



L'ATASSIA DI FRIEDREICH:  
UN ESEMPIO DI MALATTIA  
MITOCONDRIALE

[WWW.FISIOKINESITERAPIA.BIZ](http://WWW.FISIOKINESITERAPIA.BIZ)

# L'atassia di Friedreich (OMIM 229300)

---

- Autosomica recessiva
  - Incidenza: 1/30000-1/50000 nati vivi (Italia: 1/22000-1/25000). Frequenza minore nelle popolazioni asiatiche e africane
  - Insorgenza solitamente prima dei 20 anni → atassia e scoliosi (varianti rare: insorgenza fino a 50 anni o entro la prima decade di vita)
  - Durata della vita ridotta
-

# Manifestazioni cliniche

- Atassia, nistagmo, disartria, segno di Babinski, spasticità, debolezza delle estremità inferiori, alterazioni sensoriali, riduzione o perdita dei riflessi tendinei, riduzione o assenza dei potenziali somatosensoriali
- Anomalie scheletriche: scoliosi e piede cavo
- Anomalie cardiache: cardiomiopatia ipertrofica, stenosi muscolare subaortica, dilatazione del ventricolo sinistro, alterazioni della contrattilità cardiaca
- Anomalie endocrine: diabete mellito
- Alterazioni sfinteriche

# Alterazioni biochimiche e cellulari

---

- **Alterazioni mitocondriali:**
    - ↓ attività aconitasi ed enzimi dei complessi I-III della catena respiratoria (N.B. enzimi che contengono un **gruppo Fe-S**)
    - accumulo di **ferro intramitocondriale**
    - perdita di DNA mitocondriale
  - ↓ fosfolipidi nella corteccia cerebellare e occipitale
  - Perdita neuronale nel midollo spinale, nella corteccia e nel cervelletto
-

# Genetica dell'atassia di Friedreich

---

- Mutazioni del **gene FRDA** (locus 9q13; 7 esoni, di cui il 6 non codificante; due splicing alternativi), che codifica la proteina **FRATASSINA**
  - Eterogeneità genetica:
    - in una piccola percentuale di casi è coinvolto un locus in posizione 9p23-p11: FRDA2
    - <1% dei pazienti non ha alterazioni né di FRDA, né di FRDA2
-

# Mutazioni del gene FRDA: espansione della tripletta GAA

---

- **Espansione** del numero di **triplette GAA** presenti nel primo introne del gene FRDA; instabilità dell'espansione durante la mitosi e la meiosi
  - Numero di copie normale: tra 6 e 34
  - **Numero di copie tra 67 e 1700: atassia di Friedreich**
  - Numero di copie tra 34 e 60: livelli di fratassina e fenotipo normali, ma notevole propensione all'espansione durante la trasmissione parentale
-

# Mutazioni del gene FRDA: mutazioni puntiformi

---

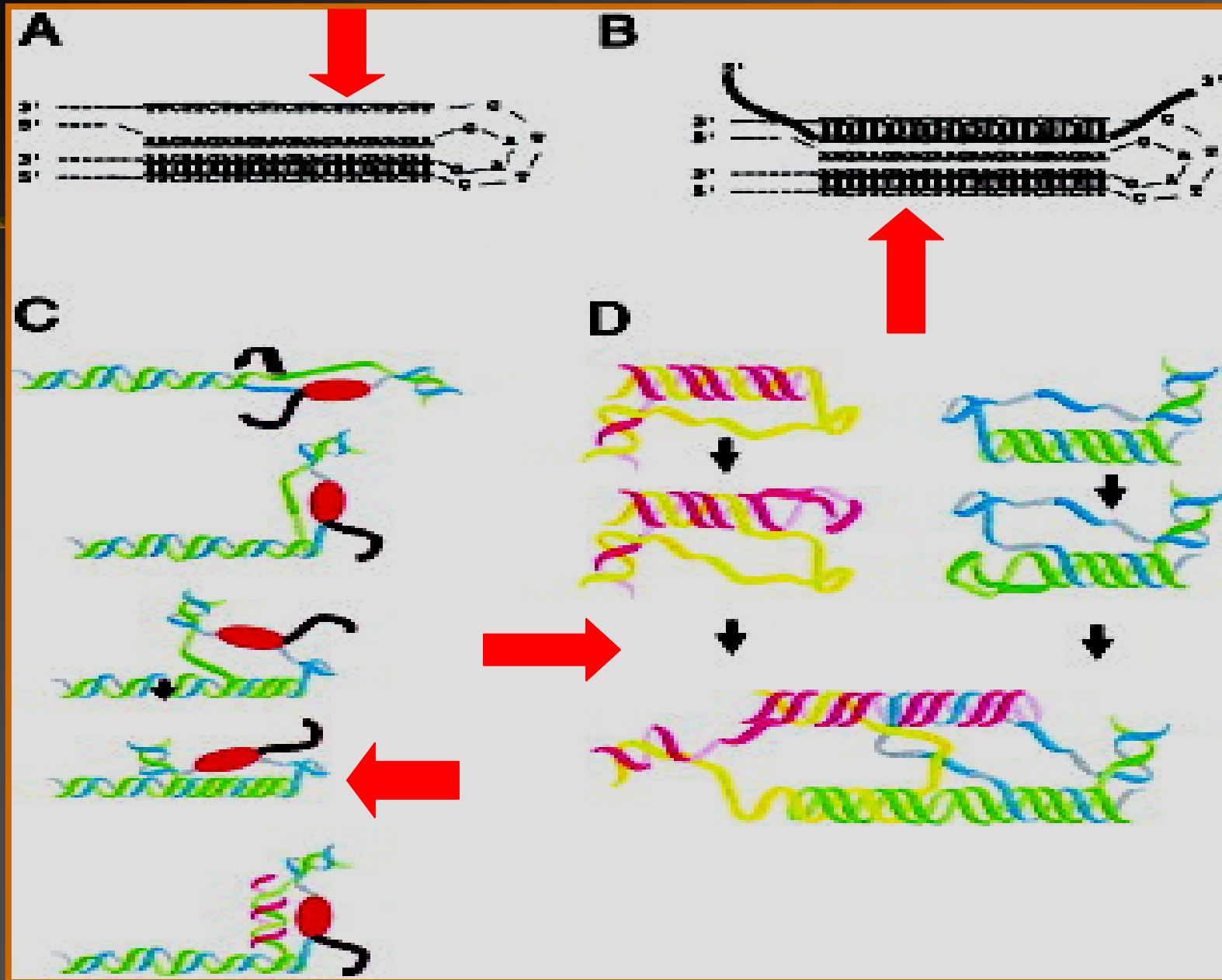
- **Mutazioni puntiformi** di FRDA che alterano o troncano la regione codificante
  - Il 96% dei malati è omozigote per l'espansione della tripletta, i pazienti rimanenti sono eterozigoti composti (espansione + mutaz. puntiforme)
  - Nessun caso di malati con mutazioni puntiformi di FRDA su entrambi gli alleli: incompatibilità con la vita?
-

