



UPPSALA  
UNIVERSITET

Vad är den bakomliggande mekanismen till  
Friedreich ataxia och kan vi utveckla en mer  
effektiv behandling?

Justina Åkerström

---

Independent Project in Biology  
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2018  
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

# Vad är den bakomliggande mekanismen till Friedreich ataxia och kan vi utveckla en mer effektiv behandling?

Justina Åkerström

Självständigt arbete i biologi 2018

## Sammandrag

Friedreich ataxi är en progressiv neurodegenerativ sjukdom som påverkar 1 av 50 000 personer. Sjukdomen innebär en långsam progression av ataxi, vanligtvis med sjukdomsdebut vid 10 – 15 års ålder. Den bakomliggande orsaken till sjukdomen är en mutation i genen X25 på kromosom 9. Mutationen orsakar en brist av proteinet frataxin vars funktion fortfarande inte är helt kartlagd, men det har visats att frataxin spelar en avgörande roll för regleringen av järn hos människor. I dagsläget finns det inga behandlingar för att sakta ner sjukdomsprogressionen eller bota sjukdomen, istället riktas dagens behandling mot att hantera symtomen som uppstår. Det finns dock flera terapeutiska behandlingar under utredning som antingen fokuserar på att öka frataxinnivåerna genom uppreglering av genen eller genom genterapi, men även behandling som inriktar sig på att motverka de metabola konsekvenserna av sjukdomen. De olika terapeutiska behandlingarna som forskas på ser delvis lovande ut och förhoppningsvis kommer det inom en snar framtid att finnas ett läkemedel tillgängligt på marknaden.

## Inledning

Friedreich ataxia (FRDA) är en autosomal recessiv sjukdom som påverkar både det centrala och perifera nervsystemet, samt hjärtat, och leder till en förtidig död. Den bakomliggande orsaken till sjukdomen är en brist på proteinet frataxin (FXN) (Delatycki *et al.* 2000). Sjukdomen drabbar 1 av 50 000 människor (Delatycki *et al.* 2000) och förefaller bara existera hos individer med ursprung från Europa, Nordafrika, Mellanöstern och Indien (Labuda *et al.* 2000). FRDA innebär en långsam progression av ataxi (svårigheter att koordinera frivilliga muskelrörelser) som vanligen upptäcks vid 10 – 15 års ålder och sällan bryter ut efter 25 års ålder (Bidichandani & Delatycki 1998). De två vanligaste symtomen vid FRDA är allmän klumpighet och gång-ataxi (Parkinson *et al.* 2013a), men symtomen varierar från patient till patient. Utöver de två dominerande symtomen kan även muskelsvaghet, talproblem, blåsproblem och spasticitet i nedre extremiteter ses hos FRDA-patienter. Utöver dessa symtom utvecklar även upp till två tredjedelar av patienterna kardiomyopati (hjärtmuskelsjukdom) och cirka 30 % utvecklar diabetes mellitus (Bidichandani & Delatycki 1998). Uppkomsten av sjukdomen beror till största delen av en GAA expansion i genen X25 på kromosom 9 som kodar för proteinet frataxin, men sjukdomen kan även uppkomma på grund av en punkt- eller deletionsmutation (Chamberlain *et al.* 1988, Bidichandani & Delatycki 1998, Campuzano *et al.* 1996, Montermini *et al.* 1997). Proteinets frataxin återfinns hos både eukaryoter och prokaryoter och har en avgörande roll i den cellulära regleringen av järn. Bristen på frataxin leder till en allmän förlust i den cellulära regleringen av järn, både dess tillgänglighet och reaktivitet (Bencze *et al.* 2006). Frataxin påverkar ett flertal processer i kroppen men främst spelar frataxin en viktig roll i den mitokondriska järnmetabolismen, järn-svavelkomplex (ISC) biogenesen och hem-syntesen. Vid FRDA har bristen på frataxin en viktig patologisk roll där järn ackumuleras i mitokondrien vilket medför till en störning i järnmetabolismen som resulterar i oxidativ stress (Chiang *et al.* 2016). I dagsläget finns det inget botemedel mot FRDA utan behandlingen som erbjuds är mest riktad mot symtomlindring samt täta hälsokontroller, detta för att kunna upptäcka följsjukdomar som exempelvis diabetes mellitus i ett tidigt skede och sätta in behandling för dem. Förbättrad

kunskap om frataxinets struktur och funktion kan leda till genombrottet för framtida behandlingar mot FRDA som kommer kunna motverka den störda järnregleringen hos FRDA-patienter.

Syftet med den här studien är att skapa en överblick av sjukdomen FRDA och dess bakomliggande mekanismer, specifikt frataxinets struktur och funktion. Detta för att kunna förstå framtida vägar till en mer effektiviserad och förhoppningsvis botande behandling mot FRDA.

## Sjukdomen Friedreich ataxia

### Syntombilden vid Friedreich ataxia

Ålder för debut av sjukdomen FRDA varierar mellan olika studier, men allmänt kan det sägas att sjukdomen debuterar före eller omkring puberteten med ett varierande medelvärde:  $10,5 \pm 7,4$  år (Harding 1981),  $11,6 \pm 4,5$  år (Filla *et al.* 1990) och  $15,5 \pm 8$  år (Dürr *et al.* 1996). Även om den klassiska fenotypen vid FRDA varierar stort är det vissa symtom som alltid är närvarande. Dessa symtom är gång- och lemmataxi, talstörningar samt förlust av reflexer i nedre extremiteter med sensorisk förlust (Cook & Giunti 2017).

FRDA påverkar flertalet system i kroppen som centrala och perifera nervsystemet, rörelseapparaten, myokardiet och endokrina bukspottskörteln (Cook & Giunti 2017). Som vid många andra kroniska sjukdomar ses även en högre prevalens av depression hos FRDA-patienter relaterat till friska individer (Parkinson *et al.* 2013a). FRDA bidrar till en komplex neuropatologisk syntombild med skador/förändringar på flera neurologiska system som exempelvis dorsalrotsganglier, kortikospinala banan, dentatuskärnan och sensoriska nerver (Campuzano *et al.* 1996, Delatycki *et al.* 2000, Morral *et al.* 2010). Koeppen *et al.* (2009) beskriver att just atrofi (förtvining) av dorsala ryggradsnerver och uttunning av de dorsala rötterna är viktiga attribut för FRDA. Morral *et al.* (2010) visade att skadorna/förändringarna som sker vid FRDA beror på brist av myelin. Författarna visade att hos FRDA-patienter var 11 % av en viss typ av axoner myeliniserade till skillnad från kontrollpersoner där siffran låg på 36 %. Det har även visats att det bildas abnormala schwannceller och axoner hos FRDA-patienter (Morral *et al.* 2010). Koeppen *et al.* (2009) beskriver att den dorsala ryggradsnerven är påverkad på två sätt vid FRDA. Dels sker det en utökning av satellitceller. Dessutom reduceras de sensoriska nerverna till både storlek och antal. Författarna beskriver även att FRDA primärt påverkar satellit och schwannceller och att den sekundära påverkan är förlust av neuroner och axoner. I en studie på FRDA-patienter sågs en signifikant förlust i grå materia och vit materia i cerebellum och dorsala medula och dessa strukturella förändringar korrelerade med svårighetsgrad och sjukdomsduration (Nave *et al.* 2008).

Vanliga missbildningar på rörelseapparaten hos FRDA-patienten inkluderar skolios, cavusfot och klubbfoot. Skolios är ett tillstånd då ryggraden är krökt åt sidan, cavusfot innebär högt fotvalv och klubbfoot är en defekt där en eller båda fötterna är roterade inåt och nedåt (Cook & Giunti 2017). En studie visade på att fotdeformationer uppstår i 55 – 90 % av FRDA-fallen (Parkinson *et al.* 2013a). Hos en stor proportion av FRDA-fall har det även noterats nedbrytning av muskel och fettvävnad (Parkinson *et al.* 2013a). Skolios är ett tidigt tecken på sjukdomen samt en vanlig åkomma hos FRDA-patienter. Upp till två tredjedelar av de som insjuknar i skolios kräver korrigerande operation (Tsirikos & Smith 2012), medan hos patienter med sjukdomsdebut sent i livet ses en mindre grad av skolios som ofta inte kräver operation (Parkinson *et al.* 2013a). Parkinson *et al.* (2013a) beskriver att sjukdomen FRDA

ibland kan upptäckas hos skoliospatienter där det postoperativa sjukdomsförloppet är längre och svårare än vanligt, samt att det innan eller efter operationen upptäckts andra subtila neurologiska tecken som leder till vidare neurologiska undersökningar. I en studie av Labelle *et al.* (1986) fann de skolios hos 100 % av FRDA-patienterna med en krökning av ryggraden på minst 10 % samt att 66 % av patienterna uppvisade tecken på puckelrygg. En sammanställning av flera studier visade att 33 till 94 % av patienter med FRDA uppvisade skoliossymtom och att prevalensen av skolios var över 75 % i majoriteten av studierna (Parkinson *et al.* 2013a).

Två andra tidiga tecken på FRDA är avvikande ögonrörelser samt förlorade reflexer speciellt i de nedre extremiteterna, där det senare nästan syns hos alla patienter (Parkinson *et al.* 2013a). Ett annat vanligt problem vid FRDA är hörselnedsättning på grund av att ljudinformationen inte förs över på rätt sätt till hörselnerven och vidare till hjärnan vilket kan bidra till ett utanförskap i sociala sammanhang redan tidigt i sjukdomsförloppet (Parkinson *et al.* 2013a). Ett relaterat symtom till hörselnedsättningen som också ökar utanförskapet är dysartri (svårighet för artikulerat uttal) som visar sig i mer än 90 % av FRDA-fallen vilket förvärras med sjukdomsförloppet. FRDA-personernas tal blir sluddrigt och långsamt samt obegripligt i värsta fall (Parkinson *et al.* 2013a). Sväljsvårigheter är ett annat vanligt symtom vid FRDA som kan bli problematiskt i svåra fall och leda till att patienten måste få en perkutan endoskopisk gastrostomi (PEG) det vill säga en sond i magen för tillförsel av mat och vätska (Parkinson *et al.* 2013a).

