing-directed therapy in a new mouse model of human accelerated aging. *Sci Transl Med.* 2011;3(106):106ra107.
33. Goldman RD, Shumaker DK, Erdos MR, Eriksson M, Goldman AE, Gordon LB, et al. Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(24):8963-8.
34. Shumaker DK, Dechat T, Kohlmaier A, Adam SA, Bozovsky MR, Erdos MR, et al. Mutant nuclear lamin A leads to progressive alterations of epigenetic control in premature aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(23):8703-8.
35. Scaffidi P, Misteli T. Lamin A-dependent misregulation of adult stem cells associated with accelerated ageing. *Nat Cell Biol.* 2008;10(4):452-9.
36. McCord RP, Nazario-Toole A, Zhang H, Chines PS, Zhan Y, Erdos MR, et al. Correlated alterations in genome organization, histone methylation, and DNA-lamin A/C interactions in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Genome Res.* 2013;23(2):260-9.
37. Prokocimer M, Barkan R, Gruenbaum Y. Hutchinson-Gilford progeria syndrome through the lens of transcription. *Aging Cell.* 2013;12(4):533-43.
38. Gonzalo S, Kreienkamp R. DNA repair defects and genome instability in Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome. *Curr Opin Cell Biol.* 2015;34(Journal Article):75-83.
39. Vidak S, Kubben N, Dechat T, Foisner R. Proliferation of progeria cells is enhanced by lamina-associated polypeptide 2alpha (LAP2alpha) through expression of extracellular matrix proteins. *Genes Dev.* 2015;29(19):2022-36.
40. Zhang J, Lian Q, Zhu G, Zhou F, Sui L, Tan C, et al. A human iPSC model of Hutchinson Gilford Progeria reveals vascular smooth muscle and mesenchymal stem cell defects. *Cell Stem Cell.* 2011;8(1):31-45.
41. Chojnowski A, Ong PF, Wong ES, Lim JS, Mutalif RA, Navasankari R, et al. Progerin reduces LAP2alpha-telomere association in Hutchinson-Gilford progeria. *eLife.* 2015;4(Journal Article):10.7554/eLife.07759.

42. Gesson K, Rescheneder P, Skoruppa MP, von Haeseler A, Dechat T, Foisner R. A-type lamins bind both hetero- and euchromatin, the latter being regulated by lamina-associated polypeptide 2 alpha. *Genome Res.* 2016;26(4):462-73.
43. Scaffidi P, Misteli T. Reversal of the cellular phenotype in the premature aging disease Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nat Med.* 2005;11(4):440-5.
44. Pegoraro G, Kubben N, Wickert U, Gohler H, Hoffmann K, Misteli T. Ageing-related chromatin defects through loss of the NURD complex. *Nat Cell Biol.* 2009;11(10):1261-7.
45. Varela I, Cadinanos J, Pendas AM, Gutierrez-Fernandez A, Folgueras AR, Sanchez LM, et al. Accelerated ageing in mice deficient in Zmpste24 protease is linked to p53 signalling activation. *Nature.* 2005;437(7058):564-8.
46. Liu GH, Barkho BZ, Ruiz S, Diep D, Qu J, Yang SL, et al. Recapitulation of premature ageing with iPSCs from Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature.* 2011;472(7342):221-5.
47. Liu B, Wang J, Chan KM, Tjia WM, Deng W, Guan X, et al. Genomic instability in laminopathy-based premature aging. *Nat Med.* 2005;11(7):780-5.
48. Richards SA, Muter J, Ritchie P, Lattanzi G, Hutchison CJ. The accumulation of un-repairable DNA damage in laminopathy progeria fibroblasts is caused by ROS generation and is prevented by treatment with N-acetyl cysteine. *Hum Mol Genet.* 2011;20(20):3997-4004.
49. Collado M, Blasco MA, Serrano M. Cellular senescence in cancer and aging. *Cell.* 2007;130(2):223-33.
50. Rivera-Torres J, Acin-Perez R, Cabezas-Sanchez P, Osorio FG, Gonzalez-Gomez C, Megias D, et al. Identification of mitochondrial dysfunction in Hutchinson-Gilford progeria syndrome through use of stable isotope labeling with amino acids in cell culture. *J Proteomics.* 2013;91(Journal Article):466-77.
51. Kubben N, Zhang W, Wang L, Voss TC, Yang J, Qu J, et al. Repression of the Antioxidant NRF2 Pathway in Premature Aging. *Cell.* 2016;165(6):1361-74.
52. Vidak S, Foisner R. Molecular insights into the premature aging disease progeria. *Histochem Cell Biol.* 2016;145(4):401-17.
53. Marji J, O'Donoghue SI, McClintock D, Satagopam VP, Schneider R, Ratner D, et al. Defective lamin A-Rb signaling in Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome and reversal by farnesyltransferase inhibition. *PloS One.* 2010;5(6):e11132.
54. Gonzalo S, Garcia-Cao M, Fraga MF, Schotta G, Peters AH, Cotter SE, et al. Role of the RB1 family in stabilizing histone methylation at constitutive heterochromatin. *Nat Cell Biol.* 2005;7(4):420-8.