# Effetti dell'espansione GAA

---

- L'espansione della tripletta GAA interferisce con la trascrizione del gene FRDA  $\Rightarrow$  alterazione del processo di elongazione del trascritto
  - La riduzione della trascrizione del gene FRDA è proporzionale alla lunghezza dell'espansione della tripletta
  - Nei malati  $\Rightarrow$  notevole riduzione dei livelli di fratassina
-





# Le mutazioni puntiformi di FRDA

---

- Finora note 17 mutazioni puntiformi che colpiscono residui conservati
  - Mutazioni troncanti di solito nell'esone 1, mutazioni missenso di solito negli ultimi 3 esoni
  - Effetti: alterazione dei processi di splicing, della maturazione e/o della stabilità della proteina fratassina
-

# Correlazione genotipo-fenotipo

---

- Riduzione dei livelli di fratassina e fenotipo proporzionali alla lunghezza dell'espansione GAA; maggiore correlazione con la lunghezza dell'allele più corto o con la media delle due lunghezze:
    - con ripetizioni  $< 500$  pb insorgenza più tardiva e fenotipo più lieve
    - con lunghezze  $> 500$  pb insorgenza più precoce, decorso più rapido, maggiore incidenza di diabete, cardiomiopatia e scoliosi, maggiore alterazione dei riflessi
-

# La fratassina

---

- Localizzata sulla membrana mitocondriale interna; 210 aminoacidi
  - Prodotta come precursore; processamento in due passaggi da parte dell'enzima MPP (mitochondrial-processing peptidase)
  - Elevato livello di conservazione nell'evoluzione
  - **Sedi di espressione:** cuore, muscolo scheletrico, fegato, grasso bruno, pancreas e rene. Sistema nervoso centrale: midollo spinale, cervelletto, corteccia cerebrale
-

# Patogenesi dell'atassia di Friedreich

---

- Le manifestazioni patologiche derivano dalla perdita della fratassina e/o della sua funzione
  - Il meccanismo patogenetico non è ancora noto  
⇒ numerose ipotesi sul ruolo della fratassina:
    1. Trasportatore mitocondriale del ferro
    2. Proteina coinvolta nella formazione dei gruppi Fe-S
    3. Proteina legante gli ioni ferro
    4. Proteina coinvolta nella risposta agli stress ossidativi
-

# 1. La fratassina e l'omeostasi mitocondriale del ferro

---

- Nei malati: accumulo di ferro nei mitocondri (cuore e sistema nervoso) e maggiore quantità sierica del recettore della transferrina
  - Ipotesi: la fratassina è coinvolta nel trasporto mitocondriale del ferro
  - $\Rightarrow$  nei malati l'eccesso di ferro reagisce con  $H_2O_2$  (prodotto della respirazione ossidativa) e catalizza la formazione di radicali idrossilici  $\Rightarrow$  perdita del mtDNA e degli enzimi con il gruppo Fe-S a causa dello stress ossidativo
-

## Fratassina e omeostasi mitocondriale del ferro: La delezione dell'omologo di lievito della fratassina causa accumulo di ferro nei mitocondri

- Delezione in tre ceppi diversi di lievito del gene YFH1, omologo di FRDA
- Effetti:
  - ↓ della respirazione cellulare e dell'attività di alcuni enzimi mitocondriali (cyt c ossidasi, cyt c riduttasi...)
  - maggiore sensibilità ad agenti ossidanti
  - ↓ mtDNA
  - accumulo di ferro nei mitocondri (10-15 volte)

## Fratassina e omeostasi mitocondriale del ferro

---

- Altri studi:
    - analisi con la tecnica dei microarray di ceppi di lievito con deficit di fratassina  $\Rightarrow$  aumento dell'espressione di tutti i geni noti coinvolti con l'omeostasi del ferro
  - $\Rightarrow$  La fratassina è coinvolta nell'omeostasi del ferro (mediazione della sua uscita dai mitocondri?)
-



## 2. La fratassina e la biogenesi dei gruppi Fe-S

---

- Nei malati c'è un deficit degli enzimi che contengono gruppi Fe-S nei siti catalitici
  - Due ipotesi:
    - Poiché i gruppi Fe-S sono molto sensibili ai radicali liberi, i deficit enzimatici sono causati dallo stress ossidativo conseguente all'accumulo di Fe
    - La fratassina svolge un ruolo nella sintesi dei gruppi Fe-S
-

# Fratassina e biosintesi dei gruppi Fe-S: L'omologo di lievito della fratassina svolge un ruolo specifico nella maturazione delle proteine Fe-S

- Studi su lieviti mutanti condizionali, in cui il gene YFH1 è “spegnibile” reversibilmente
- Effetti:
  - aumento del ferro mitocondriale
  - aumento tardivo della sensibilità agli agenti ossidanti
  - deficit degli enzimi Fe-S anche in assenza di ferro nel mezzo di coltura
  - riduzione specifica dell'incorporazione di Fe nei complessi Fe-S (citosol e mitocondri)

## Fratassina e biosintesi dei gruppi Fe-S: L'omologo di lievito della fratassina svolge un ruolo specifico nella maturazione delle proteine Fe-S

### ■ Conclusioni:

- Il deficit degli enzimi Fe-S è presente anche in assenza di Fe  $\Rightarrow$  non dipende dallo stress ossidativo causato dal ferro
- Tale deficit causa accumulo di Fe nei mitocondri e carenza di Fe nel citosol
- I lieviti studiati non perdono il mtDNA e sono poco sensibili allo stress ossidativo  $\Rightarrow$  effetti tardivi non correlati direttamente con la fratassina

