

GRADU AMAIERAKO LANA

DARDARINA GENEAREN MUTAZIOA PARKINSONEN GAIXOTASUNEAN

FARMAZIAKO GRADUA

2021-2022

Egilea: Miriam Badiola Juaristi

Zuzendariak: Igor Horrillo Furundarena eta Cristina Miguelez Palomo

AURKIBIDEA

1 SARRERA	1
2 HELBURUAK	5
3 GARAPENA	5
3.1 Dardarinaren ezaugarriak	5
3.2.1 Elkarrekintza zuzena	9
3.2.2 Zeharkako elkarrekintza	9
3.3 Dardarina eta mitokondria funtzioa	11
3.4 Tratamendu berriak	13
3.4.1 Lehen belaunaldiko LRRK2 inhibitzaileak	13
3.4.2 Bigarren belaunaldiko dardarinaren inhibitzaileak	14
3.5 Dardarina Euskal Herrian	14
4 ONDORIOAK ETA ETORKIZUNERAKO GOGOETA:	15
5 BIBLIOGRAFIA	17

LABURDUREN ZERRENDA

AAD	Aminoazido aromatiko deskarboxilasa
COR	ROC C-terminala (<i>C-terminal of ROC</i>)
DA	Dopamina
GTPasa	Guanosina trifosfatasa (<i>Guanosine triphosphatase</i>)
HHE	Hesi hematoentzefalikoa
kDa	Kilodalton
L-DOPA	Levodopa
LG	Lewy-ren gorputzak
LRR	Leuzina errepikapen aberatsa (<i>Leucine rich repeat</i>)
LRRK2	Leuzina errepikapen aberatsdun kinasa 2 (<i>Leucine rich repeat kinase 2</i>)
MAO-B	B monoamino oxidasa
MDS	Mugimendu nahasmenduen nazioarteko elkarte ofiziala
MLi-2	Cis-2,6-dimetil-4-(6-(5-(1-metilciclopropoxi)-1H-indazol-3-il)pirimidin-4-il) morfolina
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
PDE4	Fosfodiesterasa 4
PG	Parkinsonen gaixotasuna
PKA	A protein kinasa
PINK1	PTENek eragindako kinasa 1 (<i>PTEN Induced Kinase 1</i>)
ROC	Ras komplexua (<i>Ras of complex</i>)
ROS	Oxigeno espezie erreaktiboak (<i>Reactive oxygen species</i>)
SNc	Substantzia beltza (<i>Substantia nigra pars compacta</i>)
SNCA	Alfa sinukleina (<i>Synuclein Alpha</i>)
VPN35	Proteina bakuolarren sailkapenari lotutako proteina 35 (<i>Vacuolar protein sorting-associated protein 35</i>)
WT	Basatia (<i>Wild type</i>)

LABURPENA

Parkinsonen gaixotasuna neurona dopaminergikoei eragiten dien gaixotasun neurodegeneratiboa da, ezaugarri nagusienetarikoa neurona dopaminergikoen endekapena izanik. Kausa ezagunena Lewy gorputzen metaketa da; α -sinukleiaz osaturik dauden inklusio intrazelularrak izanik. Gaixotasunaren genetikari buruz eginiko ikerketek adierazi dute badagoela gene bat, LRRK2 edo dardarina izenekoa, bertan mutazioak izanez gero, patologia izateko eta garatzeko prebalentzia handitzen duena. Kodetzen duen proteina, dardarina, ROCO superfamiliaren barnean dago, hainbat domeinu dituena. Kinasa domeinu bat du, eta horrek kinasa aktibitatea ematen dio. Proteinak hainbat funtzio zelularretan parte hartzen du; bide lisosomalaren bidezko autofagian, garraio axonalean eta endozitosian kasu. Mutazioak ematen direnean, dardarinaren kinasa aktibitatea handiagotu egiten da, eta funtzio horietan asaldura ezberdinak pairatzen dira, horrek azkenean α -sinukleinarekin metaketa eraginez. Bestalde, LRRK2 mutanteek mitonkodia funtzioan hainbat aldaketa sortzen dituzte, azkenean neurona dopaminergikoen endekapena dutena ondorioztat. Gaur egun, enpresa farmazeutiko ezberdinak gene hori ikertzen ari dira, gaixotasuna sendatzeko iturri gisa balioko duelakoan. Nahiz eta oraindik merkaturatu ez egon, molekula ezberdin anitz daude aztergai, etorkizun batean tratamendu berri posibleak izan daitezkeenak. Euskal Herrian konkretuki, hainbat entsegu kliniko egin dira horren inguruan, eta, emaitzen arabera, euskaldunok LRRK2 mutazioak jasateko joera nabariagoa dugu gainontzeko lurralde eta etniekin alderatu.

