

АТИПИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ СИНДРОМА ВЕРНЕРА: ЭФФЕКТ ЛАМИНОПАТИИ

© Н. В. Смирнова, И. М. Спивак, Н. М. Плещач, В. М. Михельсон

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; электронный адрес:
nvsmirnoff@yandex.ru

В статье описан случай прогерии взрослых, ранее атрибутированный как синдром Вернера. При детальном исследовании клеток больного выявлены дефекты ядерной ламина и цитоскелета. Высказано предположение о том, что в данном случае мы имеем дело с атипичным синдромом Вернера, при котором наблюдается ламинопатия, как при синдроме Хатчинсона—Гилфорда, а не дефект геликазы-нуклеазы WRN, как при типичном синдроме Вернера.

Ключевые слова: прогерия, ламин А/С, маркеры старения.

Изучение заболеваний, при которых признаки старения проявляются в молодом возрасте, прогерий, было начато еще на рубеже XIX—XX вв. Отто Вернером было дано клиническое описание фенотипа больного прогерией взрослых (Werner, 1904). А Хатчинсон и Гилфорд описали случай прогерии детей (Hutchinson, 1886; Gilford, 1904). Позже данные синдромы, получившие свои названия по именам впервые описавших их врачей, и другие прогерии, в том числе атаксия-телеангиэктазия, или синдром Луи—Барр, были объединены под общим названием «синдромы преждевременного старения» (см. обзор: Михельсон, 1996).

Новый этап в изучении прогерий был начат с клонирования генов, мутации в которых лежат в основе данных синдромов. Было обнаружено, что все изученные прогерии имеют моногенную природу. К концу XX в. они были условно разделены на три группы по характеру вызывающих их генетических дефектов. Синдром Вернера был отнесен к группе прогерий с генетическими дефектами репарационных факторов. Было выявлено, что в основе лежат мутации в гене *WRN* (8p12-p11.2), кодирующем геликазу из семейства *RECQ* (Yu et al., 1996, 1997). Вторую группу прогерий, в первую очередь синдром Хатчинсона—Гилфорда, составляют случаи нарушений структуры ядерной ламина, в основе которых лежат мутации гена *LMNA* (1q21.2), кодирующего ламин А/С (De Sandre-Giovannoli et al., 2003; Eriksson et al., 2003) или гена *FACE-1/ZMPSTE24* (1p34), кодирующего металлопротеазу, принимающую участие в посттрансляционных модификациях ламина А/С (Shackleton et al., 2005). В третью группу прогерий были выделены те, при которых нарушена передача сигнала о повреждении ДНК, как это происходит при атаксии-телеангиэктазии, причиной которой являются мутации в гене *ATM* (11q.23.1) (Savitsky et al., 1995; Lavin et al., 1997; McKinnon et al., 2004), кодирующем протеинкиназу из семейства фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K).

Позже были описаны случаи так называемого атипичного синдрома Вернера, при котором, как и при синд-

роме Хатчинсона—Гилфорда, обнаруживаются мутации в гене *LMNA* (Chen et al., 2003). В клетках больных атипичным синдромом Вернера были картированы мутация A57P (затрагивающая N-концевой глобулярный домен) и мутации R133L и L140R (затрагивающие α -спиральный стержневой домен). Эти мутации могут влиять на строение ключевых сайтов белок-белковых взаимодействий ламина А (Bonne, Levy, 2003; Vigououx et al., 2003). Кроме того, как и в случае синдрома Хатчинсона—Гилфорда, в клетках больных атипичным синдромом Вернера аккумулируется перманентно фарнезилированная форма преламина А (Chen et al., 2003). Известно, что подобная aberrантная форма преламина А необратимо связывается с ядерной мембраной и нарушает нормальные функции ламина. Видимым результатом такого воздействия является образование так называемых блеб-структур («bleb» — грибовидный нарост) и инвагинаций ядерной оболочки. В числе других возможных последствий — описанные у больных синдромом Хатчинсона—Гилфорда нарушение архитектоники гетерохроматина, кластеризация ядерных пор, а также нарушения транскрипции и сигнальных каскадов (Csoka et al., 2004; Goldman et al., 2004; Reddel, Weiss, 2004; Scaffidi, Misteli, 2004).

Недавно было показано, что изменения нуклеоскелета происходят и при естественном старении. В ядрах клеток престарелых доноров была обнаружена стабилизация укороченной и перманентно фарнезилированной формы преламина А — прогерина (Scaffidi, Misteli, 2006), что было подтверждено и в исследованиях *in vivo* (McClintock et al., 2007).

Кроме ядерных изменений aberrации ламина А/С могут сказываться и на организации цитоскелетных элементов клетки. Продемонстрирована интеграция ядерной ламина со структурами цитоскелета. Взаимодействие опосредованно через линкерный белок несприн 1/ α , ламин А/С и актин цитоплазмы могут образовывать единую, действующую согласованную систему (Hutchison, Worman, 2004; Gruenbaum et al., 2005). Дезинтеграция

этой системы может быть одним из последствий мутаций гена ламина А/С.

Таким образом, роль нуклео- и цитоскелета в различных процессах, регламентирующих клеточное старение, воспринимается в настоящее время все более значимой и порождает множество новых направлений исследований.

Материал и методика

Клеточные культуры. В работе были использованы штамм диплоидных фибробластов 1609, полученной от больного А. Г. с симптомами прогерии взрослых в возрасте 26 лет (Ковина и др., 2002), и штамм VH-10 первичных фибробластов здорового донора, предоставленный А. Кольман (Стокгольмский университет, Швеция) (Kolman et al., 1997).