## Fratassina e biosintesi dei gruppi Fe-S:

---

- La fratassina ha la stessa distribuzione filogenetica delle proteine batteriche HscA e HscB, che sono “chaperone” per l’assemblaggio dei gruppi Fe-S
  - Dati raccolti  $\Rightarrow$  ruolo primario della fratassina nel processo di biosintesi dei gruppi Fe-S; l’accumulo di ferro è una conseguenza dei deficit dei gruppi Fe-S
-

# 3. La fratassina come proteina legante il ferro

---

- Sembra verosimile che i mitocondri possiedano un meccanismo per legare il ferro libero e per rilasciarlo quando è necessario
  - Nei malati l'accumulo di ferro nei mitocondri potrebbe essere dovuto al deficit di questo meccanismo
  - Ipotesi: la fratassina ha la funzione di legare il ferro mantenendolo solubile e biodisponibile
-

## Assemblaggio ferro-dipendente dell'omologo di lievito della fratassina

- Studio della struttura della proteina Yfh1 di lievito e della sua capacità di legare il ferro
- Yfh1 è un monomero che non contiene atomi di ferro  $\Rightarrow$  nei mitocondri si assembla in un multimero sferico ad alto peso molecolare in presenza di ferro, di cui lega più di 3000 atomi
- Il meccanismo di assemblaggio di Yfh1 è simile a quello della ferritina, la principale proteina legante il ferro

## Capacità di assemblaggio e di legame del ferro della fratassina umana

---

- Studi sulle caratteristiche e sulla funzione della fratassina umana prodotta in *E.Coli* e in *S.Cerevisiae*
- Risultati: in entrambi i sistemi cellulari la fratassina presenta le caratteristiche di una proteina coinvolta nell'immagazzinamento del ferro ⇒ omopolimerizzazione e capacità di legare atomi di ferro

# 4. La fratassina e lo stress ossidativo

---

- Similitudini dell'atassia di Friedreich con la carenza di vitamina E e alcune mitocondriopatie ⇒ ruolo fondamentale della formazione di specie reattive dell'ossigeno
  - Nei malati ⇒ aumento del livello di stress ossidativo (↑ 8-idrossi-2-deossiguanosina e malondialdeide e ↓ glutazione)
  - Ipotesi: **la fratassina è direttamente coinvolta nella risposta agli stress ossidativi** . Il suo deficit causa un danno ossidativo
-



## Nell'ataxia di Friedreich l'attivazione dei meccanismi di difesa contro gli stress ossidativi è compromessa

- Ipotesi: l'accumulo di ferro non è il difetto primario della malattia  $\Rightarrow$  il deficit degli enzimi con un gruppo Fe-S potrebbe essere causato da un eccesso di radicali liberi derivante da una riduzione dei meccanismi antiossidanti
- Esperimenti su fibroblasti di soggetti affetti dall'ataxia di Friedreich  $\Rightarrow$  mancato aumento dei livelli di superossido dismutasi (SOD) in risposta ai radicali superossido

## Nell'ataxia di Friedreich l'attivazione dei meccanismi di difesa contro gli stress ossidativi è compromessa

- Ulteriori osservazioni:
  - i neuroni e i cardiomiociti, le cellule più colpite dalla malattia, sono molto sensibili ad una riduzione dell'enzima SOD
  - studi in vitro su cardiomiociti: l'iperproduzione di superossidi ne causa l'ipertrofia
- Conclusione: il deficit di fratassina determina una carenza delle difese antiossidanti, con conseguente aumento della mortalità cellulare

Jiralerspong et al. 2001, FEBS Letters 509, 101-5

Chantrel-Groussard et al. 2001, Hum.Molec. Genet. 10, 2061-67

## Nell'ataxia di Friedreich l'attivazione dei meccanismi di difesa contro gli stress ossidativi è compromessa

- Iperespressione della fratassina in cellule-modello:
  - la fratassina non ha di per sé proprietà antiossidanti
  - la sua iperespressione induce l'attivazione dell'enzima glutatione perossidasi e l'incremento dei livelli cellulari di tioli
  - ⇒ accresciuta resistenza agli stress ossidativi

# Modelli murini dell'atassia di Friedreich

---

- L'inattivazione costitutiva del gene FRDA tramite ricombinazione omologa causa la morte degli embrioni pochi giorni dopo l'impianto (N.B. senza accumulo di ferro) ⇒ ruolo della fratassina nelle fasi iniziali dello sviluppo (Cossee et al. 2000, Hum. Molec. Genet. 9, 1219-26)
  - Nell'uomo il fenotipo più lieve potrebbe derivare da una funzionalità residua della proteina associata con l'espansione GAA del gene FRDA
-

## Topo ko per il gene FRDA

(Puccio et al.2001, Nat Genet 27, 181-86)

La delezione completa del gene FRDA in modelli murini determina letalità embrionale  $\Rightarrow$  approccio di gene-targeting condizionale



Produzione di **due ceppi murini mutanti**:

- **Ceppo MCK**  $\rightarrow$  eliminata l'espressione di FRDA nel muscolo striato
- **Ceppo NSE**  $\rightarrow$  eliminata l'espressione di FRDA nel tessuto neuronale e cardiaco

# Topo ko per il gene FRDA

(Puccio et al.2001, Nat Genet 27, 181-86)