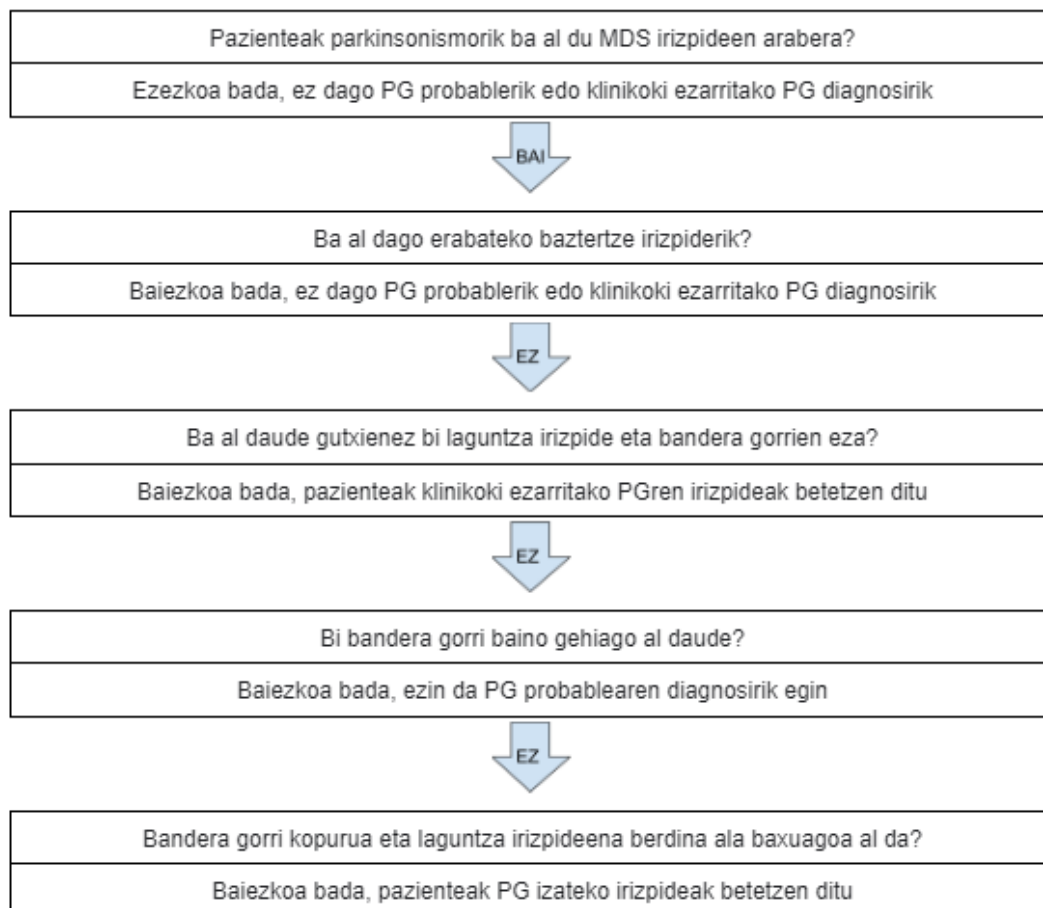
1 SARRERA

Parkinsonen gaixotasunaa (PG) nerbio sistema zentralari eragiten dion gaixotasun neurodegeneratiboa da, mugimenduari eragiten dion bigarren patologia nagusia dena, Alzheimerren atzetik. Munduan 60 urtetik gorakoen %1ak pairatzen du, nahiz eta adin gazteagoko pertsonetan ere ikusi izan den, baina prebalentzia oso baxua da^[1]. Azken bi hamarkadetan intzidentziak eta prebalentziak azkar egin dute gora. Gorakada hori hainbat arrazoi ezberdinek justifikatu dezakete. Alde batetik, aipatzekoa da adina, geroz eta gizarte zaharragoan bizi baikara. Bestetik, diagnosian, eman diren hobekuntzak, eta eskura dauden tratamenduek ere biziraupenean laguntzen dute^[2]. Hori horrela, gizartearentzat PGk gero eta zama sozioekonomiko handiagoa dakar^[3].