Клетки выращивали и в питательной среде DMEM (Gibco, США) с добавлением 12 % фетальной сыворотки телят (Hyclone, США) и антибиотиков (100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина; Sigma, США) в пластиковых флаконах, на чашках Петри (Nunc, США), а также на предметных стеклах, помещенных в чашку Петри в CO₂-инкубаторе при 37 °С, 5—7 % CO₂ в атмосфере повышенной влажности.

Иммунофлуоресцентный анализ. Клетки выращивали на поверхности предметных стекол, помещенных в чашки Петри. После достижения клетками субконфлюэнтного состояния отмывали ростовую питательную среду раствором PBS (Биолот, Россия). Клетки фиксировали 10 мин в 3,7%-ном растворе формальдегида в PBS на льду, продолжали фиксацию PN в 70%-ном этаноле при 4 °С. Быстро отмывали от фиксатора раствором PBS 3X, а затем в течение 30 мин на чашке. Далее для перфорации плазматической мембраны инкубировали в течение 5 мин 3%-ным раствором Triton X-100 (Helicon, Россия) в PBS. Проводили отмывку аналогично предыдущим. Препараты инкубировали от 30 мин до Pn в 1%-ном растворе BSA (Sigma, США) в PBS, который также отмывали. Для визуализации структуры ядерной ламины образцы инкубировали последовательно с первыми козыми антителами против ламина А/С (N-18) (sc-6215 Santa Cruz Biotechnology, Inc., США) и вторыми антителами α -Goat IgG (whole molecule)—FITC (F9012 Sigma—Aldrich Co., США), а для визуализации цитоскелетных элементов — с первыми мышиными антителами против β -актина (AC-15) (ab6276 Abcam, США) и вторыми — Alexa Fluor® 488 F(ab') fragment of goat anti-mouse IgG (H + L) (A11017 Invitrogen, США).

Анализировали не менее 400 клеток каждого штамма. Подсчет осуществляли путем разделения клеток на 3 категории в соответствии с формой ядерной оболочки: с нормальной эллипсоидной формой ядра (1) (рис. 1, а), с наличием инвагинаций (2) (рис. 1, б) и несущие блеб-структуры (3) (рис. 1, в). Затем определяли процентную долю каждой группы в общем числе проанализированных клеток.

Окраска митохондрий. Для визуализации митохондрий в исследуемых штаммах было использовано прижизненное окрашивание с помощью Mito Tracker® Orange CM-H2TMRos (Molecular Probes, США). Для этого первый сток 1 мМ Mito Tracker® в DMSO (Sigma, США) добавляли в культуральную среду таким образом, чтобы рабочая концентрация составляла 100—500 нМ.

Для включения Mito Tracker® клетки инкубировали 45 мин, затем отмывали в культуральной среде и анализировали непосредственно после окрашивания.

Микроскопия. Препараты анализировали с помощью лазерного сканирующего флуоресцентного микроскопа Zeiss LSM 5 PASCAL. Для визуализации флуоресценции был использован аргоновый (488 нм) и гелиево-неоновый (543 нм) лазеры. Для получения изображений использовали сканирующий модуль микроскопа, который управляется с помощью компьютера и соответствующего программного обеспечения LSM 5 PASCAL.

Определение уровня SA- β -галактозидазы. Использовали метод определения относительной активности β -галактозидазы в клеточных лизатах при pH 4.3. В качестве субстрата использовали *o*-нитрофенил- β -D-галактопиранозид. Клетки дважды промывали раствором однократного буфера PBS (pH 7.4) и снимали механически. Клетки осаждали центрифугированием при 3000 об/мин. Осадок ресуспендировали в 200 мкл 0.25 М Трис-НСl (pH 7.8) и лизировали 3-кратным замораживанием (–70 °С) и оттаиванием (37 °С). Лизат центрифугировали при 10 000 об/мин. Реакционная смесь для определения активности β -галактозидазы содержала: 1 мл буфера А (0.1 М цитратный буфер, pH 4.3), 0.2 мл раствора ONPG (*o*-нитрофенил- β -D-галактопиранозид) в фосфатном буфере (60 мМ Na₂HPO₄, 40 мМ NaH₂PO₄ и 4 мг/мл ONPG, pH 7.0) и 30 мкл белкового экстракта. Смесь инкубировали при 37 °С (1—12 ч). Реакцию останавливали добавлением 0.5 мл 1 М Na₂CO₃. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре AvaSpec-2048 (Avantes B. V., Нидерланды) при длине волны 420 нм (D₄₂₀).

Относительную активность β -галактозидазы определяли через соотношение D₄₂₀ оптической плотности на 1 мг тотального белка в клеточном лизате за 1 ч. Концентрацию белка в клеточных лизатах измеряли по методу Брэдфорд.

Обработка результатов. Для статической обработки результатов и построения диаграмм использовали программу Microsoft Office Excel 2007. Достоверность определяли по критериям Стьюдента и χ^2 .

Результаты

Для подтверждения факта ускоренного старения клеток больного А. Г. нами было проведено исследование классического маркера старения — уровня ассоциированной со старением β -галактозидазы (SA- β -gal) в клетках штамма 1609 и клетках здорового донора VH-10 того же пассажа. Нами было показано, что уровень относительной активности SA- β -gal в лизатах клеток 1609 достоверно выше, чем в лизатах клеток здорового донора. Для клеток штамма VH-10 (24-й пассаж) уровень относительной активности SA- β -галактозидазы при pH 4.3 составил 3.23 ± 0.16 , в то время как у клеток штамма 1609 (32-й пассаж) он повышен до 29.96 ± 1.50 ; $P \leq 0.05$ (рис. 2).