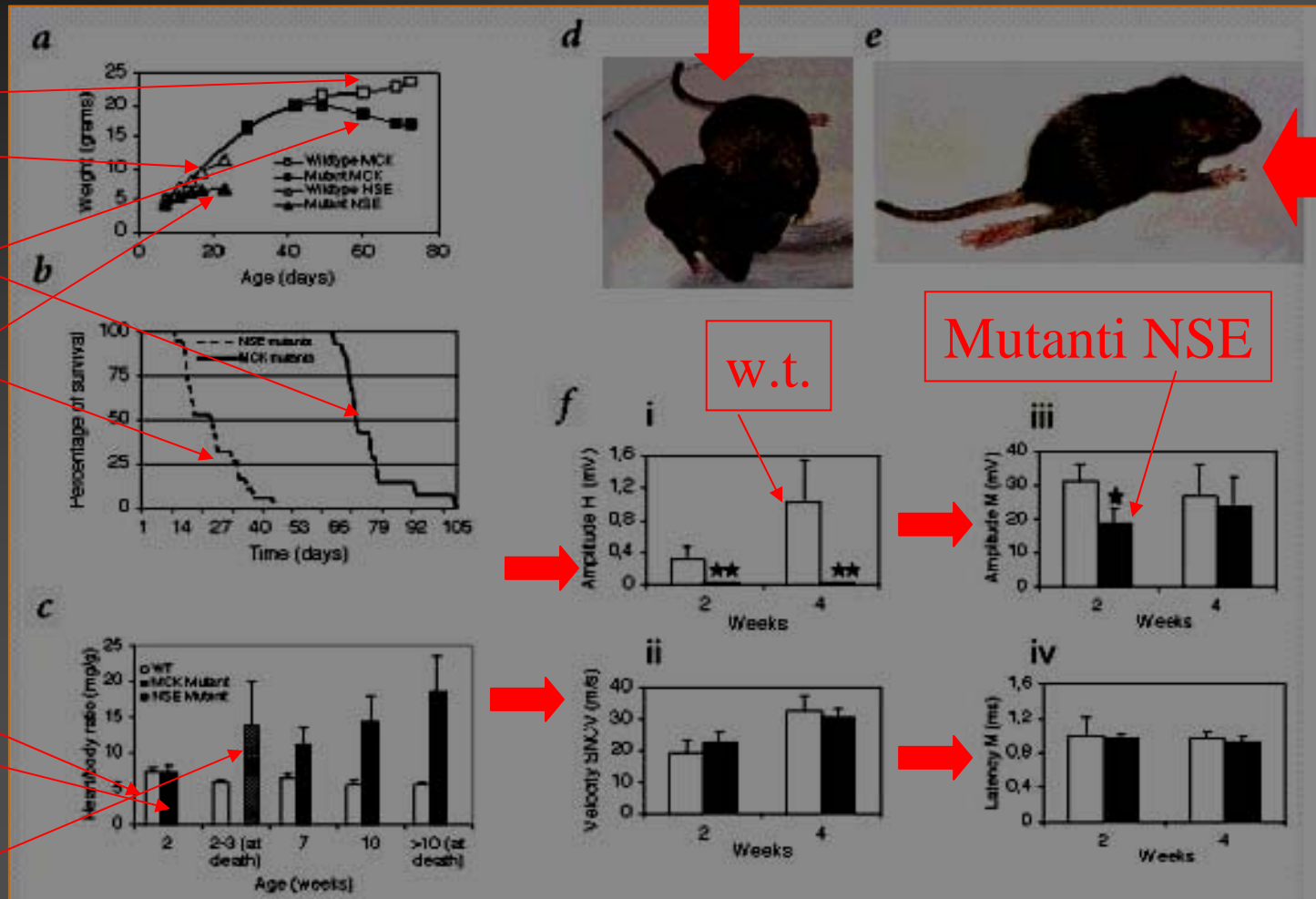


# Topo ko per il gene FRDA

(Puccio et al.2001, Nat Genet 27, 181-86)

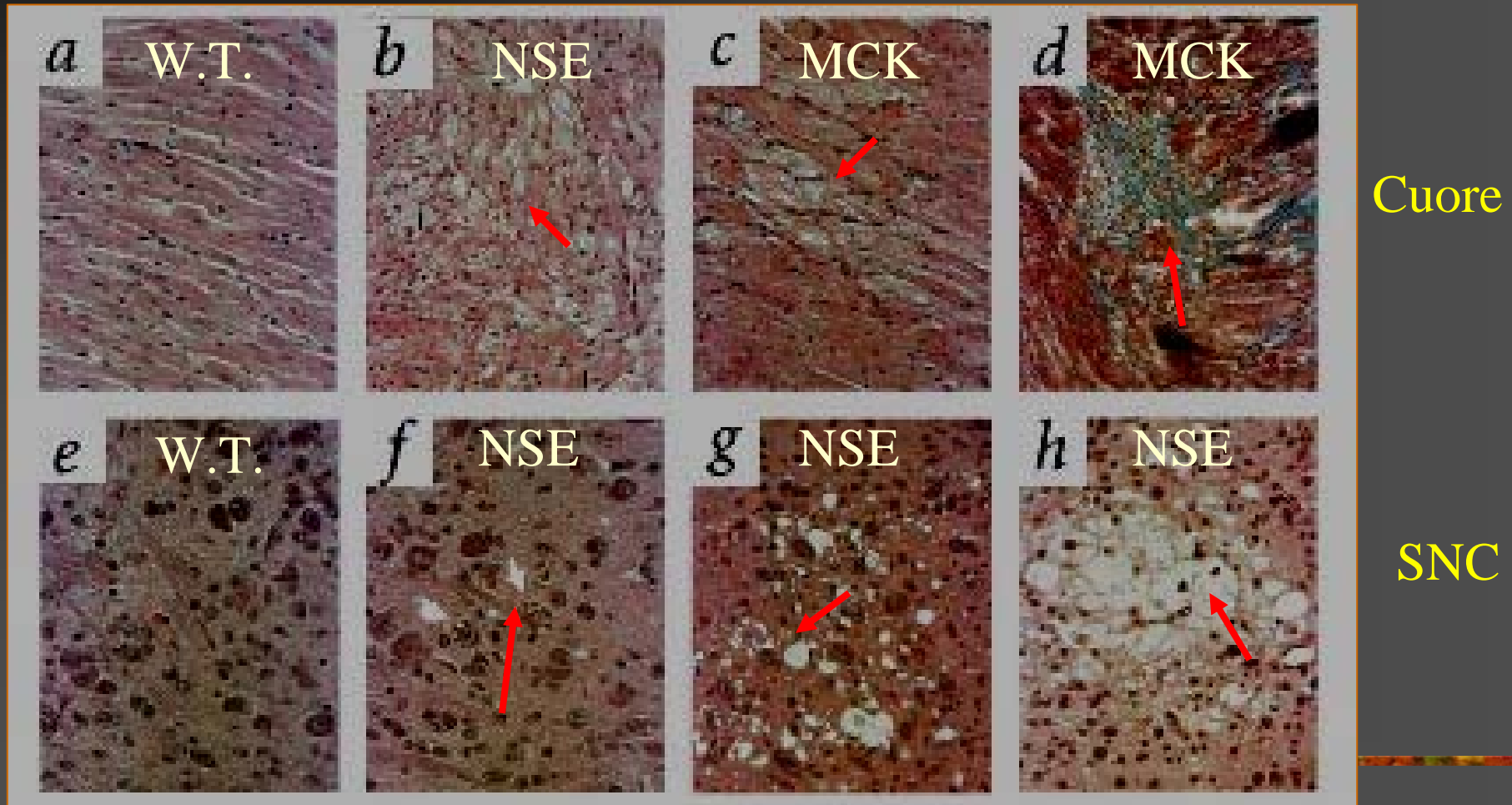
MCK w.t.  
NSE w.t.  
Mutanti MCK  
Mutanti NSE