Tre andra symtom vid FRDA som hänger ihop med varandra är nedre urinvägs-, mage- och sexuella symtom. En studie behandlande kombinationen av dessa symtom visade att 80 % av patienterna upplevde nedre urinvägssymtom, 64 % upplevde problem med magen och 26 % av deltagarna i studien klassificerades som sexuellt dysfunktionella (Lad *et al.* 2017). Urin-, tarm- och sexuella symtom visade sig signifikant samkorrelera med varandra och patienter med sen debut av sjukdom eller långt gången sjukdom hade högre prevalens för nedre urinvägssymtom (Lad *et al.* 2017). Symtom på överaktiv blåsa syns även hos FRDA-patienter och dessa problem förvärras av patienternas försvagade rörelseförmåga (Parkinson *et al.* 2013a).

Hjärtproblem skulle antagligen kunna ses hos majoriteten av FRDA-patienter ifall det undersöktes även om de flesta patienter är asymtomatiska (Parkinson *et al.* 2013a). En studie på ett stort antal FRDA-patienter (n = 205) visade att 68 % uppvisade symtom på kardiomyopati varav 18 % var klassificerade som svår, 59 % mild och 24 % intermediär (Weidemann *et al.* 2012). Hos FRDA-patienter är högt blodtryck sällan ett problem, oftast ligger blodtrycket lågt eller normalt (Weidemann *et al.* 2012). Vid analys av hypertrofi (vävnadsförstoring), diastolisk funktion (hjärtmuskeln förmåga att slappna av) och systolisk funktion (hjärtats pumpfunktion) utifrån elektrokardiogram (EKG) från FRDA-patienter såg man att dessa inte är relaterade till varandra hos FRDA-patienter varken mellan patienter eller inom patienter. Dessa resultat leder till att EKG-analyser är svåra att använda sig av vid sjukdomsbedömning av FRDA (Regner *et al.* 2012). Det är ovanligt att kardiomyopati utvecklas före de neurologiska symtomen och även om patienten först söker för hjärtproblem hittas alltid evidens på neurologiska symtom som uppstått före hjärtproblemet (Parkinson *et al.* 2013a).

Ett annat exempel på en följsjukdom till FRDA som uppkommer senare i sjukdomsförloppet är diabetes mellitus. Dürr *et al.* (1996) fann i sin studie att 32 % av FRDA-patienterna uppvisade symtom på diabetes eller nedsatt glukostolerans. Tidig debut av FRDA och

långvarig sjukdom är riskfaktorer för att utveckla diabetes mellitus, vilket kan visa sig akut genom ketoacidosis (syraförgiftning som beror på insulinbrist) (Cook & Giunti 2017).

Den vanligaste dödsorsaken hos FRDA-patienter är hjärtproblem, men även aspirations pneumoni är förekommande (Parkinson *et al.* 2013a). I en retrospektiv studie för att undersöka dödsorsaken hos FRDA-patienter sågs det att 59 % av dödsfallen var hjärtproblems relaterade och att dessa dödsfall skede tidigare i sjukdomsförloppet än dödsfall av andra orsaker. De två vanligaste orsakerna till hjärtrelaterat dödsfall var hjärtsvikt och arytmier (Tsou *et al.* 2011). Genomsnittliga dödsålder i en stor kohortstudie på FRDA patienter var 36,5 år med en variation mellan 12 – 87 år (Reetz *et al.* 2015).

Utöver den klassiska FRDA-fenotypen finns även varianter av sjukdomen med senare debut samt mildare symtombild, dessa klassificeras som ovanliga FRDA-fall. Dessa kan utvecklas så sent som vid 60 – 70 års ålder och delas in i två varianter: (1) sen debut FRDA (LOFA) eller väldigt sen debut FRDA (VLOFA) och (2) FRDA utan reflexbortfall (FARR). LOFA och VLOFA är definierade som FRDA-debut efter 25 års ålder respektive efter 40 års ålder (Parkinson *et al.* 2013a). Den kliniska skillnaden mellan dessa ovanliga fall och klassisk FRDA är att hos de icke klassiska fallen ses en betydligt lägre prevalens av icke-neurologiska symtom jämfört med klassiska FRDA-fall. Det dominerande symtomet hos icke klassiska fall av FRDA är fortfarande ataxi. Det finns även fall av extremt tidig debut, före 5 års ålder. I Hardings (1981) studie fann hon att 20 % av FRDA-fallen berodde på extremt tidig debut. Det är just dessa icke-klassiska FRDA-patienter som bidrar till de spridda resultaten av symtomp prevalens då dessa antingen inkluderas eller exkluderas i studier kring FRDA. Harding (1981) beskriver även ett annat problem relaterat till detta bland tidigare studier, vilket är att i tidigare studier inkluderades tidvis icke FRDA-patienter av misstag.

Att diagnostisera FRDA är vanligtvis inte svårt vid långt gången sjukdom, utan det är specifikt vid tidigt skede av sjukdomen som den kan vara svårdiagnostiserad. Kriterier för sjukdomen har arbetats fram av Harding (1981). Dessa kriterier inkluderar de primära symtomen: sjukdomsdebut före 25 års ålder, progressiv extremitet- och gångataxi samt frånvaro av reflexer i nedre extremiteter. Kriterierna inkluderar även de sekundära symtomen dysartri samt Babinskis tecken (uppåtböjning av stortån och en solfjäderformad formation av de resterande tårna när det stryks ett föremål utefter ytterkanten på fotsulan).

### **Orsaken till Friedreich ataxia**

Den bakomliggande orsaken till sjukdomen FRDA är en mutation i genen X25 som identifierats i den kritiska regionen för FRDA-lokuset på kromosom 9p13. Kartläggningen av genen till kromosom 9 skedde först år 1988 av Chamberlain *et al.* (1988). Denna gen, som kodar för proteinet frataxin, kallades initialt X25 men i senare forskning benämns den FRDA eller FXN (Delatycki *et al.* 2000). I denna artikel kommer jag dock använda den äldre benämningen X25 för att det inte ska bli några missförstånd då sjukdomen också förkortas FRDA. Campuzano *et al.* (1996) var med sin studie först med att visa att en GAA trinukleotid expansion vid intron ett på X25 genen är den bakomliggande orsaken till FRDA. Denna GAA expansion var homozygot i 98% av fallen och de resterande bestod av heterozygota individer med GAA expansion i ena allelen och en punktmutation i den andra. Den bakomliggande orsaken till FRDA utvecklades ett år senare och beskrevs då som att sjukdomen FRDA beror till 95 % av en GAA trinukleotid repetition vid intron 1 på X25 på båda allelerna och de resterande 5 % orsakas av samma GAA repetition på ena allelen samt en punkt- eller deletionsmutation på den andra allelen (Montermini *et al.* 1997). Genom kvantifiering av frataxin-mRNA i olika vävnader ses de högst nivåerna av frataxin i hjärntat, skelettmuskler, leverceller, bukspottkörteln samt små nivåer i andra vävnader som hjärnan. Alltså är det högst

nivåer av frataxin-mRNA på de ställen i kroppen som påverkas mest vid FRDA (Campuzano *et al.* 1996).

Andelen GAA-repetitioner kan delas in i fyra klasser; normal 5-8 repetitioner, lång normal 16-35 repetitioner, premutation (muterad normal) 35-65 repetitioner, fullt expanderad 66-1600 repetitioner (Campuzano *et al.* 1996, Dürr *et al.* 1996, Cossee *et al.* 1997, Montermini *et al.* 1997). I studier av Montermini *et al.* (1997) och Cosse *et al.* (1997) antydde deras resultat att den expanderade GAA-repetitionen hos FRDA-patienter har sitt ursprung från expansioner av normala alleler i riskzonen alltså längre normala GAA-expansioner.

Ålder för debut av sjukdomen är korrelerat till längden av GAA-expansionen, längre repetition ger tidigare debut, samt längre GAA-expansion korrelerar med svårare fenotyp, snabbare progression och högre prevalens av kardiomyopati (Dürr *et al.* 1996). I Campuzanos *et al.* (1997) studie visade författarna att den kortare allelen av de två expanderade allelerna (GAA1) korrelerar omvänt med nivåerna av frataxin i lymfoblastcellinjer från FRDA-patienter vilket då leder till att korrelationen mellan GAA-repetitionen och sjukdomsdebut samt progression av sjukdomen är korrelerat med GAA1. En stor kohortstudie (n = 592) bekräftar att tidigare sjukdoms-debut sammanfaller med större GAA-expansioner och snabbare sjukdomsprogression. För varje hundrade GAA-repetition på GAA1 minskar sjukdomsdebuten med två till tre år (Reetz *et al.* 2015). För fallen med sen debut av sjukdomen ses vanligen en långsammare progression av sjukdomen samt kortare GAA-expansioner. Vid tidig debut av sjukdomen sker en snabbare sjukdomsprogression och en högre frekvens av icke-neurologiska symptom som diabetes, kardiomyopati och skolios samt en längre GAA-expansion (Parkinson *et al.* 2013a). Fenotypen för FRDA varierar stort i ålder för sjukdomsdebut, sjukdomsprogression och allvarlighetsgrad vilket tyder på att det är flera faktorer som ligger bakom den kliniska bilden. Filla *et al.* (1996) visar att det är endast upp till ungefär 50 % som GAA1 påverkar ålder för sjukdomsdebut.

Det finns ingen klar bild kring hur GAA-expansionen minskar frataxin-transkriptionen och den kompletta reaktionsvägen som leder till FRDA (Evans-Galea *et al.* 2014). Det finns dock två troliga idéer kring mekanismen som gör att GAA-expansionen nedreglar uttrycket av X25; den första är bildandet av trippelhelixar som interfererar med elongeringen under transkriptionen (Sakamoto *et al.* 1999) och den andra är epigenetiska förändringar som leder till heterokromatinformationer som försämrar transkriptionen (Herman *et al.* 2006). I studien av Greene *et al.* (2007) visade författarna att regionen nära GAA-repetitionen var metylerad hos både friska och sjuka individer men att metyleringen var mer omfattande hos sjuka individer. Skillnad i nivå av metylering mellan FRDA-patienter och friska kontrollpersoner beror på en korrelation mellan CpG-metylering och GAA-expansionens storlek. Med CpG menas bredvidliggande C och G nukleotider binder varandra. Högre nivåer av metylering ledde till tidigare debut av sjukdomen (Castaldo *et al.* 2008). Studien av Greene *et al.* (2007) visade även på att expansionen av GAA-repetition inducerar ökad metylering av histoner samt att kromatinändringar relaterat till GAA-repetitionen kan påverka transkriptionen negativt. En process som också inhiberar transkriptionen hos FRDA-patienter är klistrigt DNA som formas genom sammanslagning av två purin-purin-pyrimidin (RRY) triplexer (Sakamoto *et al.* 1999, Sakamoto *et al.* 2001). Sakamoto *et al.* (2001) såg i sin studie att vid över 20 % inkorporation av GGA istället för GAA i GAA-expansionen upphävdes det klistriga DNA:t samt att vid lägre än 11 % inkorporation av GGA formades klistrigt DNA likt de icke GGA inkorporerade DNA:t. Studien visade även att ju mer inkorporering av GGA i GAA-repetitionen desto lägre nedreglering av transkriptionen i försök gjorda *in vitro*. Det har även setts en negativ korrelation mellan GAA-expansionen och mRNA nivåer, alltså ju längre GAA repetition ju

lägre nivåer av frataxintranskript. I en studie där de mätte nivåerna av mRNA-frataxin hos FRDA-patienter, FRDA-bärare samt friska individer framgick det att FRDA-patienter samt FRDA-bärare hade lägre nivåer av mRNA-frataxin i förhållande till friska individer (Pianese *et al.* 2004). För FRDA-patienterna var mRNA-nivåerna mellan 13 – 30 %, och för FRDA-bärare 40 %, av nivåerna hos friska individer.