В ходе первичного визуального анализа при культивировании, а также фиксированных препаратов фибробластов 1609 нами было обнаружено, что фибробласты 1609 демонстрируют в культуре другой характер роста, чем нормальные фибробласты VH-10. При культивировании они не образуют типичных для фибробластов кон-

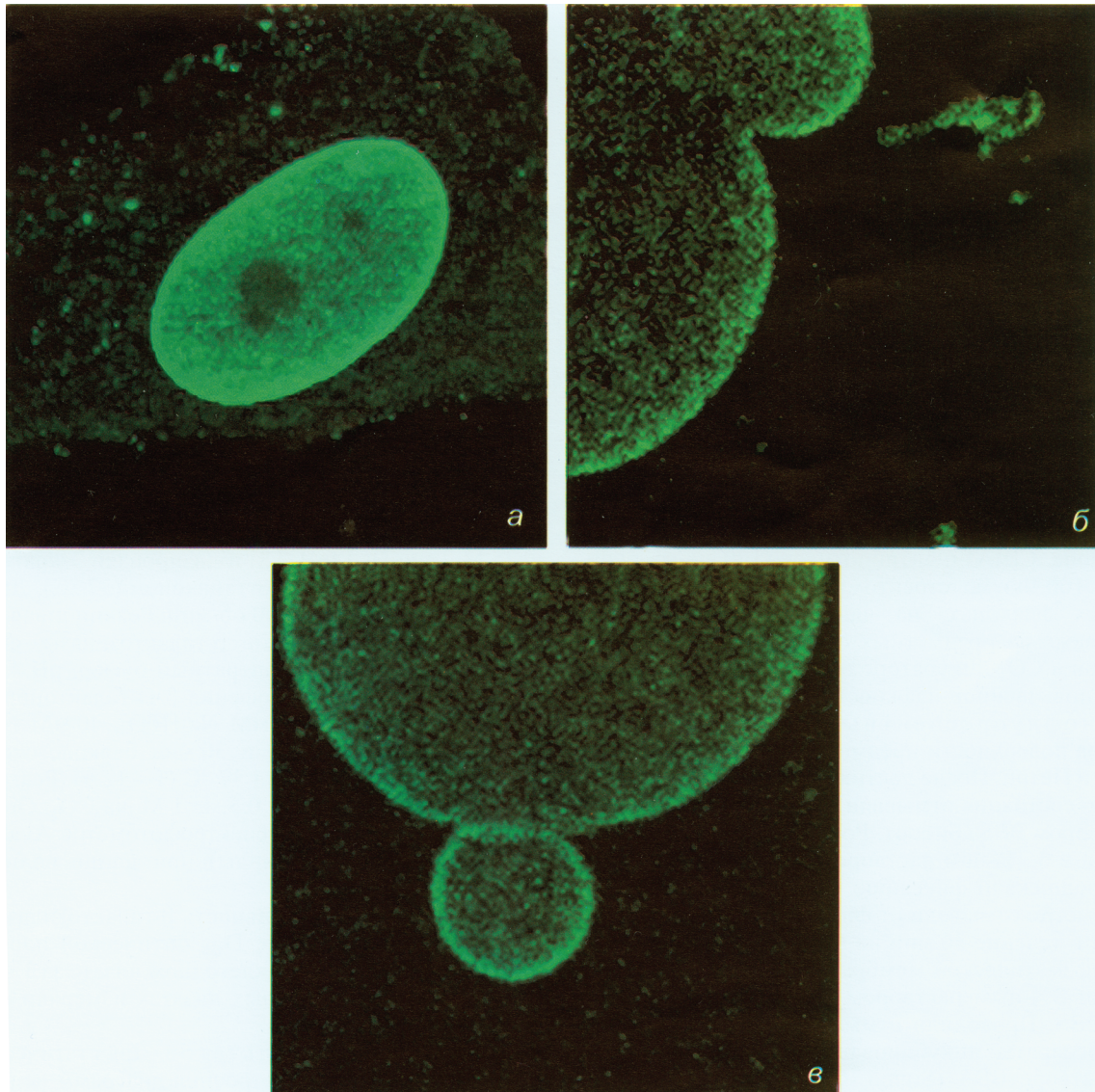


Рис. 1. Форма ядерной оболочки: норма (а), инвагинация (б) и блеб-структуры (в).

центрических структур роста и не способны к образованию плотного монослоя и регулярных клеточных контактов (рис. 3).

При исследовании структуры ламины фибробластов 1609 и VH-10 близких пассажей путем непрямого иммунофлуоресцентного окрашивания антителами к ламину А/С было обнаружено, что значительная часть фибро-

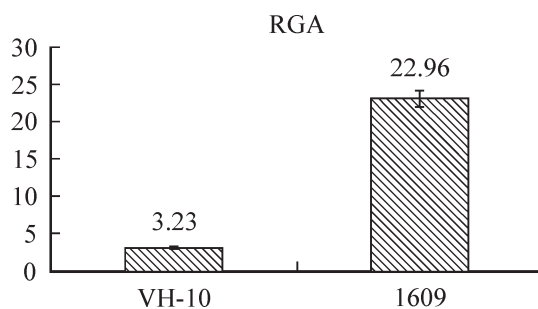


Рис. 2. Уровень относительной активности SA-β-галактозидазы в клеточных лизатах штамма VH-10 и 1609 (24-й пассаж).