w.t.  
Mutanti MCK  
Mutanti NSE



# Topo ko per il gene FRDA

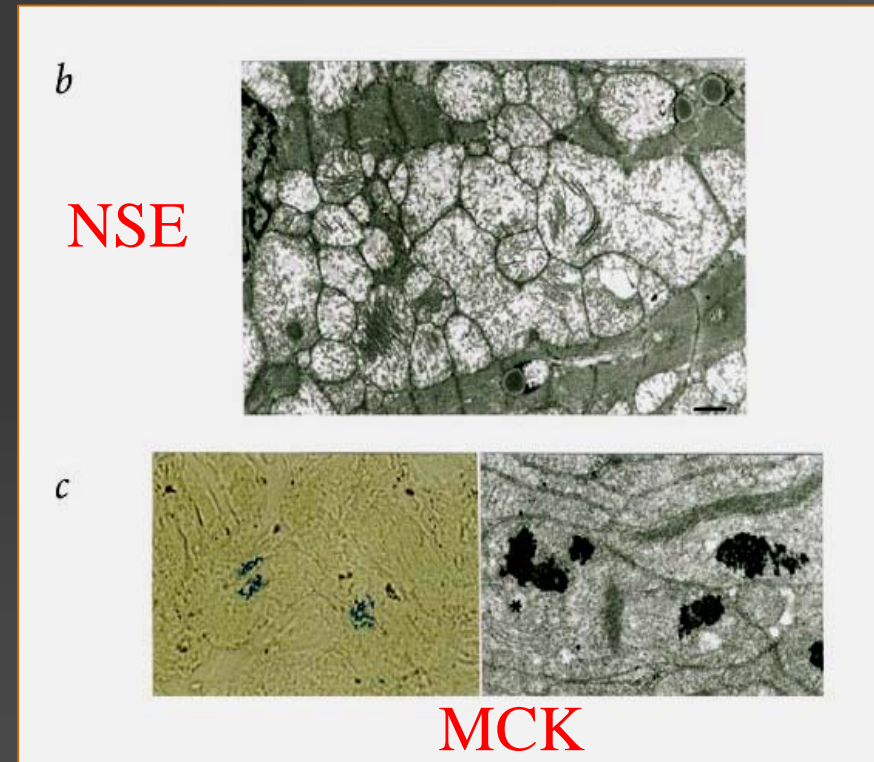
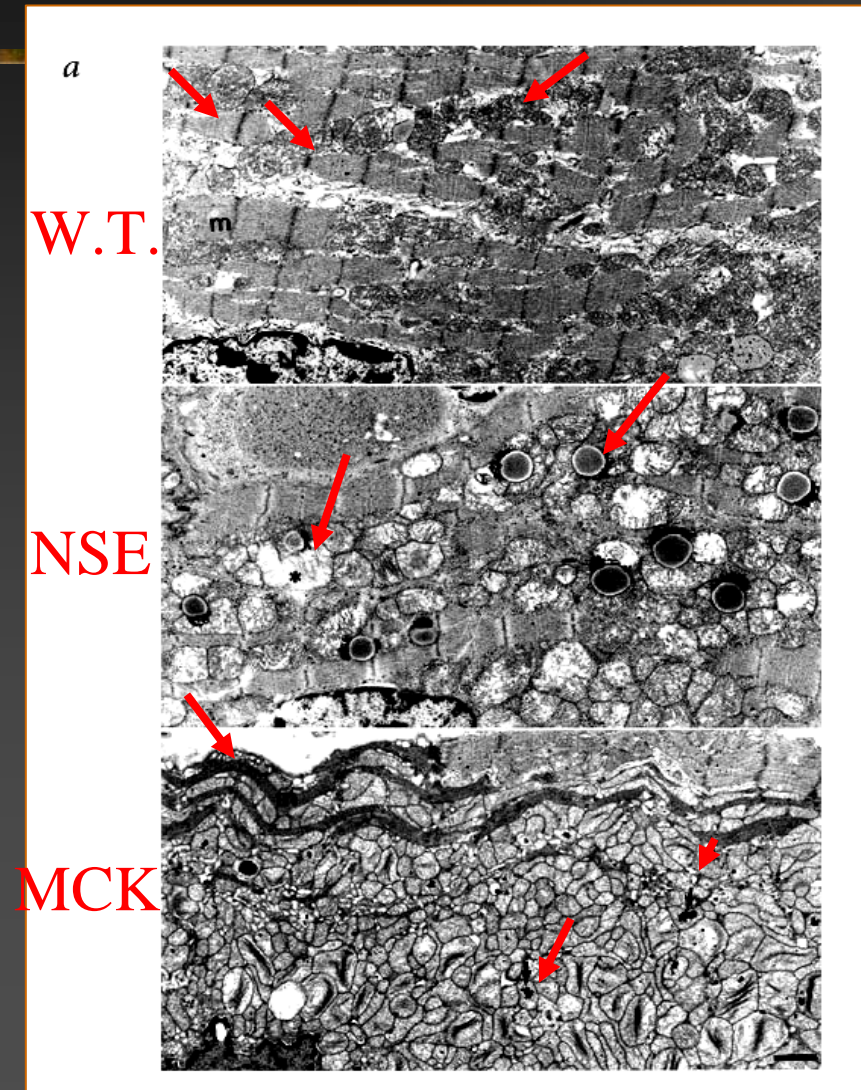
(Puccio et al.2001, Nat Genet 27, 181-86)