## Frataxin, struktur och funktion

### Struktur

Genen X25 består av sju exoner: exon 1 – 4, 5a, 5b och 6. Det huvudsakliga transskript som bildas vid transkription av X25 genen består av fem exoner, exon 1 – 5a, som kodar för det 210 aminosyror långa proteinet frataxin (Dürr *et al.* 1996). Frataxin har en väldigt unik uppbyggnad av 7 komponenter med två  $\alpha$ -helixar i ändterminalerna som bygger upp ett plan och fem antiparallella  $\beta$ -flak i mitten som bygger upp det andra planet samt ett sjätte som skär det båda planen. Frataxins struktur kan liknas den hos en klämmacka (Figur 1) (Dhe-Paganon *et al.* 2000, Bencze *et al.* 2006). I humant frataxin finns även ett sjunde  $\beta$ -flak (Bencze *et al.* 2006).



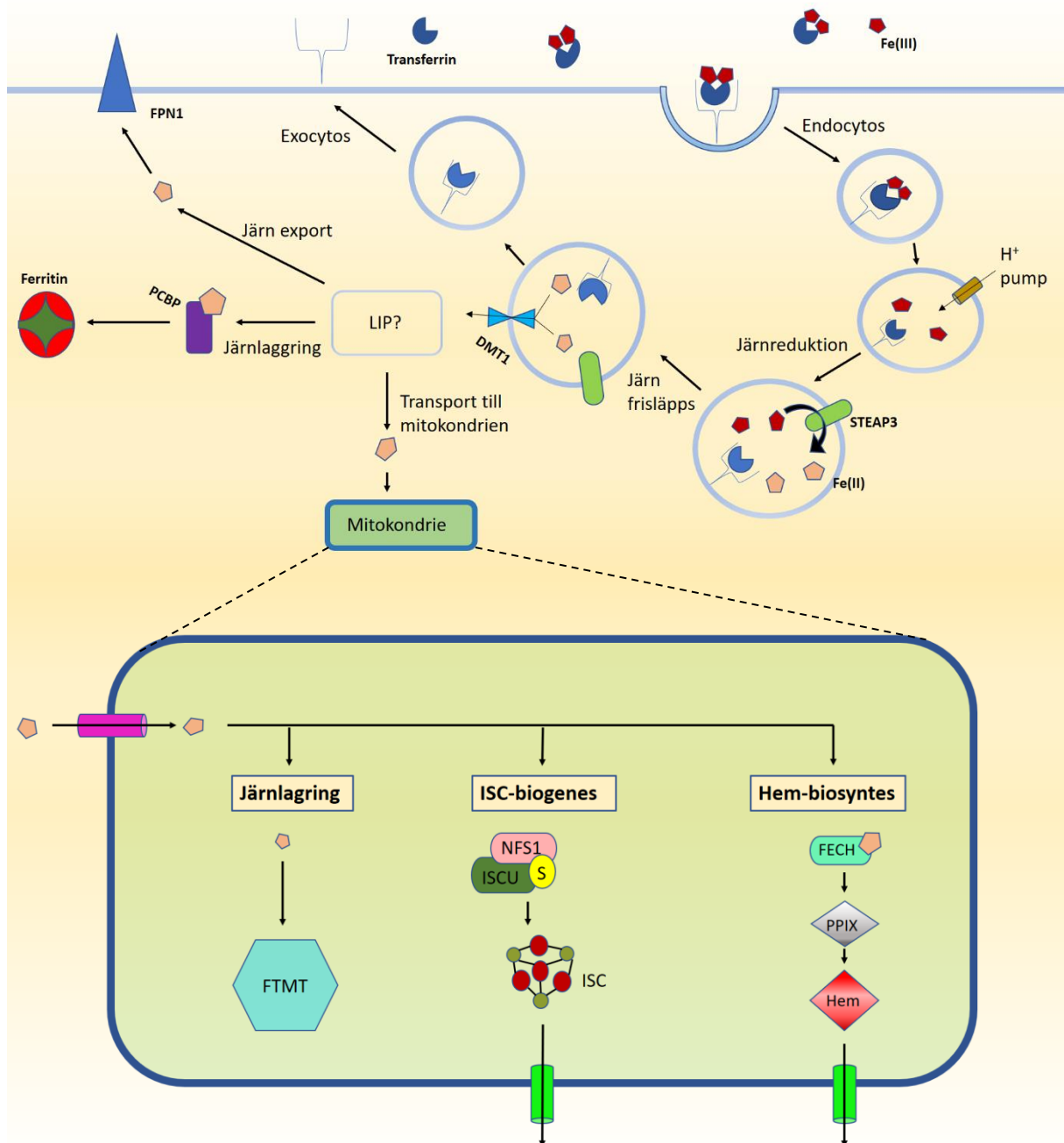
Figur 1. Strukturen för proteinet frataxin med en  $\alpha$ -helix på vardera ände och 6 -7  $\beta$ -flak i mitten. Image of 1EKG (Dhe-Paganon S, Shigeta R, Chi Y-I, Ristow M, Shoelson SE. 2000. Crystal Structure of Human Frataxin. *Journal of Biological Chemistry* 275: 30753–30756.) created with JSmol (Slashdot Media. 2017. JavaScript-Based Molecular Viewer From Jmol. SourceForge Media, San Diego, USA URL: <https://sourceforge.net/projects/jsmol/>)

I Campuzanos *et al.* (1997) studie visade de att frataxin är lokaliserat till mitokondrien och det mitokondriella membranet. Författarna kunde också visa att den signalpeptid som reglerar mitokondrielokalisering består av de första 20 aminosyror som avlägsnas vid den post-translationala processeringen av proteinet till aktiv form. Frataxin processas i två steg av mitokondriellt bearbetningspeptidas (MPP). I steg ett klyvs det 210 aminosyror långa frataxinfragment mellan Gly41 och Lue42 och bildar intermediärt frataxin (i-FXN) som sedan klyvs en gång till. Var den andra klyvningen sker är omtvistat; tre olika klyvningar har rapporterats först klyvning mellan Ala55 och Ser56 vilket leder till ett 56 – 210 frataxin (m56-FXN), den andra som klyvs mellan aminosyra 77 – 78 vilket leder till ett 78 – 210 frataxin (m78-FXN) och den tredje som klyvs mellan Lys80 och Ser81 vilket leder till ett 81 – 210 frataxin (m81-FXN) (Cavadini *et al.* 2000, Schmucker *et al.* 2008). Schmuckers *et al.* (2008) visade i sin studie att den huvudsakliga formen av aktivt frataxin är m81-FXN och att m56-FXN inte finns vid normala fysiologiska förhållanden. Författarna visar även att m78-FXN motsvarar den variant av frataxin som beskrivits som nedbruten form av frataxin (d-FXN). Det första steget i klyvningen sker fort och det andra är det steg som är det hastighetsbegränsande steget och därmed det steg som begränsar nivåerna av aktivt frataxin i mitokondrien.

### Funktion

Den exakta funktionen av frataxin är inte helt kartlagd men forskning tyder på att frataxin är viktig för järnmetabolism i mitokondrien (Chiang *et al.* 2016). Järn har en viktig roll i flertalet cellulära processer som ansvarar för celltillväxt, celledelning och celledöd. Järn tas upp i kroppen genom att transferrinbundet järn (III) binder till TfR1 receptorn och förs in i cellen

genom endocytos (Figur 2) (Anzovino *et al.* 2014). Efter endocytos pumpas väte in i endosomen för att järnet ska släppa från transferrinet och reduceras till järn (II) av STEAP 3 och sedan transporteras ut från endosomen av DMT1. Transferrinet och TfR1 förs sedan tillbaka till cellytan för att kunna återanvändas vid nya järnupptag. När järn (II) väl befinner sig i cytosolen går den eventuellt in i en intracellulär järnpool. Från denna pool kan järnet antingen exporteras ut från cellen via en exportpump (Fpn1), transporteras av PCBP till cytosol ferritin för järnlagring eller transporteras till mitokondrien för biosyntes av essentiella metaboliter (Anzovino *et al.* 2014).



Figur 2. Förenklad modell för cellulärt och mitokondriellt järnupptag och utnyttjande. Järnet tas upp i cellen genom endocytos och förs till en järnpool för att distribueras mellan järnexport, järnlagring och transport till mitokondrien för järnlagring, hem-biosyntes eller ISC-biogenes. Bilden är inspirerad av Chiang *et al.* (2016) samt Chiang *et al.* (2017).



Järn som förs in i mitokondrien utnyttjas till tre huvudsakliga metaboliska vägar: mitokondriell järn-svavelkomplex (ISC) biogenes, hem-biosyntes och mitokondriell järnlagring (Figur 2) (Chiang *et al.* 2016). ISCs är viktiga prostetiska grupper (proteinheter som inte är uppbyggda av aminosyror) som finns hos ett brett antal proteiner i mitokondrien, cytosolen och cellkärnan. Dessa proteiner spelar en viktig roll i metabolismen som metabolisk katalys, elektronöverförare samt vid reglering av genuttryck. ISCs kan existera i flertalet olika konformationer men de vanligaste bland däggdjur är [2Fe-2S] och [4Fe-4S] komplex. Strukturen för ISCs i mitokondrien består av cystein-desulfuras (NFS1) som attraherar svavel från cysteinrester, ett litet stabiliserande medhjälpprotein (ISD11) och Fe-S komplex enzym (ISCU) som skapar grundstrukturen för nya komplex. Hem är en viktig kofaktor för proteiner som hemoglobin och myoglobin. I det sista steget i hem-syntesen för enzymet ferrochelatase (FECH) in järn i heme prekursor protoporphyrin IX (PPIX) för att generera hem. Järn kan lagras i mitokondrien av mitokondriellt ferritin (FTMT) vilket förhindrar järntoxicitet och oxidativ skada i mitokondrien (Chiang *et al.* 2016).