PGren etiologia zehatza ezezaguna bada ere, gaur egun, ikusi da arrisku faktore ezberdinek patologiaren sorreran eta garapenean dutela eragina; multikonpetentea baita. Faktore horien artean bi mota bereiz daitezke; intrintsekoak edo endogenoak eta estrintsekoak. Intrintsekoei dagokienez, adina, sexua eta genetika dira aipagarrienak. Atzerago aipatu bezala, gaixoen gehiengoa zahartzaroan dago, baina gaixotasuna ez da adin zehatz batera mugatzen. Hala ere, adinean aurrera egin ahala PG pairatzeko arriskuak ere gora egiten du^[4]. Hala, prebalentzia-maila handiena 85 eta 89 urte bitartekoen artean dago, %1,7 gizonetan eta %1,2 emakumeetan, eta behera egiten du adin horretatik aurrera. Sexuari erreparatuz, eginiko ikerketetan ikusi da gizonen prebalentzia emakumeena baino lau aldiz handiagoa dela^[2], baina emakumeetan gaixotasunaren garapena azkarragoa da, eta mortalitate tasa ere handiagoa da^[5]. Genetikak ere paper garrantzitsua jorratzen du gaitz honen sorreran, izan ere, aurrekari familiarak behatu dira PG pairatzen duten pertsonetan^[3]. 50 edo 70 urte baino gutxiagoko gaixoetan gertatzen denean, horiek aukera handiagoa dute ekarpen genetiko garrantzitsuak izateko. Hala eta guztiz ere, kasu gehienak mutazio esporadikoen emaitzak dira^[6].

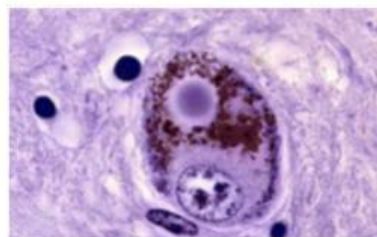
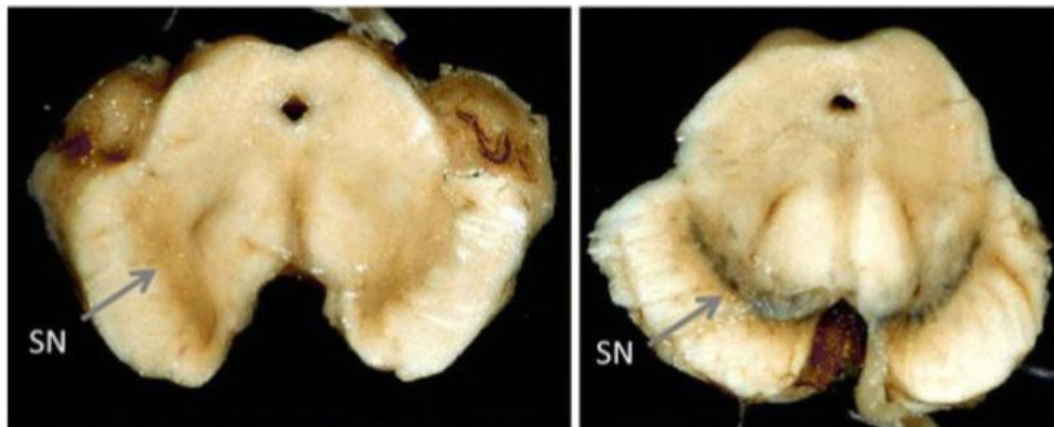
Aipaturiko faktore horiek guztiez gain, organismoari kanpotik eragiten dieten beste hainbat faktore ere badira; hala nola traumatismo kraneoentzefalikoak, pestizidak, antioxidatzaileak eta zenbait neurotoxina, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) esaterako^[3]. Zenbait farmakok ere eragina izan dezakete neurri batean; β_2 hartzaile adrenergikoen antagonistak PG izateko arrisku handiagorekin erlazionatu dira, baina, agonistek, ordea, arrisku hori murrizten dutela dirudi^[7].