бластов 1609 демонстрирует измененный по сравнению с контролем характер организации ядерной ламины. Структура этих изменений была различна, иногда встречалась фестончатая форма ламинной оболочки (рис. 4, б), а также ядра с инвагинациями различной формы (2-го типа) и структурами, которые в англоязычной литературе обозначаются термином «блеб», т. е. грибовидный нарост (3-го типа). Для сравнения штамма 1609 с контролем был произведен подсчет различных типов изменений ядерной ламины.

Оказалось, что на уровне 25-го пассажа фибробласты 1609 значительно сильнее аккумулируют в своей популяции клетки с аномалиями формы ламинной оболочки, чем контрольные фибробласты VH-10 (рис. 5). Так, если фибробласты VH-10 накапливают 11 % клеток с инвагинациями и 11 % клеток блеб-структурами, то для фибробластов 1609 этот показатель составляет 48 и 40 % соответственно.

В штамме 1609 аномалии типов 2 и 3 зачастую регистрировались в одних и тех же клетках, в то время как подобных совпадений в контроле практически не обна-

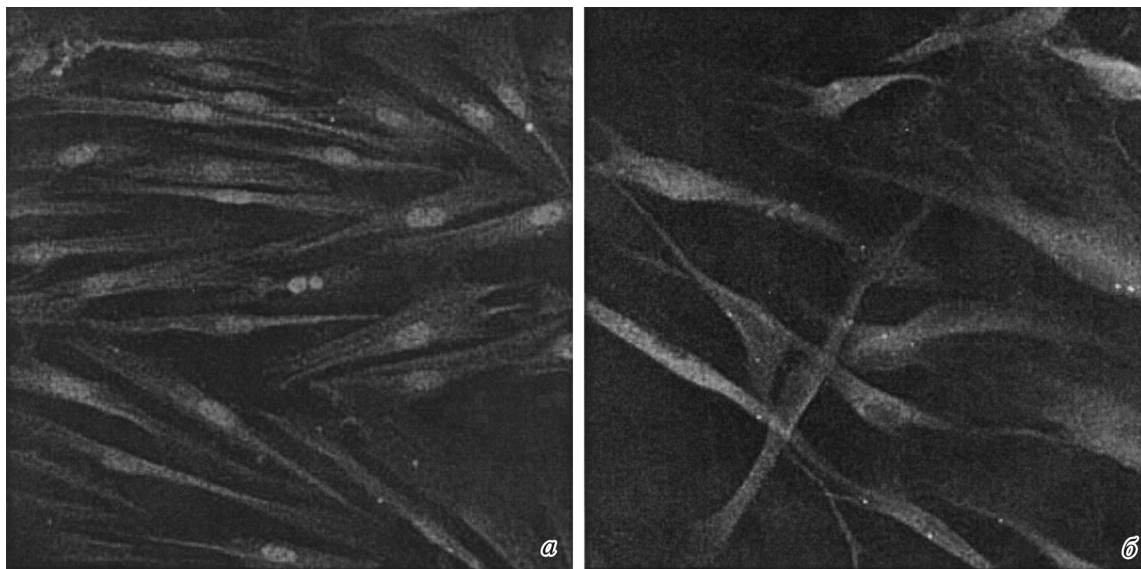


Рис. 3. Характер роста первичных фибробластах штаммов VH-10 (а) и 1609 (б).

ружено. К тому же если у фибробластов VH-10 аномалии типов 2 и 3 наблюдались в равном количестве, то фибробласты 1609 демонстрировали достоверно больший процент аномалий типа 2.

В ходе исследования фибробластов 1609 на более позднем (28-м) пассаже было обнаружено, что 6 % клеток демонстрируют аномальную цитоплазматическую локализацию ламина А/С (рис. 6). Кроме того, на поздних пассажах у фибробластов штамма 1609 были зарегистрированы аномалии сборки ядерной оболочки после митоза (рис. 7).

При исследовании структуры цитоскелета было установлено, что цитоплазма фибробластов штамма 1609 существенно обеднена β-актиновыми элементами (рис. 8).

В фибробластах здорового донора VH-10 при жизненном окрашивании митохондрий мы обнаружили развитую митохондриальную сеть (рис. 9, а), характерную для активно делящихся прикрепленных клеток

(Benard et al., 2005). При анализе распределения митохондрий в фибробластах 1609 (29-й пассаж) подобной митохондриальной сети обнаружено не было (рис. 9, б).

Обсуждение

Случаи прогерий различных этиологий чрезвычайно редки в человеческой популяции. В этой связи большую помощь в сопоставлении описаний фенотипов с данными клинического обследования может оказать работа с международными интернет-реестрами редких генетических заболеваний. При анализе клинической картины больного А. Г. были использованы ресурсы <http://www.genetests.org> и <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

С описанием различных клинических случаев синдрома Вернера нами были сопоставлены имеющиеся у нас данные анамнеза. В анамнезе нет сведений о наличии в семье наследственных заболеваний. В 20-летнем возраст-