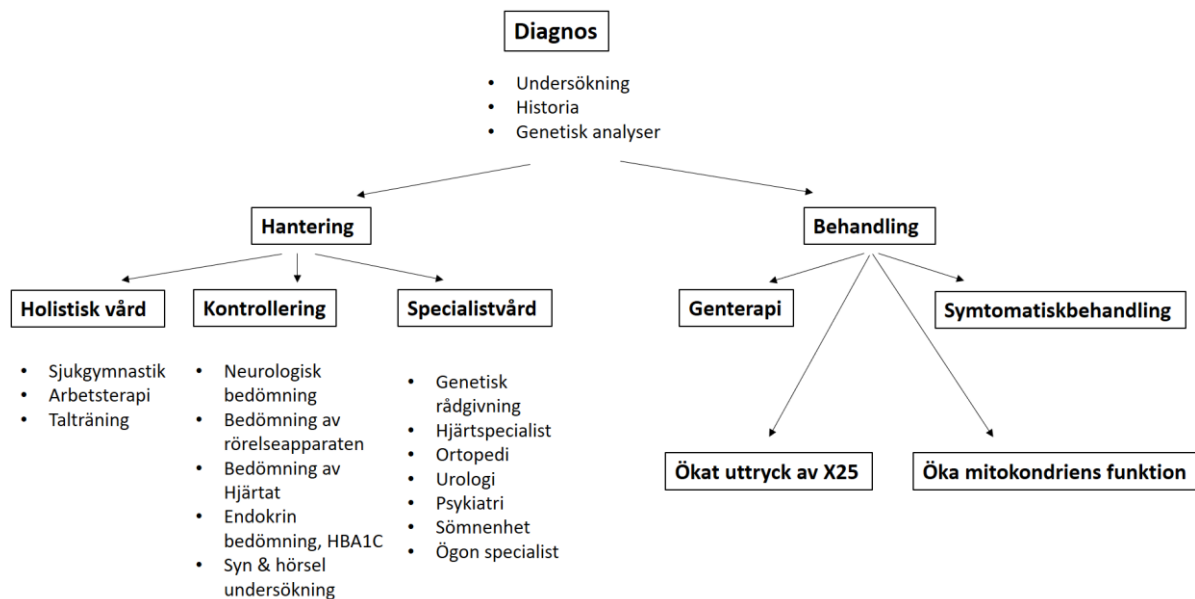
De tre huvudsakliga reaktionsvägarna involverade i järnmetabolismen i mitokondrien som nämndes ovan; ISC-biogenes, hem-biosyntes och järnlagring påverkas vid frataxinbrist (Figur 2). Utöver detta har frataxin även föreslagits fungera som ett järn-chaperon, ett järnlagringsprotein och reglerare av järnmetabolismen (Chiang *et al.* 2016). Den viktigaste accepterade funktionen för frataxin är just påverkan på ISC-biogenesen. Detta på grund av frataxins förmåga att binda järn som möjliggör frataxins roll som ett järn-chaperon (Chiang *et al.* 2017). Frataxin har visats interagera med NFS1, ISD11 och ISCU, alltså ISC-kärn-komplexens proteiner. Denna interaktion har visats vara järnberoende vilket leder till antagandet att frataxin skulle kunna fungera som en järndonator till ISC-komplexen (Chiang *et al.* 2017). Frataxins föreslagna roll i hem-biosyntesen bygger på frataxins bindningsaffinitet till FECH och att frataxin kan fungera som järndonator i hem-biosyntesen samt det faktum att FECH är ett enzym innehållande ISC vilket gör att frataxin även indirekt påverkar hem-biosyntesen (Chiang *et al.* 2017). Frataxin föreslogs att fungera som ett järnlagringsprotein på grund av oligomerisering av frataxin i jäst (Chiang *et al.* 2016). Detta är dock omstritt då järnbindningskapaciteten är lägre för humant frataxin än jästfrataxin samt det faktum att FTMT har accepterats ha rollen som järnlagringsprotein i människomitokondrier. Frataxins roll som möjlig järnreglerare bygger på frataxins föreslagna roll som metabolisk switch. Frataxin kan fungera som en metabolisk switch genom att frataxinet fördelar järnet mellan de metaboliska vägarna i mitokondrien, ISC-biogenes och hem-biosyntes (Chiang *et al.* 2016). Frataxin har även föreslagits fungera som en järnsensor, speciellt vid regleringen av ISC-biogenesen genom att läsa av tillgängligheten av apo-ISC i förhållande till mängden fritt järn för att kunna balansera ISC-biogenesen för att minimera formationen av ostabila proteiner (Chiang *et al.* 2016).

Bristen på frataxin vid FRDA spelar en viktig patologisk roll där, som nämnts tidigare, järn ackumuleras i mitokondrien vilket stör järnmetabolismen och leder till oxidativ stress. Normalt i mitokondrien sker det ett inflöde och utflöde av järn så att det upprätthålls låga nivåer av järn samt fria radikaler ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) inne i mitokondrien.  $\text{OH}^{\cdot}$  molekylen är en hydroxylradikal som är mycket giftigt för cellen genom att den reagerar med flertalet intracellulära komponenter som DNA, membranlipider och kolhydrater. Vid FRDA påverkas detta då frataxin troligen fungerar direkt på nivåerna av järn-utflöde från mitokondrien samt att frataxin även kan ha en indirekt effekt på inflödet av järn genom en minskning av mitokondriellt intermediärt peptidas (MIP). De reducerade nivåerna av frataxin hos FRDA patienter tros leda till att utflödet av järn i mitokondrien inhiberas vilket leder till att de

cytosoliska järnnivåerna minskar och upptaget av järn in till mitokondrien ökar. De ökade nivåerna av järn i mitokondrien leder till högre nivåer av de giftiga fria radikalerna genom fentonreaktion:  $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\cdot$ , som leder till cellulär skada och död (Delatycki *et al.* 2000).

## Behandling

Den komplexa och varierande kliniska fenotypiska bilden hos FRDA-patienter leder till att det krävs ett brett tvärvetenskapligt förhållningssätt i hanteringen av patientgruppen och dess behandling. I Figur 3 visas flödesschemat för hantering och möjliga behandlingsvägar efter diagnostisering av FRDA. Det har genom åren genomförts flertalet studier med syfte att finna sjukdomsmodifierande substanser men än så länge finns det inga läkemedel som stoppar progressionen av sjukdomen. Därav riktar sig dagens behandling in mot hantering av symtomen och problemen som uppstår (Cook & Giunti 2017). Med anledning av detta är det viktigt att patienter som diagnostiseras med sjukdomen tidigt blir remitterad till ett specialiserat ataxiacenter. Detta för att patienten ska få vård av ett multidisciplinärt team som kan skraddarsy rätt behandling för den specifika patienten. Behandlingen riktar sig mot att förlänga patientens självständighet i det dagliga livet och ett upprätthållande av livskvalité. Vid diagnostisering är det även av vikt att remittera till en genetisk vägledare för diskussioner kring ärftlighet, betydelse för familjemedlemmar och möjligheten till testning (Cook & Giunti 2017).



Figur 3. Flödesschema över hantering och möjliga vägar till behandling efter diagnostisering av sjukdomen FRDA. Bilden är inspirerad av Cook & Giunti (2017).

## Konventionell behandling

### Handhavande av symtom

Vid handhavande av symtomen är det viktigt att tillhandahålla hjälpmedel till patienterna som gånghjälpmedel eller rullstol för att hjälpa patienten med dess nedsatta rörelseförmåga. Det är

även viktigt med ortopediska interventioner för att avhjälpa problem som skolios och fotdeformationer samt matrestriktioner eller PEG för att underlätta problemen orsakade av dysartri (Bidichandani & Delatycki 1998). Som nämnts tidigare är bearbetningen av ljud påverkad vid FRDA speciellt möjligheten att urskilja tal från bakgrundsljud. Ett sätt som visats hjälpa FRDA-patienter i vardagen med detta problem är individuella FM- hörenheter (Rance *et al.* 2010). Rehabilitering kan även hjälpa till att motverka effekterna av ataxi som svaghet och spasticitet. Speciellt har intensiv slutenvårds-rehabilitering visat sig ha goda effekter där progressionen av sjukdomen stoppas eller till och med motverkas (Milne *et al.* 2012). Ett viktigt verktyg till att försöka bibehålla balans, flexibilitet och styrkan i kroppen som försämras på grund av gång och lemataxin hos FRDA-patienter är sjukgymnastik. Sjukgymnastik har visats minska symtom på ataxi och öka motoriken hos FRDA-patienter (Ilg *et al.* 2009). Arbetsterapi möjliggör även bedömning av och optimering av funktionell status hos FRDA-patienter och därmed möjligheten att kunna individanpassa hjälpmedel för att minska en individs hinder i det vardagliga livet. Detta är en viktig del av den holistiska vården för att kunna maximera en individs självständighet (Cook & Giunti 2017).

#### *Handhavande av sekundära symtom*

För de sekundära symtomen är det viktigt med behandling mot spasticiteten för att undvika permanent kontraktion samt skoliosbehandling för att undvika hjärt- och lungproblem. Det är även viktigt med behandling mot diabetes mellitus samt hjärtproblem för att undvika komplikationer av dessa sjukdomar (Bidichandani & Delatycki 1998). För FRDA-patienter som ska genomgå någon form av operation är det extra viktigt att göra en grundlig hjärtundersökning före operationen och både pre- och postoperativa förloppet kräver ett multidisciplinärteam (Cook & Giunti 2017). Sömnpå problem är även ett viktigt sekundärt symtom som inte får hamna i skymundan då exempelvis obehandlad sömnapné kan leda till neurologiska samt hjärt- och lungkomplikationer.