Klasikoki, mugimendu nahasmendu gisa definitu izan da; atsedan dardarak, bradikinesia, jarrera-zurruntasuna eta ezegonkortasuna dituen, beste hainbat sintoma motor eta ez-motorrekin batera [8]. Agertzen diren lehen sintomen artean daude loaren asaldurak, dardara arinak, hizketa leuna, jarrera mantentzeko zailtasunak, aurpegiko espresioaren galera, gorputz-adarren mugimenduen murrizketa, kontzentrazioa galera, neke orokorra eta ageriko kausarik ez duen depresioa[9]. Sintomak nabariak diren momentutik PGren diagnosia egiten den arte 10 urte igaro daitezke[3]. Gaur egun, diagnosiak erronka izaten jarraitzen du; ezaugarri klinikoak beste gaixotasun neurodegeneratibo batzuekin gainezar daitezkeelako, eta probek eta biomarkatzaileek ez dutelako behin betiko diagnostikoa egiten uzten, etapa goiztiarrenetatik hasita[10]. Gainera, gaixo bakoitzak gaixotasunaren manifestazio ezberdinak izan ditzake. 2015. urtean Parkinson eta mugimendu nahasmenduen nazioarteko elkarte ofizialak (MDS) diagnosirako irizpide batzuk (**1.irudia**) proposatu zituen. Lehendabizi, parkinsonismoa definitzen da; bradikinesia bezala, atsedan dardararekin, zurruntasunarekin edo biak batera konbinatuta. Ondoren, parkinsonismo hori PGri esleitu dakiokkeen aztertzen da[11].



1.irudia: Parkinsonen gaixotasunaren egungo diagnosi irizpideak.

Sintoma horiek guztiak *substantia nigra pars compacta*-n (SNc) gertatzen den neurona dopaminergikoen endekapenagatik agertzen dira (**2.irudia**), eta horren ondorio den dopamina mailen murrizketaren eraginez. Neurona galera horren atzean dagoen patogenezi molekularrak hainbat mekanismo hartzen ditu barne: α -sinukleinaren proteostasia, funtzio mitokondriala, estres oxidatiboa, kaltzioaren homeostasia, garraio axonala eta neuroinflamazioa^[12]. Braak-en hipotesiaren arabera, nerbio-sistema zentralaren barruan, PG sinukleeinopatia gisa hasten da garuneko beheko enborreko egitura ez-dopaminergikoetan, edo usaimen erraboilean. Garun enborraren sinukleopatiak aurpegiz aurrera egiten duela adierazten da, sustantzia beltzari eragin eta gaixotasunaren ondorengo fase batean parkinsonismoa eragin arte^[13]. Patologiaren ikuspuntutik, Lewy-ren gorputzak (LG) deritzen inklusio intraneuronalak izategatik bereizten da. Biribilak eta eosinofiloak dira, nukleo hialiniko eta halo periferiko zurbil batez inguratua^[7]. Gehien bat α -sinukleina proteinaren agregazioz daude osaturik, baina p62, ubiquitina eta organulu eta geruza lipidiko dimorfikoak ere aurki daitezke barnean.^[14] Inklusio horiek, bai eta hasiera bateko α -sinukleinaren forma oligomerikoak, toxikoak dira^[15]. α -sinukleina fosforilatuak -zehazki serina 129an- handitu egiten du LGen eraketa. Era berean, jakina da proteina horren jatorrizko egituran akatsen bat badago, agregatuen eraketan eta SNc neurona dopaminergikoen kaltetzean lagun dezakeela^[9].



2.irudia: Goialdean eskuinean, paziente osasuntsu baten SNc ikus daiteke. Ezkerrean, aldiz, PG duen paziente batena. Azpian, neurona dopaminergiko baten LG behatu daiteke^[16].