55. Brassard JA, Fekete N, Garnier A, Hoesli CA. Hutchinson-Gilford progeria syndrome as a model for vascular aging. *Biogerontology.* 2016;17(1):129-45.
56. Espada J, Varela I, Flores I, Ugalde AP, Cadinanos J, Pendas AM, et al. Nuclear envelope defects cause stem cell dysfunction in premature-aging mice. *J Cell Biol.* 2008;181(1):27-35.
57. Rosengardten Y, McKenna T, Grochova D, Eriksson M. Stem cell depletion in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Aging Cell.* 2011;10(6):1011-20.
58. Lavasani M, Robinson AR, Lu A, Song M, Feduska JM, Ahani B, et al. Muscle-derived stem/progenitor cell dysfunction limits healthspan and lifespan in a murine progeria model. *Nat Commun.* 2012;3(Journal Article):608.
59. Humphrey JD, Dufresne ER, Schwartz MA. Mechanotransduction and extracellular matrix homeostasis. *Nat Rev Cell Biol.* 2014;15(12):802-12.
60. Yang KE, Kwon J, Rhim JH, Choi JS, Kim SI, Lee SH, et al. Differential expression of extracellular matrix proteins in senescent and young human fibroblasts: a comparative proteomics and microarray study. *Mol Cells.* 2011;32(1):99-106.
61. de la Rosa J, Freije JM, Cabanillas R, Osorio FG, Fraga MF, Fernandez-Garcia MS, et al. Prelamin A causes progeria through cell-extrinsic mechanisms and prevents cancer invasion. *Nat Commun.* 2013;4(Journal Article):2268.
62. Fong LG, Frost D, Meta M, Qiao X, Yang SH, Coffinier C, et al. A protein farnesyltransferase inhibitor ameliorates disease in a mouse model of progeria. *Science.* 2006;311(5767):1621-3.

63. Varela I, Pereira S, Ugalde AP, Navarro CL, Suarez MF, Cau P, et al. Combined treatment with statins and aminobisphosphonates extends longevity in a mouse model of human premature aging. *Nat Med.* 2008;14(7):767-72.
64. Gordon LB, Kleinman ME, Miller DT, Neubergh DS, Giobbie-Hurder A, Gerhard-Herman M, et al. Clinical trial of a farnesyltransferase inhibitor in children with Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(41):16666-71.
65. Jung CH, Ro SH, Cao J, Otto NM, Kim DH. mTOR regulation of autophagy. *FEBS Lett.* 2010;584(7):1287-95.
66. Cao K, Graziotto JJ, Blair CD, Mazzulli JR, Erdos MR, Krainc D, et al. Rapamycin reverses cellular phenotypes and enhances mutant protein clearance in Hutchinson-Gilford progeria syndrome cells. *Sci Transl Med.* 2011;3(89):89ra58.
67. Phase I/II Trial of Everolimus in Combination With Lonafarnib in Progeria [Internet]. 2017. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02579044?term=Hutchinson-Gilford+Disease&rank=1>
68. Blondel S, Jaskowiak AL, Egesipe AL, Le Corf A, Navarro C, Cordette V, et al. Induced pluripotent stem cells reveal functional differences between drugs currently investigated in patients with hutchinson-gilford progeria syndrome. *Stem Cells Transl Med.* 2014;3(4):510-9.
69. Gabriel D, Roedl D, Gordon LB, Djabali K. Sulforaphane enhances progerin clearance in Hutchinson-Gilford progeria fibroblasts. *Aging Cell.* 2015;14(1):78-91.
70. Kubben N, Brimacombe KR, Donegan M, Li Z, Misteli T. A high-content imaging-based screening pipeline for the systematic identification of anti-progeroid compounds. *Methods San Diego Calif.* 2016;96(Journal Article):46-58.
71. Pellegrini C, Columbaro M, Capanni C, D'Apice MR, Cavallo C, Murdocca M, et al. All-trans retinoic acid and rapamycin normalize Hutchinson Gilford progeria fibroblast phenotype. *Oncotarget.* 2015;6(30):29914-28.
72. Ibrahim MX, Sayin VI, Akula MK, Liu M, Fong LG, Young SG, et al. Targeting isoprenylcysteine methylation ameliorates disease in a mouse model of progeria. *Science.* 2013;340(6138):1330-3.
73. Xiong ZM, Choi JY, Wang K, Zhang H, Tariq Z, Wu D, et al. Methylene blue alleviates nuclear and mitochondrial abnormalities in progeria. *Aging Cell.* 2016;15(2):279-90.
74. Liu B, Ghosh S, Yang X, Zheng H, Liu X, Wang Z, et al. Resveratrol rescues SIRT1-dependent adult stem cell decline and alleviates progeroid features in laminopathy-based progeria. *Cell Metab.* 2012;16(6):738-50.
75. Fernandez P, Scaffidi P, Markert E, Lee JH, Rane S, Misteli T. Transformation resistance in a premature aging disorder identifies a tumor-protective function of BRD4. *Cell Rep.* 2014;9(1):248-60.