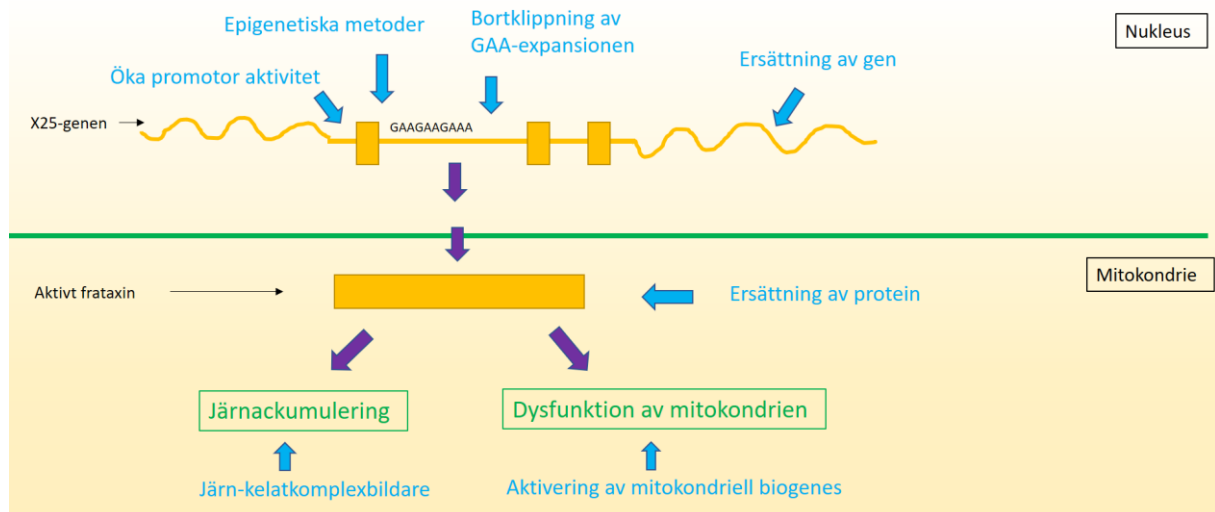
#### *Övervakning*

Det är viktigt med årliga kontroller av FRDA-patienter där man gör en grundlig undersökning som exempelvis EKG, examination av skolios, fotdeformation och spasticitet (Bidichandani & Delatycki 1998). Det är även viktigt för patienter att genomgå regelbundna ögonundersökningar och snabbt hänvisas till en oftamolog (ögonspecialist) vid symtom (Cook & Giunti 2017). Det är också av största vikt att genomföra årliga kontroller av serum nivåer av HbA1c (långtidsblodsocker) och glukosbelastning för att kunna upptäcka diabetes mellitus tidigt och sätta in behandling (Cook & Giunti 2017). Forskning har visat att det inte finns någon korrelation mellan närvaron av hjärtkomplikationer och svårighetsgrad av det neurologiska engagemanget i sjukdomen vilket betonar vikten av noggranna hjärtkontroller hos alla grupper (Weidemann *et al.* 2012). Då den minsta prevalensen för sömnstörningar hos FRDA-patienter är 21 % vilket är högre än hos normala befolkningen där prevalensen ligger på ungefär 3 –7 % gör detta att det är viktigt att följa upp patienter med FRDA för att kunna upptäcka exempelvis sömnapné hos patienterna (Corben *et al.* 2013). Sömnapné har en större chans att utbryta efter långvarig eller grav sjukdomsbild vilket gör det extra viktigt att undersöka sömnen vid dessa förhållanden (Corben *et al.* 2013). Dysartri som är ett primärt symtom hos FRDA visade sig hos alla patienter i studien av Folker *et al.* (2010) och inkluderade både tal och svälj svårigheter. Detta visar på vikten av tidig och kontinuerlig kontakt med specialisthjälp bedömning, uppföljning och behandling. Utöver själva uppföljningen är det även av vikt att patienter vistas i en sådan miljö som minimerar riskerna för fall som ojämn mark och alkohol som förvärrar en persons ataxi.

Det finns ingen accepterad mätskala för att mäta progressionen av FRDA dock har det över åren utvecklats flertalet olika typer av kliniska uppskattningsskalor för bedömning av sjukdomens svårighetsgrad och ataxiprogession (Bürk *et al.* 2013, Parkinson *et al.* 2013a). För närvarande är de tre skalor som mest används inom vården och kliniska studier vilka är: International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS), Friedreich Ataxia Rating Scale (FARS) och Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA). Alla tre skalorna mäter motoriska aspekter korrelerat till den nedsatta funktionen av cerebellum som gång och lemmataxi. ICARS och FARS inkluderar också andra neurologiska bedömningar som till exempel dysartri. FARS inkluderar även icke-fysiska funktioner som aktiviteter i dagliga livet medan SARA är den skala som går fortast att använda sig av (Bürk *et al.* 2013).

### Icke konventionell behandling

Det finns ingen specifik behandling som stoppar progressionen av sjukdomen hos FRDA-patienter, dock finns det flertalet behandlingar som är under utredning. De terapeutiska inriktningarna för dessa behandlingar fokuserar på tre områden: (1) behandling som riktar sig mot att öka mitokondriens funktion, (2) behandling som riktar sig mot att öka uttrycket av X25 och (3) genterapi som en möjlig behandlingsmetod i framtiden. Det finns även en fjärde inriktning som riktar sig mot ett symtomatiskt behandlingsalternativ (Evans-Galea *et al.* 2014, Abrahao *et al.* 2015). Som tidigare redovisats finns det ingen medicin på marknaden för behandling av FRDA men en stor mängd möjliga mediciner är under prövning vilka alla utom en riktar sig mot de tre terapeutiska huvudområdena. Den stora andel mediciner som forskas på idag angriper problemet som uppstår vid FRDA på flertalet olika sätt (Figur 4), även inom de tre huvudområdena, varvid jag i denna uppsats valt att fokusera på några behandlingsmöjligheter från varje huvudområde.



Figur 4. FRDA beror på en brist på proteinet frataxin som har en mångsidig roll i cellen och därigenom finns det flertal möjliga vägar att rikta in en terapeutisk behandling mot sjukdomen. Här representerar de blåa pilarna en andel av de möjliga angreppspunkterna för att behandla sjukdomen. Bilden är inspirerad av Strawser *et al.* (2017).

#### *Behandling som riktar sig mot att öka mitokondriens funktion*

Två läkemedel som riktar sig mot detta är Idebenon och Koenzym Q10 som båda har liknande struktur och är små antioxidant molekyler. Dessa har visat sig ha en cellskyddande effekt *in vitro* (Strawser *et al.* 2017). Flertalet studier har utförts på båda dessa läkemedel med varierande och icke signifikanta resultat. Även om det inte finns signifikanta resultat på att det är fördelaktigt att äta dessa läkemedel är det ändå en stor del av FRDA-patienter som väljer att

äta dessa läkemedel då de har få biverkningar, är billiga och viss positiva effekter har visats vid intag av dessa (Myers *et al.* 2008, Parkinson *et al.* 2013b). Ett annat läkemedel som för nuvarande befinner sig i test-stadiet i både Europa och USA är EPI-743 vars verkningsmekanism riktar sig mot att motverka oxidativ stress i mitokondrien genom att reglera energiproduktionen. En dubbelblind-studie av EPI-743 som publicerades tidigare i år visar på att EPI-743 är ett säkert och väl tolererbart läkemedel som uppvisade signifikant förbättrad neurologisk bild efter 24 månader i förhållande till tidigare historisk data (Zesiewicz *et al.* 2017). Ett annat sätt att tackla den nedsatta funktionen i mitokondrien vore att omdistribuera järnet ifrån mitokondrien och därmed få bort problemet med järnackumulation och det efterföljande problemet med fria radikaler. Ett läkemedel som riktar sig mot just detta är deferiprone. Deferipron är en järn-kelatkomplexbildare som lätt tar sig igenom blod-hjärnbarriären samt cellulära membran och verkar för minskning av järnackumulationen i mitokondrierna. Kliniska studier med deferipron visar på att låga doser har en gynnsam effekt på sjukdomen specifikt uppvisande av bättre hjärtparametrar, dock riskeras sjukdomen att förvärras vid för höga doser (Pandolfo & Hausmann 2013).

#### *Behandling som riktar sig mot att öka uttrycket av X25*

Då mutationen i FRDA endast sänker uttrycket av proteinet frataxin och inte ändrar dess struktur har reaktivering av genen föreslagits som en möjlig väg till behandling. Inhibition av histondeacetylas (HDACs) har föreslagits fungera som reaktiverare av transkriptionen för X25 (Strawser *et al.* 2017). Flertalet studier visar på att specifika HDAC inhibitorer upphäver genavstängningen av X25 genen vilket leder till ökade nivåer av frataxin (Soragni *et al.* 2014, Chutake *et al.* 2016, Codazzi *et al.* 2016). Tomassini *et al.* (2012) visade i sin studie att nivåerna av frataxin ökade i flertalet olika celltyper däribland celler från FRDA-patienter av ett annat läkemedel som benämns interferon gamma, en cytokin som är involverad i flera aspekter av järnmetabolismen samt immunrespons. FRDA-möss som behandlats med interferon gamma visade på ökade nivåer av frataxin samt att interferon gamma förebygger degenerationen av neuroner och neurologisk dysfunktion. I en fas II och III studie på FRDA patienter med interferon gamma, som bygger vidare på en fas I studie som visade på förbättrad neurologisk funktion, visade fas II och III studien inte på någon förbättring i frataxinnivåer (Wells *et al.* 2015). Ett annat läkemedel, Erythroprotein (EPO), som i dag främst används vid kronisk anemi för att öka produktionen av röda blodkroppar har även tillämpningsmöjlighet vid behandling av FRDA då EPO har visats öka frataxinnivåer *in vitro* (Strawser *et al.* 2017). I en studie av Boesch *et al.* (2008) visades att EPO signifikant förbättrade poäng på bedömningsskalor samt ökade mängden frataxin. Dock behövde ungefär hälften av deltagarna tappas på blod efter studiens slut. Två nyare studier (Mariotti *et al.* 2012, Boesch *et al.* 2014) visar dock ingen signifikant effekt av användandet av EPO för behandling av FRDA. Ett annat läkemedel som räknas till denna kategori men egentligen inte uppregerar uttrycket av genen X25 är TAT-frataxin. TAT-frataxin bygger på att ett litet cell-penetrerande protein för in syntetiserat frataxin in i mitokondrien och därmed kan det vara en möjlig behandlingsväg för FRDA. I en studie där de injicerat TAT-frataxin i möss ökades deras hjärtfunktion och de levde upp till 53 % längre än möss som inte vart behandlade (Vyas *et al.* 2012).

#### *Symtomatisk behandling*

Hos FRDA-patienter kan järnackumulationen i mitokondrien leda till en ökad känslighet för oxidativ stress vilket potentiellt kan trigga en sekundär inflammationsrespons. FRDA-obduktionsprover visar på förändrade immunresponsvägar och förändrat uttryck av inflammatoriska celler vilket väcker frågan om användandet av kortikosteroider som behandlingsalternativ (Strawser *et al.* 2017). Då just användandet av steroider har sätts

användbart vid duchennes muskeldystrofi (en allvarlig muskelsjukdom) (Strawser *et al.* 2017) samt att minst ett fall av FRDA har haft positiva effekter av steroidbehandling (Shinnick *et al.* 2016) pågår nu en studie där de undersöker effekten av metylprednisolon hos FRDA-patienter vilket beräknas presenteras i början av 2018 (Lynch 2017).