Oraindik ez dago PG sendatzen duen tratamendurik, baina sintomak arintzen dituzten farmako eraginkorrak badaude. Tratamenduaren algoritmoaren barne daude L-DOPA, agonista dopaminergikoak, MAO-B inhibitzaileak eta baita kirurgia neuroablatiboa eta garunaren estimulazio sakonerako kirurgia ere^[17]. L-DOPA dopaminaren prekursora da, hesi hematoentzefalikoa (HHE) zeharkatzeko gai dena. Aminoazido aromatikoa deskarboxilasa (AAD) entzimaren bitartez DA bihurtzen da SNC-n eta periferian. DAREN bioerabilgarritasuna handitzeko eta eragin desiragaitzak ekiditeko AAD inhibitzaileak administratzen dira, besteak beste, karbidopa edo benserazida^[18]. Agonista dopaminergikoak (apomorfina, rotigotina, bromokriptina, adibidez) monoterapiaren erabili daitezke gaixotasunaren hasieran edo L-DOPArekin konbinatuta garapen aurreratua duten gaixoen kasuan. MAO-B inhibitzaileek (selegilina, safinamida, rasagilina, adibidez) DAREN metabolizazioaz arduratzen den entzima inaktibatzen dute^[19].

PGren ikerketan eginiko aurrerapen handienetakoa genetikaren funtzionamendua hobeto ulertzea izan da. Gehien aztertutako geneak SNCA, VPS35, LRRK2, Parkin, PINK1 eta DJ1 izan dira. Lehenengo hiru geneetan ematen diren mutazioak autosomiko gainartzaileak dira, eta gainontzekoetan ematen direnak, aldiz, autosomiko azpirakorrak^[20].

SNCA laugarren giza kromosoman dago kokatua eta α -sinukleina kodetzen du. Gene horretan ematen diren mutazioak nahiko arraroak dira. Locusean bikoizketa ematen bada PGren ohiko fenotipoa izango du gaixoak, baina hirukoizketa ematen bada, larriagoak diren fenotipoak pairatuko ditu gaixoak^[21].

VPS35 hamaseigarren kromosoman aurkitzen da, eta 796 ondarru dituen proteina kodetzen du. Ez da ongi ezagutzen proteina horren funtzioa, baina autofagian eta funtzio lisosomikoan parte hartzen duela uste da.^[22]

Parkin eta PINK1 geneek kodetzen dituzten proteinek kaltetutako mitokondrioak detektatzen eta ezabatzen jarduten dute, aman komunean duten bidea erabiliz. Hortaz, horietan ematen diren mutazioek funtzio mitokondrialean dute eragina^[21].

DJ1ek kodetzen duen proteinak 189 aminoazido ditu, funtzio nagusia kalte oxidatibotik babestea delarik. Horren funtzioaren galerak estres oxidatiboa, erantzun antioxidatzailean asaldurak eta ROS igoera eragiten ditu^[23]. Azkenik, LRRK2 edo Dardarina dugu, lan honetan sakonki aztertuko dena, euskaldunon artean horren mutazioa ohi baino handiagoa

izatearren.

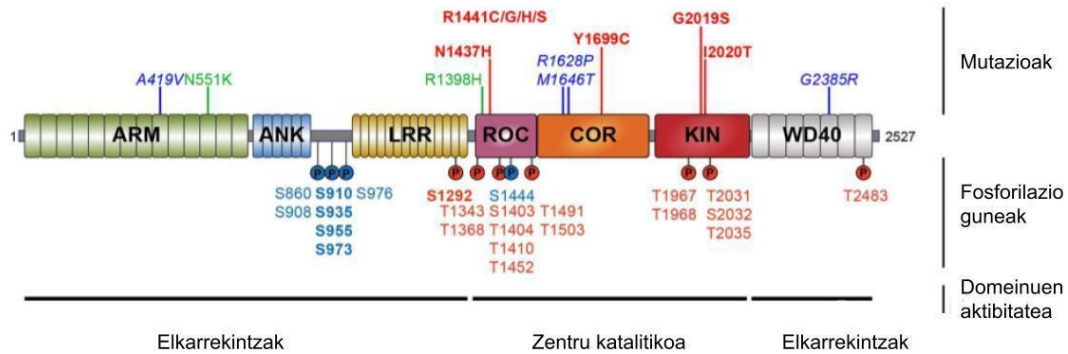
2 HELBURUAK

Lan honetan zehar dardarina geneak PGean dituen eraginak aztertuko dira. Lehenik eta behin, dardarinak dituen ezaugarriak deskribatuko dira, baita bere egitura ere. Dardarina proteinan ematen diren aldaketa genetikoek patologiaren garapenean giltza den α -sinukleinarekin duten erlazioa aztertuko da. Mekanismo ezberdinen bidez sinukleinaren metaketa nola eman daitekeen aztertuko da. Bestalde, gene hau itu gisa duten tratamenduak ere aztertuko dira. Horrez gain, Euskal Herrian dardarinan ematen diren mutazioei buruzko hainbat entsegu kliniko plazaratuko dira.