# Topo ko per il gene FRDA

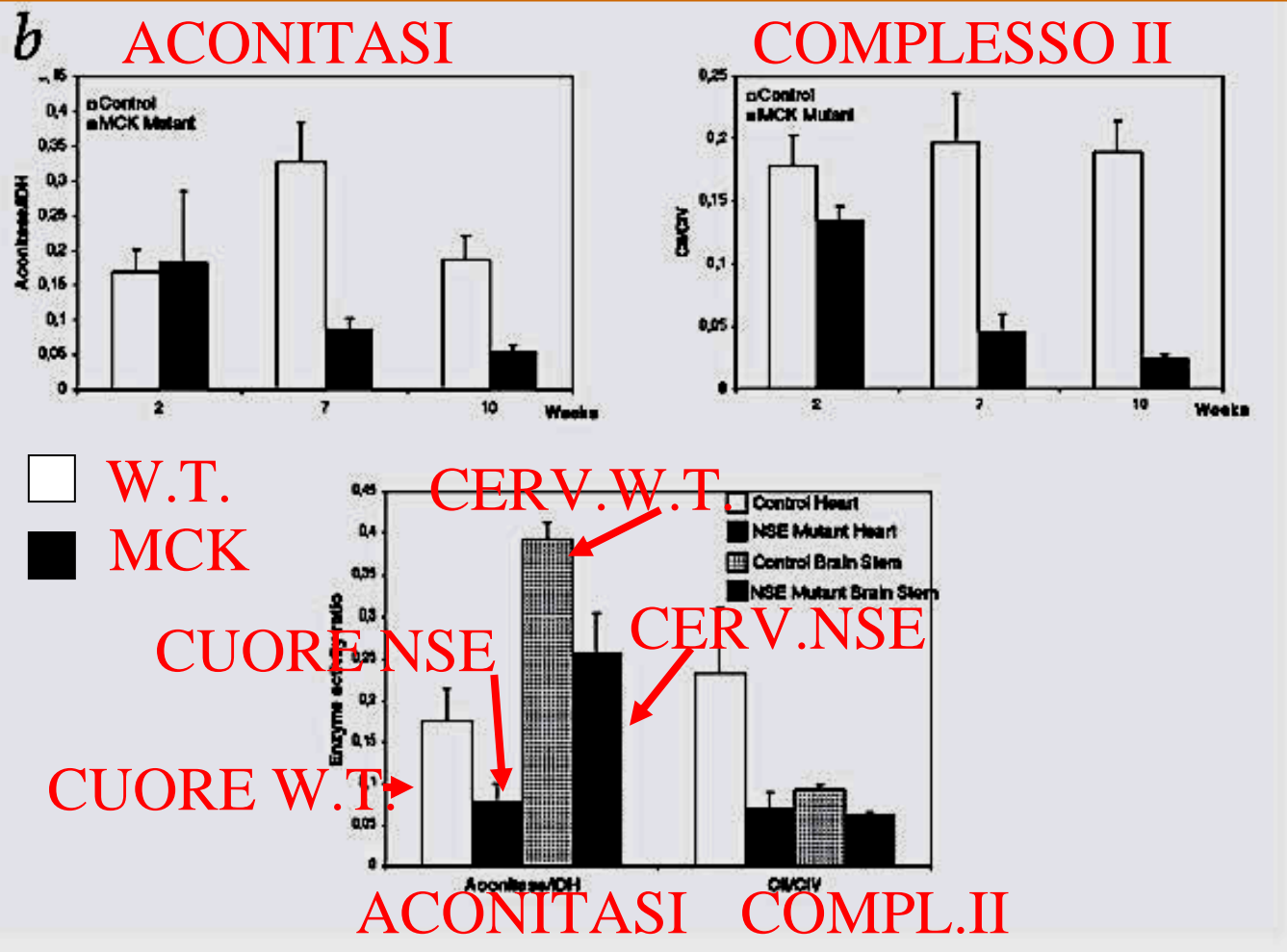
(Puccio et al.2001, Nat Genet 27, 181-86)



# Topo ko per il gene FRDA

(Puccio et al.2001, Nat Genet 27, 181-86)

a



# Topo ko per il gene FRDA

(Puccio et al.2001, Nat Genet 27, 181-86)

## Conclusioni (1)

---

- Nei mutanti ci sono anomalie analoghe a quelle presenti nei soggetti affetti dall'atassia di Friedreich
  - L'accumulo di Fe nei mitocondri dei topi MCK compare solo tardivamente, molto dopo lo sviluppo dei sintomi patologici; nei topi NSE non si ha mai ⇒ il deficit degli enzimi Fe-S e la cardiomiopatia sono indipendenti dall'accumulo di ferro
-

## Topo ko per il gene FRDA

(Puccio et al.2001, Nat Genet 27, 181-86)