### *Genterapi*

En av de mest lovande potentiella behandlingar för att ersätta förlusten av frataxin hos FRDA-patienter är genterapi (Strawser *et al.* 2017). I fallet med FRDA bygger genterapin bland annat på en viral vektor innehållande en normal X25-gen som förs över till celler där brist av proteinet frataxin existerar och därmed rätta till problemet med bristen på frataxin vilket möjliggör att detta skulle kunna fungera som en behandlingsmetod för FRDA. Möjliga vägar för detta är lentivirus, herpes simplex virus and adeno-associerat virus (AAV) vektorer för överföring av gener, där forskning kring AAV-frataxin vektorer befinner sig på ett sent prekliniskt stadiet (Isaacs *et al.* 2015). Ett annat möjligt verktyg för genterapi hos FRDA är artificiellt konstruerade transkriptionsaktivatorliknande-effektorer (TALE) proteiner bundna till en transkriptionsaktiveringsdomän (TAD) som kan aktivera specifika promotorer och därigenom fungera som ett verktyg för genterapi hos FRDA. Användandet av TALE i studier har visat öka frataxins mRNA-nivåer kombinerat med en liknande ökning av nivåerna av frataxin i sin proteinform (Chapdelaine *et al.* 2013, Chapdelaine *et al.* 2016). CRISP-Cas9 systemet har också testats som möjlig väg för genterapi mot FRDA där en studie framgångsrikt lyckats klippa bort GAA expansionen och återställa frataxins transkriptionsaktivitet och proteinnivå (Ouellet *et al.* 2017).

## **Diskussion**

Fenotyperna bakom FRDA är som sagt relaterade till nedregleringen av X25 genen och den efterföljande förlusten av tillräckliga nivåer av proteinet frataxin men dock är inte hela den patologiska mekanismen bakom detta klargjord (Abraham *et al.* 2015). Då mekanismerna för frataxinreglering inte är fullständigt utredda har vi inte i dagsläget en tydlig förståelse av transkriptionsfaktorer som skulle kunna binda direkt till frataxinpromotorn och/eller regulatorer för att reglera frataxintranskriptionen hos människor (Marmolino 2011). Marmolino (2011) beskriver att flertalet hypoteser har undersökts i mus- och cellmodeller men med brister på grund av de många skillnaderna mellan möss och människor samt svårigheten att reproducera en musmodell som sammanställer de kliniska fenotyperna av FRDA. Ett annat problem som också kan ha effekt vid transkriptionsstudier på exempelvis möss är det faktum att vi inte vet om det existerar olika regulationssystem av X25 mellan möss och människor.

I patogenesen av FRDA spelar mitokondrien en viktig roll, men den viktigaste frågan är fortfarande obesvarad, nämligen vad är frataxinets exakta funktion? Den bristande kunskapen om frataxinets funktion är anledningen bakom den icke fullständiga molekylära förståelsen för sjukdomen och de reaktionsvägar som leder till oxidativ stress och slutligen celledöd (Marmolino 2011). De två viktigaste upptäckterna kring frataxin är förståelsen av dess järnbindande förmåga samt kopplingen till den länkade metabola reaktionsvägen som ännu inte är helt utredd. Pastore och Puccio (2013) beskriver att det viktigaste i detta att vidare undersöka och utreda är maskineriet bakom uppbyggandet av ISC och frataxins roll i detta. Detta skulle vara ett omfattande projekt då det krävs att det utvecklas nya verktyg som kan studera ett komplext nätverk av konkurrerande multipla interaktioner och inte bara ett proteinkomplex eller en isolerad molekyl. Pastore och Puccio (2013) beskriver detta som en viktig utmaning att fördjupa sig i de närmaste årtiondena. En stor del av forskningen inom

fältet har föreslagit att frataxin styr biotillgängligheten av järn men fortfarande är det många frågor som går obesvarade. Frågor som om frataxin har en funktion som ett järnchaperon och vad som i så fall driver järnchaperonet till att leverera järn till flera olika proteiner när dess likhet kopparchaperonet är specificerat mot ett protein. Detta är sådant som leder till frågeställningar om hur och varför dessa proteiner interagerar inom olika reaktionsvägar. Dessa frågor kan börja utredas med hjälp av ytterligare strukturanalyser för frataxin i komplex med dessa proteinpartners (Bencze *et al.* 2006).

Lupoli *et al.* (2017) beskriver att en viktig aspekt i förståelsen för FRDA vore att kartlägga tidsaspekten för sjukdomsförloppet och i vilket skede i sjukdomen som de fria radikalerna börjar ackumuleras. Detta bygger på faktumet att det inte är helt klarlagt om den oxidativa stressen är en primär orsak eller om det är en sekundär effekt av sjukdomen. Svårigheterna med att förstå detta korrelerar till att patientprover som används inom forskningen endast illustrerar ett avancerat stadium av sjukdomen då de utsatts för det patologiska tillståndet sen födsel. De två relativt nya verktygen TALEN och CRISPR kan vara lösningen för att ta reda på detta genom skapandet av mer komplexa cell- och djurmodeller. Utöver förståelsen för ackumuleringen av friaradikaler vid FRDA är utvecklandet av nya tekniker även viktig för undersökandet av den omdebatterade roll oxidativ stress har vid FRDA (Lupoli *et al.* 2017). Forsning kring detta har oftast använt sig av parametrar som akonitathydratas och andra mitokondriella enzym och mätt aktiviteten av dem för att kunna beskriva det fenotypiska förloppet. Dock skulle detta kunna vara otillräckligt för en fullständig beskrivning av fenotypen varvid nyare studier har undersökt möjligheten till användandet av andra markörer. Exempelvis har användandet av fluorescerande prober används för kvantifiering av friaradikaler samt Seahorse XF teknologi som direkt kan mäta syrekonsumtionshastigheten i levande celler vilket är viktigt för bestämmandet av stressgrad i cellen (Lupoli *et al.* 2017).

Även om vi i dagsläget inte vet den exakta funktionen för frataxin så har mycket kunskap fåtts genom studerandet av djurmodeller. I en nyligen publicerad sammanställning (Lupoli *et al.* 2017) över frataxinforskningen av modellorganismerna jäst, bananflugor och mus och deras huvudsakliga fenotyper visade alla modeller på ackumulering av järn, oxidativ stress och minskad aktivitet av enzym innehållande ISC. I jäst-modeller har det även observerats en minskning av syreförbrukning samt i bananflugor- och musmodeller har det även observerats en påverkan på lipidsyntesen. Lupoli *et al.* beskriver även att de i framtiden vill utveckla nya cellmodeller som efterliknar den vävnad som påverkas vid FRDA för att en gång för alla kanske kunna reda ut den exakta funktionen av frataxin. De vill göra detta med hjälp av inducerbara pluripotenta stamceller som förhoppningsvis ska kunna användas till studerandet av den mycket tidiga fenotypen av sjukdomen, till skillnad från tidigare inducerbara pluripotenta stamceller från FRDA-patienter där det inte gått att undersöka.

I dagsläget forskas det för fullt på läkemedel utifrån de många angreppspunkter som finns för läkemedelsutveckling mot FRDA. I nuläget finns det ungefär runt 20 läkemedel som forskas på varav de kommit olika långt i forskningen, där några har kommit så långt som kliniska studier i stadie III (Strawser *et al.* 2017). De forskningsstudier som genomförts hittills har för det mesta fokuserat på angreppspunkter som förbättrar mitokondriens funktion eller läkemedel som verkar symtomlindrande. Användandet av dessa läkemedel eller en kombination av dem skulle kunna förbättra livskvaliteten hos FRDA-patienter och sakta ner eller stoppa sjukdomsprogressionen. Dock har tyvärr dessa läkemedel inte en botande effekt, då de endast funkar som sjukdomssänkande och den primära bristen på frataxin kvarstår. De andra typerna av läkemedel som också forskas på speciellt nu senaste åren vars funktion syftar till att restaurera frataxin produktionen är mer sannolikt att producera ett

sjukdomsmodifierande läkemedel mot FRDA, med en möjlighet till botande effekt. Inom de närmaste åren kommer forskningen fortsätta inom de olika angreppspunkterna mot FRDA och det främsta intressantaste blir att se hur utvecklingen av genterapi kommer överföras till människa och se vilken utkomsten blir med tanke på de lyckade försöken på möss (Strawser *et al.* 2017).

Även om det forskas för fullt på framtida möjliga behandlingar mot FRDA finns det flera viktiga aspekter att ta hänsyn till inom forskningen. Ett av problemen som relaterar till utvärderingen av behandlingsregimer för FRDA är att observera utkomsten av dem, detta på grund av den långsamma sjukdomsprogressionen (Delatycki *et al.* 2000). Som exempel kan man ta att om en behandling saktar ner progressionen av sjukdomen men inte tar bort några kliniska symtom så tar det många år att se denna effekt. Reetz *et al.* (2015) beskriver att med tanke på att sjukdomsprogressionen relaterar till ålder av sjukdomsdebut är detta viktigt att ta hänsyn till det i kliniska tester. Reetz *et al.* (2015) tar även upp problemet som kan uppstå vid jämförelse av studier då det inte finns en konsensus kring användandet av mätskalor, men de argumenterar för att SARA kanske är den bästa skalan att använda sig av vid just övervakning av sjukdomsprogression i kliniska tester. Marmolino (2011) tar även upp att det i framtida forskning kan det vara av vikt att fundera på det faktum att GAA-repetitioner både kan expandera och minska och att det kan vara av vikt att lägga energi på utvecklandet av läkemedel som stimulerar minskningen av repetitionen.

Vår kunskap om FRDA har utvecklats enormt sedan 1997 då första kloningen av genen X25 skedde. Baserat på all denna kunskap, och kommande tros detta kunna leda till nya innovativa behandlingar som kommer kunna lindra det oundvikliga och tragiska ödet som personer diagnostiserade med FRDA står inför (Delatycki *et al.* 2000). Att reda ut frågor som frataxinets exakta funktion kan vara ett bra hjälpmedel i utvecklandet och förbättrandet av behandlingsstrategier för kontrollerandet av järnregleringen hos FRDA patienter (Bencze *et al.* 2006). Sökandet efter ett effektivt medel mot sjukdomen fortsätter än i dag och det är framtiden som får visa vad som blir lösningen, antingen om den mest effektiva behandlingen bygger på ökandet av frataxinnivåerna genom uppreglering av genen eller genom genterapi, eller om behandlingen inriktar sig på att motverka de metabola konsekvenserna av sjukdomen (Cook & Giunti 2017).