3 GARAPENA

3.1 Dardarinaren ezaugarriak

2004. urtean LRRK2 genea deskribatu zen, 12. kromosoman dagoena. Gene horretan ematen diren mutazio ezberdinak PG familiarrarekin eta esporadikoarekin daude loturik^[24]. LRRK2-k 286 kDa-ko domeinu anitzeko dardarina edo LRRK2 izeneko proteina kodetzen du ("dardara" euskerazko hitzetik), 2527 aminoazidoz osaturik dagoena^[25]. Hori, ROCO superfamiliaren barnean dago, eta osatzen duten domeinu ezberdinek proteina-proteina elkarrekintzetan parte hartzen dute; *Ras of complex/GTPasa* (ROC), *C-terminal of ROC* (COR), serina/treonina kinasa, ankyrin N-terminala, *leucine rich repeat* (LRR) eta WD40 C-terminal domeinuak. GTPasa eta kinasa aktibitateak dira garrantzitsuenak, zentru katalitikoak osatzen dutelarik. Identifikatu diren mutazio nagusiek -G2019S, R1441G/H/C, I2012T, Y1699C, I2020T, eta N1437H- bi aktibitate horien aldaketa eragiten dute^[14]. Mutazio ohikoena G2019S da, non 2019. posizioan dagoen glizina serina batez ordezkutzen den. Bere kinasa domeinuaren arabera definitzen dela, dardarina serina-treonina kinasa bat da, proteinaren beste zati batzuetan dauden hondarrak autofosforilatzeko gai dena, bai eta sustratu talde heterogeneoak fosforilatzeko gai ere ^[26]. Hainbat autofosforilazio gune aurki daitezke proteina osoan, entzimaren nukleo katalitikoaren barruan dauden zenbait aldaketa gune ezberdinekin. Hurrengo irudian (**3.irudia**) fosforilazio horiek eragin ditzaketan hainbat mutazio daude adierazita.

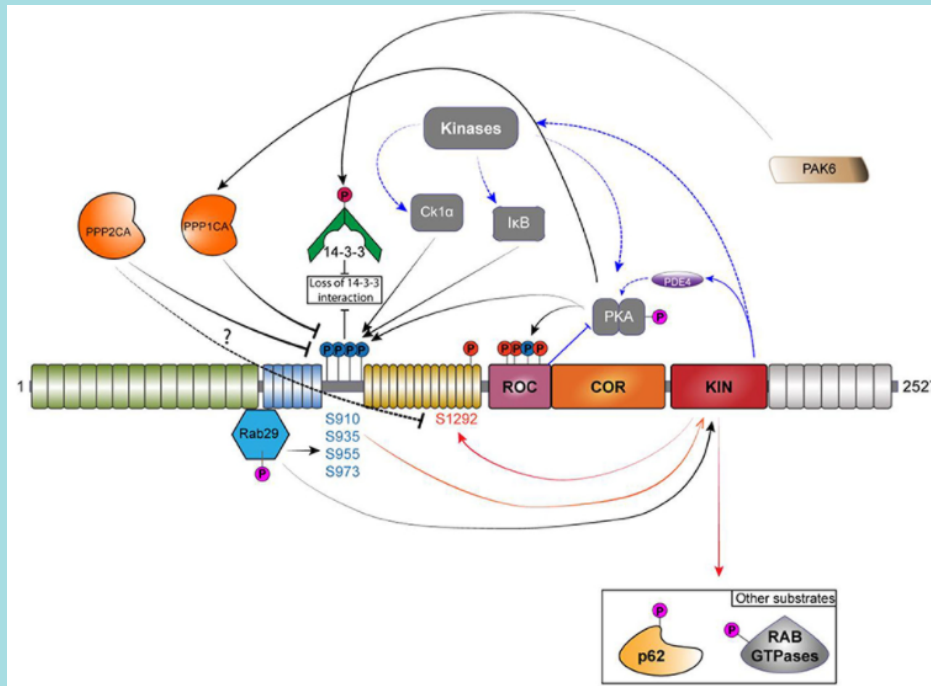


3.irudia: LRRK2 edo dardarina proteinaren antolaketa eskematikoa. Gorritz daude adierazita mutazio gune patogenikoak, urdinez arrisku aldaerak eta berdez babes aldaerak ^[25].