### Conclusioni (2)

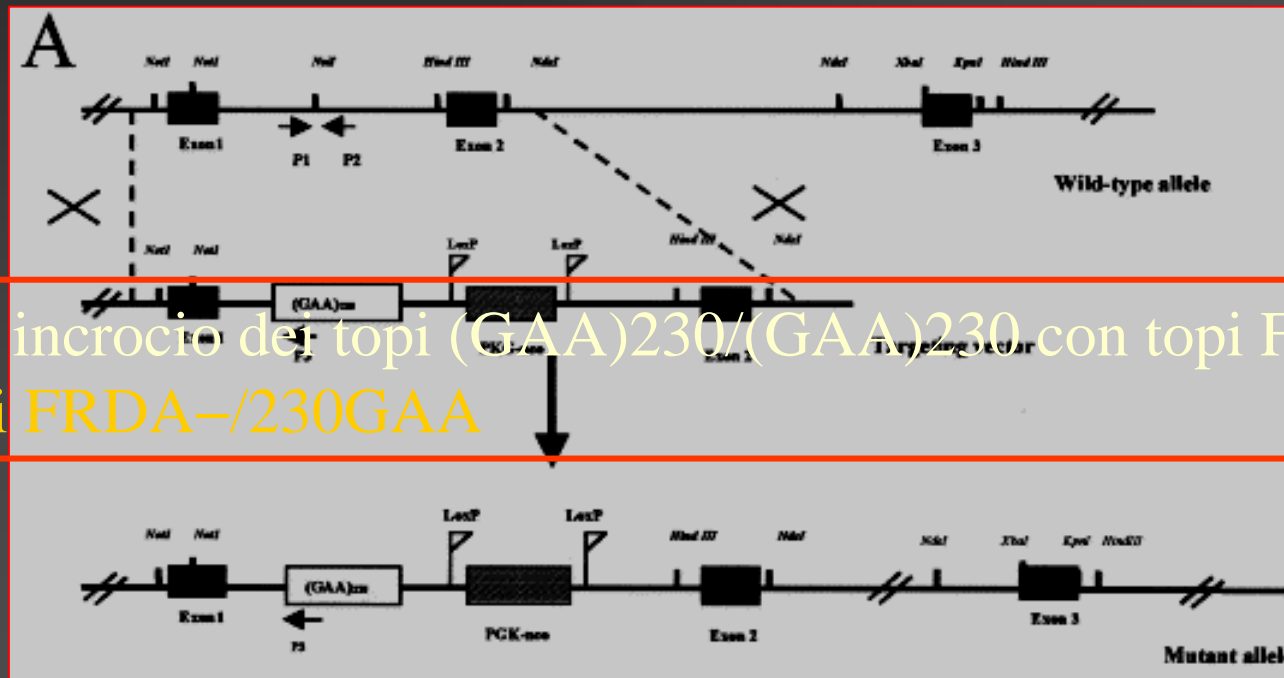
---

- Il modello MCK dimostra che l'accumulo di Fe nei mitocondri dei malati non rappresenta la causa patogenetica
  - Nei modelli i muscoli scheletrici e i neuroni motori non presentano anomalie, come nei malati ⇒ specificità cellulare della patologia, forse dovuta ai diversi livelli di espressione della fratassina, alla diversa capacità di rigenerazione e alla sensibilità alle alterazioni mitocondriali
-

# Topi knock-in per l'espansione GAA nel gene FRDA

(Miranda et al. 2002, FEBS Letters 512, 291-97)

Introduzione tramite ricombinazione omologa di una ripetizione (GAA)<sub>230</sub> nel gene murino che codifica la proteina fratassina



Inoltre: incrocio dei topi (GAA)<sub>230</sub>/(GAA)<sub>230</sub> con topi FRDA +/-  
⇒ Topi FRDA<sup>-</sup>/230GAA

# Topi knock-in per l'espansione GAA nel gene FRDA

(Miranda et al. 2002, FEBS Letters 512, 291-97)

- I topi frda -/230GAA hanno un livello di fratassina pari al 25-30% di un topo w.t. (come i malati)
- Esame del fenotipo dei mutanti:
  - coordinazione motoria
  - livelli di Fe sierici e tissutali
  - depositi di Fe cardiaci
  - risposta al sovraccarico di Fe
  - stabilità mitotica e meiotica dell'allele espanso



# Topi knock-in per l'espansione GAA nel gene FRDA

(Miranda et al. 2002, FEBS Letters 512, 291-97)

---

- Effetti della mutazione: coordinazione motoria normale, assenza di accumuli di Fe, il sovraccarico esogeno di Fe non causa fibrosi cardiaca, la ripetizione espansa è stabile mitoticamente e meioticamente
  - Conclusione: a differenza che nell'uomo, nel topo l'espansione della tripletta GAA usata è stabile, e la riduzione al 25-30% dei livelli di fratassina non causa alterazioni
-

# Conclusioni: possibile patogenesi dell'atassia di Friedreich

---

- ☆ La fratassina sembra svolgere un ruolo sia nella formazione dei gruppi Fe-S, sia nell'attivazione dei meccanismi di difesa dagli stress ossidativi
  - ☆ Il deficit di fratassina determina gravi alterazioni negli enzimi mitocondriali e nelle loro funzioni, sia a causa dei problemi nella loro sintesi, sia a causa dei danni ossidativi. Le alterazioni enzimatiche causano anche l'accumulo di ferro mitocondriale, che contribuisce ad ulteriori danni ossidativi.
-



BIOSINTESI DEI GRUPPI FE-S

FRATASSINA

OMEOSTASI DEL FERRO

STRESS OSSIDATIVO



# Bibliografia

- Adamec, J., Rusnak, F., Owen, W.G., Naylor, S., Benson, L.M., Marquis Gacy, A., Isaya, G. (2000) Iron-dependent self-assembly of recombinant yeast frataxin: implications for Friedreich ataxia. *Am. J. Hum. Genet.* 67: 549-62
- Bradley, J.L., Blake, J.C., Camberlain, S., Thomas, P.K., Cooper, J.M., Schapira, A.H.V. (2000) Clinical, biochemical and molecular genetic correlations in Friedreich's ataxia. *Hum. Molec. Genet.* 9: 275-82.
- Cavadini, P., Gellera, C., Patel, P.I., Isaya, G. (2000) Human frataxin maintains mitochondrial iron homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Hum. Molec. Genet.* 9: 2523-30.
- Cavadini, P., O'Neill, H.A., Benada, O., Isaya, G. (2002) Assembly and iron-binding properties of human frataxin, the protein deficient in Friedreich ataxia. *Hum. Molec. Genet.* 11: 217-27.
- Chantrel-Groussard, K., Geromel, V., Puccio, H., Koenig, M., Munnich, A., Rotig, A., Rustin, P. (2001) Disabled early recruitment of antioxidant defenses in Friedreich's ataxia. *Hum. Molec. Genet.* 10: 2061-67.
- Cossée, M., Puccio, H., Gansmuller, A., Koutnikova, H., Dierich, A., LeMeur, M., Fischbeck, K., Dollé, P., Koenig, M. (2000) Inactivation of the Friedreich ataxia mouse gene leads to early embryonic lethality without iron accumulation. *Hum. Molec. Genet.* 9: 1219-26.