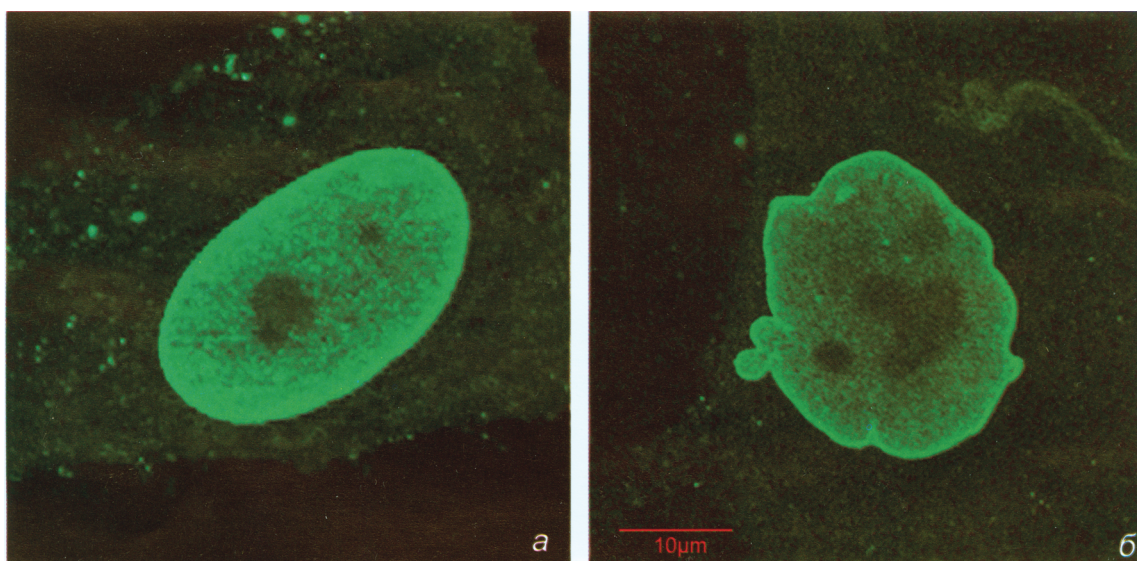


Рис. 4. Ламин А/С в фибробластах штаммов VH-10 (а) и 1609 (б).

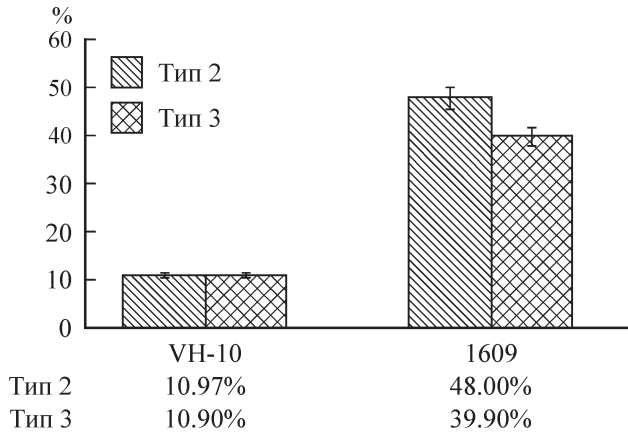


Рис. 5. Накопление aberrаций ядерной оболочки в фибробластах штаммов VN-10 и 1609 (25-й пассаж).

те больному был поставлен диагноз «аутоиммунный гепатит» и проведена терапия преднизолоном. Начиная с 21 года и до начала обследования в возрасте 26 лет организм больного претерпел комплекс быстро прогрессирующих изменений, сравнимых по фенотипическим показателям с возрастными изменениями у пожилых людей. Были описаны развитие глубоких морщин кожи лица, прекращение роста волос на лицевой зоне и поседение волос скальпа. Отмечались также потеря веса, истончение слоя подкожной жировой клетчатки, в связи с чем кожа тела обвисла, изменились пропорции тела. При детальном обследовании были выявлены остеопороз суставов пальцев и коленных суставов, значительное уменьшение размеров надпочечников, резкая инволюция тимуса. При биопсии кожи была выявлена атрофия волосяных фолликулов, а также сальных и потовых желез.

Зачастую для установления диагноза недостаточно анализа клинических проявлений, так как они могут совпадать или накладываться при разной молекулярной природе синдромов. Необходимо сопоставление данных клинического обследования пациента с результа-



Рис. 6. Аномальная цитоплазматическая локализация ламина А/С в фибробластах штамма 1609 (28-й пассаж).

тами, полученными при исследовании клеточных культур донора. Для этого из эксплантата кожи донора А. Г. был получен штамм фибробластов 1609 (Ковина и др., 2002).

В ходе первоначального исследования было обнаружено, что фибробласты 1609 демонстрируют сниженный по сравнению с фибробластами здорового донора репликативный потенциал и имеют повышенный уровень накопления стабильных хромосомных aberrаций (СХА). Уровень накопления СХА в фибробластах 1609 был сравним с показателями по этому критерию, свойственными 60-летнему человеку (Ковина и др., 2002).

Так как в случае больного А. Г. не все фенотипические и клинические проявления совпадали с характерной картиной течения синдрома Вернера, нами было высказано предположение об иной молекулярной природе прогерии взрослых у данного пациента.