## **Tack**

Jag vill tacka min handledare Magnus Eklund för vägledning och goda råd. Jag vill även tacka mina opponenter Cecilia Furugård, Diyar Ayranci och Anton Davidsson för deras konstruktiva återkoppling.



## Referenser

- Abraham A, Pedroso JL, Braga-Neto P, Bor-Seng-Shu E. 2015. Milestones in Friedreich ataxia: more than a century and still learning. *Neurogenetics* **16**: 151–160.
- Anzovino A, Lane DJR, Huang ML-H, Richardson DR. 2014. Fixing frataxin: "ironing out" the metabolic defect in Friedreich's ataxia. *British Journal of Pharmacology* **171**: 2174–2190.
- Bencze KZ, Kondapalli KC, Cook JD, McMahon S, Millán-Pacheco C, Pastor N, Stemmler TL. 2006. The structure and function of frataxin. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* **41**: 269–291.
- Bidichandani SI, Delatycki MB. 1998 Dec 18 [Updated 2017 Jun 1]. Friedreich Ataxia. I: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., (red.). GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1281/>
- Boesch S, Nachbauer W, Mariotti C, Sacca F, Filla A, Klockgether T, Klopstock T, Schöls L, Jacobi H, Büchner B, vom Hagen JM, Nanetti L, Manicom K. 2014. Safety and tolerability of carbamylated erythropoietin in Friedreich's ataxia: Cepo and Friedreich's Ataxia. *Movement Disorders* **29**: 935–939.
- Boesch S, Sturm B, Hering S, Scheiber-Mojdehkar B, Steinkellner H, Goldenberg H, Poewe W. 2008. Neurological effects of recombinant human erythropoietin in Friedreich's ataxia: A clinical pilot trial. *Movement Disorders* **23**: 1940–1944.
- Bürk K, Schulz SR, Schulz JB. 2013. Monitoring progression in Friedreich ataxia (FRDA): the use of clinical scales. *Journal of Neurochemistry* **126**: 118-124.
- Campuzano V, Montermini L, Lutz Y, Cova L. 1997. Frataxin is Reduced in Friedreich Ataxia Patients and is Associated with Mitochondrial Membranes. *Human Molecular Genetics* **6**: 1771–1780.
- Campuzano V, Montermini L, Molto MD, Pianese L. 1996. Friedreich's ataxia: Autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* **271**: 1423-1427.
- Castaldo I, Pinelli M, Monticelli A, Acquaviva F. 2008. DNA methylation in intron 1 of the frataxin gene is related to GAA repeat length and age of onset in Friedreich ataxia patients. *Journal of medical genetics* **45**: 808-812.
- Cavadini P, Adamec J, Taroni F, Gakh O. 2000. Two-step processing of human frataxin by mitochondrial processing peptidase. Precursor and intermediate forms are cleaved at different rates. *The Journal of biological chemistry* **275**: 41469-41475.
- Chamberlain S, Chamberlain S, Shaw J, Shaw J. 1988. Mapping of mutation causing Friedreich's ataxia to human chromosome 9. *Nature* **334**: 248–250.
- Chapdelaine P, Coulombe Z, Chikh A, Gérard C, Tremblay JP. 2013. A Potential New Therapeutic Approach for Friedreich Ataxia: Induction of Frataxin Expression With TALE Proteins. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, doi: 10.1038/mtna.2013.41.
- Chapdelaine P, Gérard C, Sanchez N, Cherif K, Rousseau J, Ouellet DL, Jauvin D, Tremblay JP. 2016. Development of an AAV9 coding for a 3XFLAG-TALE<sub>frat#8</sub>-VP64 able to increase *in vivo* the human frataxin in YG8R mice. *Gene Therapy* **23**: 606-614.
- Chiang S, Kalinowski DS, Jansson PJ, Richardson DR, Huang ML-H. 2017. Mitochondrial dysfunction in the neuro-degenerative and cardio-degenerative disease, Friedreich's ataxia. *Neurochemistry International*, doi 10.1016/j.neuint.2017.08.002.
- Chiang S, Kovacevic Z, Sahni S, Lane DJR, Merlot AM, Kalinowski DS, Huang ML-H, Richardson DR. 2016. Frataxin and the molecular mechanism of mitochondrial iron-loading in Friedreich's ataxia. *Clinical Science* **130**: 853–870.

- Chutake YK, Lam CC, Costello WN, Anderson MP, Bidichandani SI. 2016. Reversal of epigenetic promoter silencing in Friedreich ataxia by a class I histone deacetylase inhibitor. *Nucleic Acids Research* **44**: 5095–5104.
- Codazzi F, Hu A, Rai M, Donatello S, Salerno Scarzella F, Mangiameli E, Pelizzoni I, Grohovaz F, Pandolfo M. 2016. Friedreich ataxia-induced pluripotent stem cell-derived neurons show a cellular phenotype that is corrected by a benzamide HDAC inhibitor. *Human Molecular Genetics* **22**: 4847-4855.
- Cook A, Giunti P. 2017. Friedreich's ataxia: clinical features, pathogenesis and management. *British Medical Bulletin* **124**: 19-30.
- Corben LA, Ho M, Copland J, Tai G. 2013. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in Friedreich ataxia. *Neurology* **81**: 46–51.
- Cossee M, Cossée M, Schmitt M, Schmitt M. 1997. Evolution of the friedreich's ataxia trinucleotide repeat expansion: Founder effect and premutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**: 7452–7457.
- Delatycki MB, Williamson R, Forrest SM. 2000. Friedreich ataxia: an overview. *Journal of Medical Genetics* **37**: 1–8.
- Dhe-Paganon S, Shigeta R, Chi Y-I, Ristow M. 2000. Crystal Structure of Human Frataxin. *Journal of Biological Chemistry* **275**: 30753–30756.
- Dürr A, Cossee M, Agid Y, Campuzano V. 1996. Clinical and genetic abnormalities in patients with Friedreich's Ataxia. *The New England Journal of Medicine* **335**: 1169-1175.
- Evans-Galea MV, Lockhart PJ, Galea CA, Hannan AJ, Delatycki MB. 2014. Beyond loss of frataxin: the complex molecular pathology of Friedreich ataxia. *Discovery Medicine* **17**: 25–35.
- Filla A, De Michele G, Cavalcanti F [Federico IU. 1996. The relationship between trinucleotide (GAA) repeat length and clinical features in Friedreich ataxia. *American Journal of Human Genetics* **59**: 554-560.
- Filla A, DeMichele G, Caruso G, Marconi R. 1990. Genetic data and natural history of Friedreich's disease: A study of 80 Italian patients. *Journal of Neurology* **237**: 345–351.
- Folker J, Murdoch B, Cahill L, Delatycki M. 2010. Dysarthria in Friedreich's ataxia: a perceptual analysis. *Folia phoniatrica et logopaedica : official organ of the International Association of Logopedics and Phoniatics (IALP)* **62**: 97-103.
- Greene E, Mahishi L, Entezam A, Kumari D. 2007. Repeat-induced epigenetic changes in intron 1 of the frataxin gene and its consequences in Friedreich ataxia. *Nucleic acids research* **35**: 3383-3390.
- Harding AE. 1981. Friedreich's ataxia: a clinical and genetic study of 90 families with an analysis of early diagnostic criteria and intrafamilial clustering of clinical features. *Brain: A Journal of Neurology* **104**: 589–620.
- Herman D, Jenssen K, Burnett R, Soragni E, Perlman SL, Gottesfeld JM. 2006. Histone deacetylase inhibitors reverse gene silencing in Friedreich's ataxia. *Nature Chemical Biology* **2**: 551–558.
- Ilg W, Synofzik M, Brötz D, Burkard S. 2009. Intensive coordinative training improves motor performance in degenerative cerebellar disease. *Neurology* **73**: 1823-1830.
- Isaacs C, E Shinnick J, Schadt K, Lynch D, Lin K. 2015. Prospects of gene and cell therapy for managing cardiac complications in Friedreich ataxia. *Expert Opinion on Orphan Drugs*, doi 10.1517/21678707.2015.1083854.
- Koeppen AH, Morral JA, Davis AN, Qian J. 2009. The dorsal root ganglion in Friedreich's ataxia. *Acta Neuropathologica* **118**: 763-776.