- De Freitas, J.M., Liba, A., Meneghini, R., Saelverstone Valentine, J., Butler Gralla, E. (2000) Yeast lacking Cu-Zn superoxide dismutase show altered iron homeostasis. *J. Biol. Chem.* 275: 11645-49.
- Dhe-Paganon, S., Shigetani, R., Chi, Y.-I., Ristow, M., Shoelson, S.E. (2000) Crystal structure of human frataxin. *J. Bio. Chem.* 275: 30753-56.
- Emond, M., Lepage, G., Vanasse, M., Pandolfo, M. (2000) Increased levels of plasma malondialdehyde in Friedreich ataxia. *Neurology* 55: 1752-53.
- Foury, F., Cazzalini, O. (1997) Deletion of the yeast homologue of the human gene associated with Friedreich's ataxia elicits iron accumulation in mitochondria. *FEBS Letters* 411: 373-77.
- Gordon, D.M., Kogan, M., Knight, S.A.B., Dancis, A., Pain, D. (2001) Distinct roles for two N-terminal cleaved domains in mitochondrial import of the yeast frataxin homolog, Yfh1p. *Hum. Molec. Genet.* 10: 259-69.
- Heidenfelder, B.L., Makhov, A.M., Topal, M.D. (2003) Hairpin formation in Friedreich's ataxia triplet repeat expansion. *J. Biol. Chem.* 278:2425-31.
- Huyen, M.A., Snel, B., Bork, P., Gibson, T.J. (2001) The phylogenetic distribution of frataxin indicates a role in iron-sulfur cluster protein assembly. *Hum. Molec. Genet.* 10: 2463-68.

- Jiralerspong, S., Ge, B., Hudson, T.J., Pandolfo, M. (2001) Manganese superoxide dismutase induction by iron is impaired in Friedreich ataxia cells. *FEBS Letters* 509: 101-05.
- Karthikeyan, G., Lewis, L.K., Resnick, M.A. (2002) The mitochondrial protein frataxin prevents nuclear damage. *Hum. Molec. Genet.* 11: 1351-62.
- Lutz, T., Westermann, B., Neupert, W., Herrmann, J.M. (2001) The mitochondrial proteins Ssq1 and Jac1 are required for the assembly of iron sulfur clusters in mitochondria. *J. Mol. Biol.* 307: 815-25.
- Miranda, C.J., Santos, M.M., Ohshima, K., Smith, J., Li, L., Bunting, M., Cossée, M., Koenig, M., Sequeiros, J., Kaplan, J., Pandolfo, M. (2002) Frataxin knockin mouse. *FEBS Letters* 512: 291-97.
- Muhlenhoff, U., Richardt, N., Ristow, M., Kispal, G., Lill, R. (2002) The yeast frataxin homolog Yfh1p plays a specific role in the maturation of cellular Fe/S proteins. *Hum. Molec. Genet.* 11: 2025-36.
- Patel, P.I., Isay, G. (2001) Friedreich ataxia: from GAA triplet-repeat expansion to frataxin deficiency. *Am. J. Hum. Genet.* 69: 15-24.

- Pianese, L., Busino, L., De Biase, I., de Cristofaro, T., Lo Casale, M.S., Giuliano, P., Monticelli, A., Turano, M., Criscuolo, C., Filla, A., Varrone, S., Coccozza, S. (2002) Up-regulation of c-Jun N-terminal kinase pathway in Friedreich's ataxia cells. *Hum. Molec. Genet.* 11: 2989-96.
- Piemonte, F., Pastore, A., Tozzi, G., Tagliacozzi, D., Santorelli, F.M., Carrozzo, R., Casali, C., Damiano, M., Federici, G., Bertini, E. (2001) Glutathione in blood of patients with Friedreich's ataxia. *Eu. J. Clin. Invest.* 31: 1007-11.
- Puccio, H., Koenig, M. (2002) Friedreich ataxia: a paradigm for mitochondrial diseases. *Curr. Opin. Genetics & Devel.* 12: 272-77.
- Puccio, H., Simon, D., Cossée, M., Criqui-Filipe, P., Tiziano, F., Melki, J., Hindelang, C., Matyas, R., Rustin, P., Koenig, M. (2001) Mouse models for Friedreich ataxia exhibit cardiomyopathy, sensory nerve defect and Fe-S enzyme deficiency followed by intramitochondrial iron deposits. *Nat. Genet.* 27: 181-86.
- Ristow, M., Pfister, M.F., Yee, A.J., Schubert, M., Michael, L., Zhang, C.-Y., Ueki, K., Dodson Michael, M., Lowell, B.B., Kahn, C.R. (2000) Frataxin activates mitochondrial energy conversion and oxidative phosphorylation. *PNAS* 97: 12239-43.

- Rustin, P., von Kleist-Retzow, J.-C., Chantrel-Groussard, K., Sidi, D., Munnich, A., Rotig, A. (1999) Effect of idebenone on cardiomyopathy in Friedreich's ataxia: a preliminary study.
- Santos, M.M., Ohshima, K., Pandolfo, M. (2001) Frataxin deficiency enhances apoptosis in cells differentiating into neuroectoderm. *Hum. Molec. Genet.* 10: 1935-44.
- Schulz, J.B., Dehmer, T., Schols, L., Mende, H., Hardt, C., Vorgerd, M., Burk, K., Matson, W., Dichgans, J., Beal, M.F., Bogdanov, M.B. (2000) Oxidative stress in patients with Friedreich ataxia. *Neurology* 55: 1719-21.
- Sharma, R., Bhatti, S., Gomez, M., Clark, R.M., Murray, C., Ashizawa, T., Bidichandani, A.I. (2002) The GAA triplet-repeat sequence in Friedreich ataxia shows a high level of somatic instability in vivo, with a significant predilection for large contractions. *Hum. Molec. Genet.* 11: 2175-87.
- Shoichet, S.A., Baumer, A.T., Stamenkovic, D., Sauer, H., Pfeiffer, A.F.H., Kahn, C.R., Muller-Wieland, D., Richter, C., Ristow, M. (2002) Frataxin promotes antioxidant defense in a thiol-dependent manner resulting in diminished malignant transformation in vitro. *Hum. Molec. Genet.* 11: 815-21.