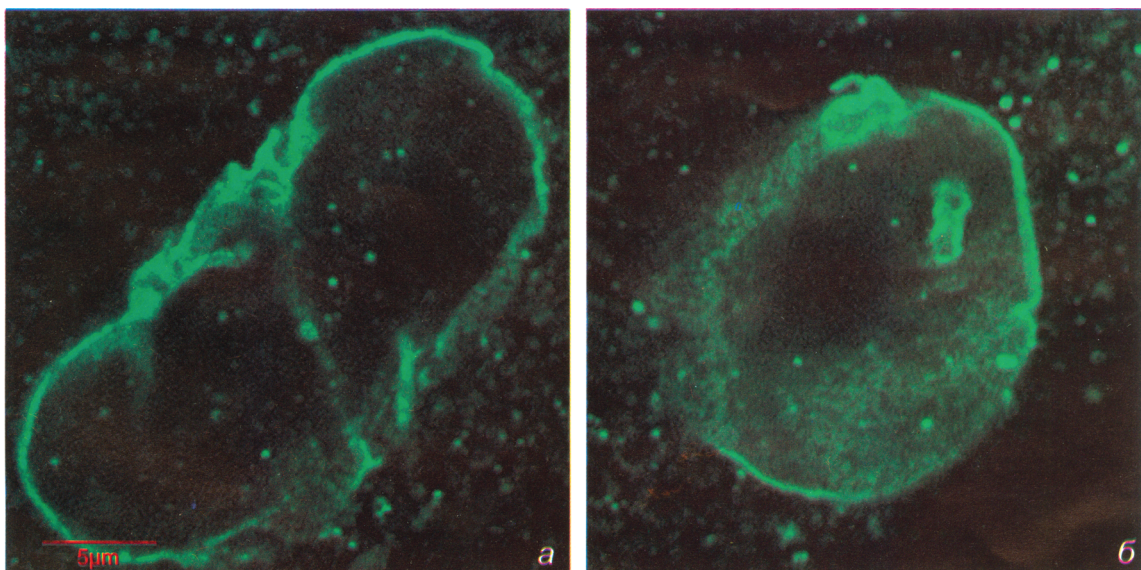


Рис. 7. Нарушения реорганизации ядерной оболочки в процессе митоза в фибробластах штамма 1609 (29-й пассаж).

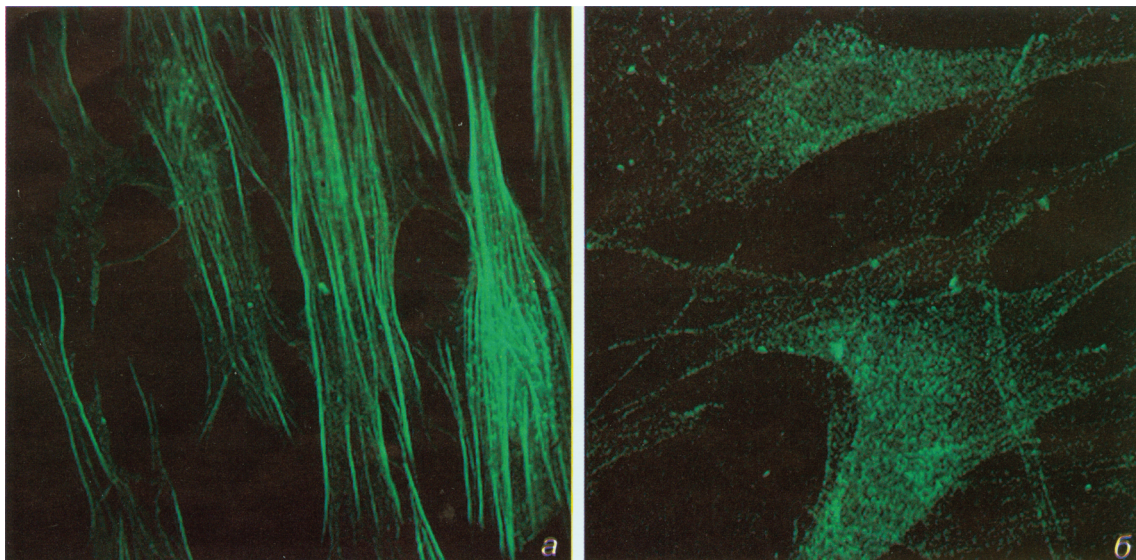


Рис. 8. β -изоформа актина в фибробластах штамма VH-10 (а) и 1609 (б).

Анализ клеток 1609 мы начали с выявления общепризнанного маркера старения — SA- β -gal. По этому маркеру клетки штамма 1609 достоверно «старше», чем клетки здорового донора. Это на клеточном уровне подтверждает клинический диагноз прогерии.

Проанализировав описания случаев атипичного синдрома Вернера, мы предположили, что в основе прогероидного фенотипа пациента А. Г. на клеточном уровне может лежать развитие ламинопатии, т. е. аномальная структура ядерной ламина. Данное предположение было подтверждено иммуноцитохимическими исследованиями локализации ламина А/С в штамме фибробластов 1609.

При анализе формы ядерной ламина клеток 1609 было обнаружено сходство с аномалиями, наблюдаемыми в клетках больных синдромом Хатчинсона—Гилфорда. Были зарегистрированы множественные инвагинации и блеб-структуры. Количество клеток, аккумулирующих блеб-структуры в штамме 1609 (40 %), было также

сравнимо с показателями, характерными для штаммов, полученных от больных синдромом Хатчинсона—Гилфорда (40—50 %) (Capell et al., 2005). В то же время известно, что при классическом синдроме Вернера деформаций ядерной оболочки вследствие дефектов экспрессии ламина А/С не выявлено (Adelfalk et al., 2005). С другой стороны, известны примеры аномальной цитоплазматической локализации ламина А/С. Накопление в цитоплазме структур, окрашиваемых антителами против ламина А/С, описано и при исследовании клеток больных синдромом Хатчинсона—Гилфорда (Dechat et al., 2007).

Одновременно в клетках больных синдромом Хатчинсона—Гилфорда были продемонстрированы нарушения кариокинеза и сборки ядерной оболочки (Dechat et al., 2007). В клетках штамма 1609 (29-й пассаж) также были выявлены клетки с аномалиями, которые можно было интерпретировать как нарушение реорганизации ядерной оболочки в процессе митоза.