- Labelle H, Tohmé S, Duhaime M, Allard P. 1986. Natural history of scoliosis in Friedreich's ataxia. *The Journal of Bone and Joint Surgery American Volume* **68**: 564–572.
- Labuda M, Labuda D, Miranda C, Poirier J. 2000. Unique origin and specific ethnic distribution of the Friedreich ataxia GAA expansion. *Neurology* **54**: 2322-2324.
- Lad M, Parkinson MH, Rai M, Pandolfo M. 2017. Urinary, bowel and sexual symptoms in a cohort of patients with Friedreich's ataxia. *Orphanet Journal of Rare Diseases* **12**:158
- Lynch D. 2017. Methylprednisolone Treatment of Friedreich Ataxia. WWW-dokument 2017-06-20: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02424435> Hämtad 2017-12-12.
- Lupoli F, Vannocci T, Longo G, Niccolai N, Pastore A. 2017. The role of oxidative stress in Friedreich's ataxia. *FEBS letters*, doi 10.1002/1873-3468.12928.
- Mariotti C, Fancellu R, Caldarazzo S, Nanetti L, Di Bella D, Plumari M, Lauria G, Cappellini MD, Duca L, Solari A, Taroni F. 2012. Erythropoietin in Friedreich ataxia: No effect on frataxin in a randomized controlled trial. *Movement Disorders* **27**: 446–449.
- Marmolino D. 2011. Friedreich's ataxia: Past, present and future. *Brain Research Reviews* **67**: 311–330.
- Milne SC, Campagna EJ, Corben LA, Delatycki MB. 2012. Retrospective Study of the Effects of Inpatient Rehabilitation on Improving and Maintaining Functional Independence in People With Friedreich Ataxia. *Archives of physical medicine and rehabilitation* **93**: 1860–1863.
- Montermini L, Andermann E, Labuda M, Richter A, Pandolfo M, Cavalcanti F, Pianese L, Iodice L, Farina G, Monticelli A, Turano M, Filla A, De Michele G, Coccozza S. 1997. The Friedreich ataxia GAA triplet repeat: premutation and normal alleles. *Human Molecular Genetics* **6**: 1261–1266.
- Morrall JA, Davis AN, Qian J, Gelman BB. 2010. Pathology and pathogenesis of sensory neuropathy in Friedreich's ataxia. *Acta Neuropathologica* **120**: 97-108.
- Myers L, Farmer JM, Wilson RB, Friedman L. 2008. Antioxidant use in Friedreich ataxia. *Journal of the Neurological Sciences* **267**: 174–176.
- Nave RD, Ginestroni A, Giannelli M, Tessa C. 2008. Brain structural damage in Friedreich's ataxia. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* **79**: 82–85.
- Ouellet DL, Cherif K, Rousseau J, Tremblay JP. 2017. Deletion of the GAA repeats from the human frataxin gene using the CRISPR-Cas9 system in YG8R-derived cells and mouse models of Friedreich ataxia. *Gene Therapy* **24**: 265-274.
- Pandolfo M, Hausmann L. 2013. Deferiprone for the treatment of Friedreich's ataxia. *Journal of Neurochemistry* **126**: 142–146.
- Parkinson MH, Boesch S, Nachbauer W, Mariotti C. 2013a. Clinical features of Friedreich's ataxia: classical and atypical phenotypes. *Journal of Neurochemistry* **126**: 103–117.
- Parkinson MH, Schulz JB, Giunti P. 2013b. Co-enzyme Q10 and idebenone use in Friedreich's ataxia. *Journal of Neurochemistry* **126**: 125–141.
- Pastore A, Puccio H. 2013. Frataxin: a protein in search for a function. *Journal of neurochemistry* **126**: 43-52.
- Pianese L, Turano M, Lo Casale MS, De Biase I. 2004. Real time PCR quantification of frataxin mRNA in the peripheral blood leucocytes of Friedreich ataxia patients and carriers. *Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry* **75**: 1061–1063.
- Rance G, Corben LA, Du Bourg E, King A. 2010. Successful treatment of auditory perceptual disorder in individuals with Friedreich ataxia. *Neuroscience* **171**: 552–555.
- Reetz K, Dogan I, Costa AS, Dafotakis M. 2015. Biological and clinical characteristics of the European Friedreich's Ataxia Consortium for Translational Studies (EFACTS) cohort: A cross-sectional analysis of baseline data. *The Lancet Neurology* **14**: 174–182.

- Regner SR, Lagedrost SJ, Plappert T, Paulsen EK. 2012. Analysis of Echocardiograms in a Large Heterogeneous Cohort of Patients With Friedreich Ataxia. *The American Journal of Cardiology* **109**: 401-405.
- Sakamoto N, Chastain PD, Parniewski P, Ohshima K, Pandolfo M, Griffith JD, Wells RD. 1999. Sticky DNA: self-association properties of long GAA·TTC repeats in R.R.Y triplex structures from Friedreich's ataxia. *Molecular Cell* **3**: 465-475.
- Sakamoto N, Larson JE, Iyer RR, Montermini L. 2001. GGA·TCC-interrupted Triplets in Long GAA·TTC Repeats Inhibit the Formation of Triplex and Sticky DNA Structures, Alleviate Transcription Inhibition, and Reduce Genetic Instabilities. *Journal of Biological Chemistry* **276**: 27178-27187.
- Schmucker S, Argentini M, Carelle-Calmels N, Martelli A. 2008. The in vivo mitochondrial two-step maturation of human frataxin. *Human Molecular Genetics* **17**: 3521-3531.
- Shinnick JE, Isaacs CJ, Vivaldi S, Schadt K, Lynch DR. 2016. Friedreich Ataxia and nephrotic syndrome: a series of two patients. *BMC Neurology* **16**: 3.
- Soragni E, Miao W, Iudicello M, Jacoby D, De Mercanti S, Clerico M, Longo F, Piga A, Ku S, Campau E, Du J, Penalver P, Rai M, Madara JC, Nazor K, O'Connor M, Maximov A, Loring JF, Pandolfo M, Durelli L, Gottesfeld JM, Rusche JR. 2014. Epigenetic therapy for Friedreich ataxia: Epigenetic Therapy for FRDA. *Annals of Neurology* **76**: 489-508.
- Strawser C, Schadt K, Hauser L, McCormick A, Wells M, Larkindale J, Lin H, Lynch DR. 2017. Pharmacological therapeutics in Friedreich ataxia: the present state. *Expert Review of Neurotherapeutics* **17**: 895-907.
- Tomassini B, Arcuri G, Fortuni S, Sandi C. 2012. Interferon gamma upregulates frataxin and corrects the functional deficits in a Friedreich ataxia model. *Human Molecular Genetics* **21**: 2855-2861.
- Tsirikos AI, Smith G. 2012. Scoliosis in patients with Friedreich's ataxia. *Journal of bone and joint surgery* **94**: 684-689.
- Tsou AY, Paulsen EK, Lagedrost SJ, Perlman SL. 2011. Mortality in Friedreich Ataxia. *Journal of the Neurological Sciences* **307**: 46-49.
- Vyas PM, Tomamichel WJ, Pride PM, Babbey CM. 2012. A TAT-Frataxin fusion protein increases lifespan and cardiac function in a conditional Friedreich's ataxia mouse model. *Human Molecular Genetics* **21**: 1230-1247.
- Weidemann F, Rummey C, Bijmens B, Störk S. 2012. The heart in Friedreich ataxia: Definition of cardiomyopathy, disease severity, and correlation with neurological symptoms. *Circulation* **125**: 1626-1634.
- Wells M, Seyer L, Schadt K, Lynch DR. 2015. IFN- $\gamma$  for Friedreich ataxia: present evidence. *Neurodegenerative Disease Management* **5**: 497-504.
- Zesiewicz T, Perlman S, Sullivan K, Huang Y, Salemi J, Klein M, Isaacs C, Gooch C, Shaw J, Lynch D. 2017. EPI-743 (Alpha-tocotrienol Quinone) Demonstrates Long-Term Improvement in Neurological Function and Disease Progression in Friedreich's Ataxia (S17.005). *Neurology* **88**: S17.005.

## **[Vad är den bakomliggande mekanismen till Friedreich ataxia och kan vi utveckla en mer effektivare behandling?]: etisk bilaga**

**Justina Åkerström**

Självständigt arbete i biologi 2018

### **Är användningen av djurförsök etiskt försvarbart?**

Inom forskningen kring sjukdomen Friedreich ataxia och dess bakomliggande orsak proteinet frataxin används ofta djurförsök. Djurförsöken används dels för testandet av nya potentiella behandlingar mot sjukdomen samt för studier kring det protein som orsakar sjukdomen för att bättre förstå dess funktion i hopp om att hitta nya sätt att förstå och bota sjukdomen.

Användandet av dessa typer av djurmodeller är ett vanligt förekommande och omdiskuterat ämne bland forskare, huruvida det är rätt eller fel att använda sig av det. Frågan är om det är etiskt försvarbart att använda djurförsök i syfte att förstå och behandla Friedreich ataxia?

#### **Förargument**

Användandet av djurförsök har möjliggjort att forskningen kunnat ta stora steg framåt som upptäckten och framtagandet av insulin vilket inte hade varit möjligt utan användandet av djurförsök. Djurförsök är nödvändigt för att kunna svara på frågor om biologiska förlopp hos organismer, sjukdomars orsaker och effekter samt biverkningar av läkemedel. Användandet av försöksdjur möjliggör minskat lidande för människan på flera sätt men framförallt att säkra läkemedel kan tas fram för botandet av sjukdomar. Försöksdjur möjliggör testandet av mediciner för att upptäcka eventuella bieffekter som skulle kunna vara skadliga för oss. Detta gör att produkten kan ändras för att eliminera bieffekten innan läkemedlet sätts i bruk.

Användandet av försöksdjur gör även att människor inte blir försöksdjur i första hand. För det skulle antagligen bli svårt att få människor att ställa upp på en klinisk prövning om det inte finns väldokumenterad data om de positiva effekter och eventuella biverkningar av läkemedlet. Då användningen av försöksdjur är viktig för att föra forskningen framåt kan det argumenteras för att ett lidande hos ett fåtal djur är befogat om man kan minska lidandet hos ett stort antal människor.

#### **Motargument**

Det främsta argumentet mot djurförsök är att djuren utsätts för ett lidande. Försöksdjuren är som vilka andra djur som helst och vill kunna klättra, gräva, springa och undersöka den omgivande miljön men istället blir de inlåsta i små burar med otillräcklig stimulans. Ett annat motargument är att även om det finns många likheter mellan oss människor och de försöksdjur som används finns det även signifikanta biologiska skillnader mellan oss. Det är dessa skillnader som gör att det inte går att säga till hundra procent att om exempelvis ett läkemedel fungerar på en djurmodell kommer det ha exakt samma effekt på människor. I frågan berörande sjukdomen Friedreich ataxia och sjukdomar som kan likställas med den kan det ställas argumentet om det verkligen är etiskt försvarbart att argumentera för djurförsök på en sådan sjukdom som endast påverkar en bråkdel av den mänskliga befolkningen. Det kanske är bättre att lägga resurserna på de sjukdomar som faktiskt påverkar en större del av befolkningen.

#### **Slutsats**

Det finns viktiga argument både för och emot användandet av djurförsök som är viktiga att ta hänsyn till inom forskningen. Förargumenten mot djurförsök som möjligheten att kunna undersöka och besvara frågor om biologiska förlopp samt utvecklandet av säkra läkemedel

med få biverkningar är vettiga argument för fortsättandet av djurförsök. Motargumenten att djurförsöken orsakar djuren lidande och att människor och möss inte är biologiskt lika gör att man ifrågasätter användandet av djurförsök i alla fall i en okontrollerad miljö. Drav bör de djurförsök som genomförs genomföras ur ett konsekvensetiskt perspektiv med hårt reglerade ramar och ett tydligt regelverk. Även om försöksdjur anses viktiga för att föra forskningen framåt är det av vikt att ta hänsyn till om försöken kan modifieras på något sätt som gör att djuren slipper lidande, antalet försöksdjur kan dras ned eller om försöken går att ersättas med alternativa metoder. Det ligger av största vikt att utforma alternativa metoder som är mer anpassade att studera vad som händer i människokroppen istället för i försöksdjur som exempelvis möss. I slutändan handlar det om att hitta en balans mellan forskningens vilja att hitta metoder för att förebygga och behandla sjukdomar hos människor mot djurens rätt att slippa lidande.