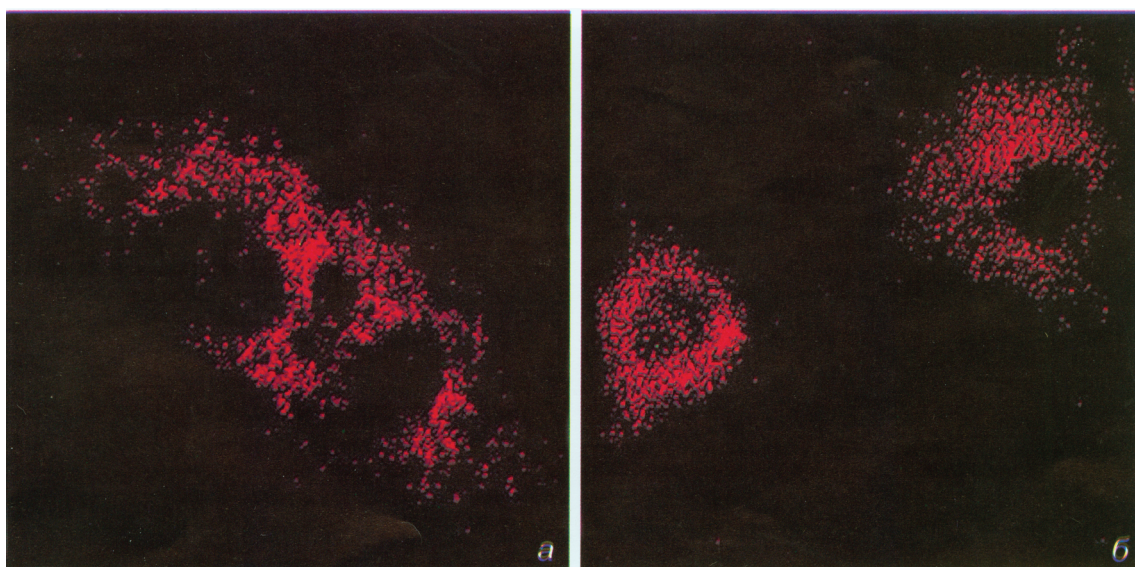


Рис. 9. Прижизненное окрашивание митохондрий в фибробластах штаммов VH-10 (а) и 1609 (б).

Особенностью клеток штамма 1609 является и их обедненность β -актиновыми компонентами цитоскелета. Известно, что изменения в скоординированной экспрессии изоформ актина сопровождаются структурными и функциональными нарушениями (Хайтлина, 2007). Вероятно, этим можно объяснить неспособность фибробластов 1609 образовывать характерные для нормальных фибробластов человека концентрические структуры роста, так как β -актиновые компоненты не выявлялись в них не только в области стресс-фибрилл, но и на лидирующем краю клеток. Также было показано, что клетки штамма 1609 не формируют плотного монослоя. По всей вероятности, фибробласты данного штамма не могут образовывать регулярные клеточные контакты.

В качестве еще одного цитоплазматического маркера старения можно рассматривать изменения в динамике митохондрий. При активной пролиферации происходит интеграция отдельных митохондрий в так называемую митохондриальную сеть (Benard et al., 2005), а ее разрушение ассоциировано с процессами клеточного старения и апоптоза (Chan, 2006). С помощью прижизненного окрашивания нами была продемонстрирована дезинтеграция митохондриальной сети в клетках больного А. Г. Мы можем предположить, что такие ранние изменения митохондриальной сети в клетках больного прогерией в данном случае могут коррелировать с цитоскелетными нарушениями.

Сопоставив все полученные нами результаты с данными литературы, мы можем прийти к выводу о ведущей роли ламинопатии в развитии прогерии у больного А. Г. Вероятно, в данном клиническом случае имеет место атипичский синдром Вернера, развившийся в результате мутации в гене *LNMA*.

Список литературы

- Ковина М. В., Хавинсон В. Х., Стрекалов Д. Л., Соловьева Д. В., Воробьева И. Е., Терехов С. М., Плещак Н. М., Прокофьева В. В., Спивак И. М., Тимонина Г. А., Михельсон В. М. 2002. Цитологические и молекулярные изменения при нетипичном случае ускоренного старения человека. Цитология. 44 (10) : 930—935.
- Михельсон В. М. 1996. Наследственное преждевременное старение человека. Клинический геронтолог. 4 : 4—10.
- Хайтлина С. Ю. 2007. Механизмы сегрегации изоформ актина в клетке. Цитология. 49 (5) : 345—354.
- Adelfelk C., Scherthan H., Hirsch-Ruffmann M., Schweiger M. 2005. Nuclear deformation characterizes Werner syndrome cells. Cell Biol. Internat. 29 : 1032—1037.
- Benard G., Bellance N., James D., Parrone P., Fernandez H., Letellier T., Rossignol R. 2005. Mitochondrial bioenergetics and structural network organization. J. Cell Sci. 120 : 838—848.
- Bonne G., Levy N. 2003. LMNA mutations in atypical Werner's syndrome. Lancet. 362 : 1585—1586.
- Chan D. C. 2006. Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development. Cell. 130 : 548—562.
- Chen L., Lee L., Kudlo B. A., Dos Santos H. G., Sletvold O., Shafeghati Y., Botha E. G., Gar A., Hanson N. B., Martin G. M., Mianb I. S., Kenned B. K., Oshima J. 2003. LMNA mutations in atypical Werner's syndrome. Lancet. 362 : 440—445.
- Csoka A. B., English S. B., Simkevich C. P., Ginzinger D. G., Butte A. J., Schatten G. P., Rothman F. G., Sedivy J. M. 2004. Genome-scale expression profiling of Hutchinson—Gilford progeria syndrome reveals widespread transcriptional misregulation leading to mesodermal/mesenchymal defects and accelerated atherosclerosis. Aging Cell. 4 : 235—243.
- De Sandre-Giovannoli A., Bernard R., Cau P., Navarro C., Amiel J., Boccaccio I., Lyonnet S., Stewart C. L., Munnich A., Le Merre M., Levy N. 2003. Lamin A truncation in Hutchinson—Gilford progeria. Science. 300 : 2055.
- Eriksson M., Brown W. T., Gordon L. B., Glynn M. W., Singer J., Scott L., Erdos M. R., Robbins C. M., Moses T. Y., Berglund P., Dutra A., Pak E., Durkin S., Csoka A. B., Boehnke M., Glover T. W., Collins F. S. 2003. Recurrent *de novo* point mutations in lamin A cause Hutchinson—Gilford progeria syndrome. Nature. 423 : 293—298.
- Gilford H. 1904. Ateleiosis and progeria: continuous youth and premature old age. Brit. Med. J. 2 : 914—918.
- Goldman R. D., Shumaker D. K., Erdos M. R., Eriksson M., Goldman A. E., Gordon Y., Gruenbaum L. B., Khuon S., Mendez M., Varga R., Collins F. S. 2004. Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson—Gilford progeria syndrome. PNAS. 101 : 8963—8968.
- Gruenbaum Y., Margalit A., Goldman R. D., Shumaker D. K., Wilson K. L. 2005. The nuclear lamina comes of age. Nature Rev. 6 : 21—31.
- Hutchinson J. 1886. Case of congenital absence of hair, 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. Lancet. 1 : 923.
- Hutchinson C. J., Worman H. J. 2004. A-type lamins: guardians of the soma? Nature Cell Biol. 6 : 1062—1067.
- Kolman A., Spivak I., Naslund M., Dusinska M., Cedervall B. 1997. Propylene oxide and epichlorohydrin induce DNA strand breaks in human diploid fibroblasts. Environ. Mol. Mutagen. 30 : 40—46.
- Lavin M. F., Shiloh Y. 1997. The genetic defect in ataxiatelangiectasia. Annu. Rev. Immunol. 15 : 177—202.
- McClintock D., Ratner D., Lokuge M., Owens D. M., Gordon L. B., Collins F. S., Djabali A. 2007. The mutant form of lamin A that causes Hutchinson—Gilford progeria is a biomarker of cellular aging in human skin. PLoS ONE. 2 (12) : e1269.
- McKinnon P. J. 2004. ATM and ataxia telangiectasia. EMBO Rep. 5 : 772—776.
- Nygren J., Cedervall B., Eriksson S., Dusinska M., Kolman A. 1994. Induction of DNA strand breaks by ethylene oxide in human diploid fibroblasts. Environ. Mol. Mutagen. 24 : 161—167.
- Reddel C. J., Weiss A. S. 2004. Lamin A expression levels are unperturbed at the normal and mutant alleles but display partial splice site selection in Hutchinson—Gilford progeria syndrome. J. Med. Genet. 41 : 715—717.
- Savitsky K., Bar-Shira A., Gilad S., Rotman G., Ziv Y., Vana-gaite L., Tagle D., Smith S., Uziel T., Sfez S., Ashkenazi S., Pecker I., Frydman M., Harnik R., Patanjali S. A., Simmons A., Cline G. A., Sartiel A., Gatti R. A., Chessa L., Sanal O., Lavin M. F., Jaspers N. G. J., Taylor A. M. R., Arlett C. F., Miki T., Weissman S. M., Lovett M., Collins F. S., Shiloh Y. 1995. A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. Science. 268 : 1749—1753.
- Scaffidi P., Misteli T. 2005. Reversal of the cellular phenotype in the premature aging disease Hutchinson—Gilford progeria syndrome. Nature Med. 11 : 440—445.
- Shackleton S., Smallwood D. T., Clayton P., Wilson L. C., Agarwal A. K., Gard A., Trembath R. C. 2005. Compound heterozygous ZMPSTE24 mutations reduce prelamin A processing and result in a severe progeroid phenotype. J. Med. Genet. 42 : e36.
- Toth J. I., Yang S. H., Qiao X., Beigneux A. P., Gelb M. H., Moulson C. L., Miner J. H., Young S. G., Fong L. G. 2005. Blocking protein farnesyltransferase improves nuclear shape in fibroblasts from humans with progeroid syndromes. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 102 (36) : 12 873—12 878.
- Vigouroux C., Caux F., Capeau J., Christin-Maitre S., Cohen A. 2003. LMNA mutations in atypical Werner's syndrome. Lancet. 362 : 1585.
- Yu C. E., Oshima J., Fu Y. H., Wijsman E. M., Hisama F., Alish R., Matthews S., Nakura J., Miki T., Ouais S., Martin G. M., Mulligan J., Schellenberg G. D. 1996. Positional cloning of the Werner's syndrome gene. Science. 272 : 258—262.

Yu C. E., Oshima J., Wijsman E. M., Nakura J., Miki T., Piusan C., Matthews S., Fu Y. H., Mulligan J., Martin G. M., Schellenberg G. D. 1997. Mutations in the consensus helicase domains of

the Werner syndrome gene. *Werner's Syndrome. Collaborative Group. Amer. J. Hum. Genet.* 60 : 330—341.

Поступила 29 IV 2008

THE ATYPICAL OF WERNER SYNDROME: EFFECT OF LAMINOPATHY

N. V. Smirnova, I. M. Spivak, N. M. Pleskach, V. M. Mikhelson

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;
e-mail: nvsmirnoff@yandex.ru

A case of adult progeria has been described. During detailed studies of the cells from this patient the nuclear lamina and cytoskeleton aberrations were detected. It has been suggested that this case is an atypical form of Werner syndrome with laminopathy — not the WRN helicase-nuclease defect.