Duela gutxi argitaratutako aurkikuntza garrantzitsua izan da proteinaren RocCOR domeinuan aurkitutako 910, 935, 955 eta 973 serinak desfosforilatuta daudela frogatzea PGren mutazio patogenikoetan. Beraz, horrek esan nahi du zentru katalitikoan ez ezik, mutazioek aldaketak eragiten dituztela proteinaren beste hainbat lekutan ere. Aldatutako GTPasa jarduerak edo kinasa jarduerak dardarinaren defosforilazioa nola eragiten duen ez dago argi; hala ere, litekeena da, mutazioek entzimaren jarduera edo konformazioa aldatzea, gune horien erregulazioan eraginez, fosfatasaren eskuragarritasuna murriztuz ^[27].

1.kutxa: Dardarinaren fosfoerregulazioa [25]

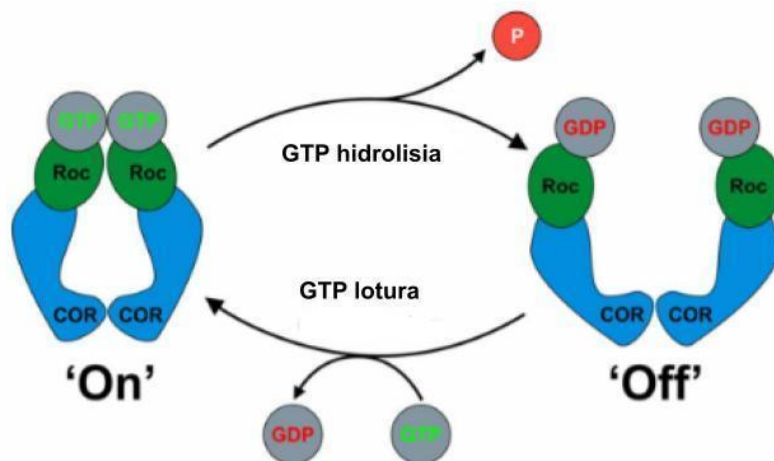
Dardarina proteinaren fosforregulazioan molekula ezberdin anitzek hartzen dute parte; horietako batzuk dardarina berak ere erregula ditzakeenak. Ur goran gertatzen den erregulazioan, fosfatasa inhibitzailak ezkerrean kokatzen dira, eta kinaasa aktibatzaileak eskuinean. N-terminalaren fosforilazio guneen (S910/935/955/973) erregulazioan kinasak eta fosfatasak jarduten dute. N-terminala eta S1444 guneak PKA-k fosforilatzen ditu; aldi berean, dardarina PKA-ren jardura erregulatzeko gai da, bere ROC domeinuaren zuzeneko elkarrekintzaren bidez, edo zeharka; fosfodiesterasa 4-ren (PDE4) gainean eraginez. PPP1CAk dardarinan eragiten duela baieztatu da. Horrez gain, PP2A holoentzimak fosforilazioa erregula dezake S1292an. N-terminalaren guneen fosforilazioak, berriz, 14-3-3 proteinekin gertatzen den elkarrekintza ahalbidetzen du. Proteina horiek PAK6k fosforilatzen baditu, dardarinarekiko lotura indargabetuta geratzen da. RAB29k dardarinarekin elkarrengaitan du Trans-Golgi sarean; modu horretan N-terminalaren gunearen fosforilazioa eta proteinaren kinaasa jardura handitzen dira. Dardarinak RAB29 fosforilatu dezake, eta bere buruaren aktibazioa saihestu, inaktibazio sarea martxan jarriz.



- Inhibizioa
- Aktibazioa
- N-ter guneen aktibazioa
- Eragin aktibatzaile posiblea
- LRRK2-ren kinaasa jardueraren aktibazioa ur goran
- LRRK2-ren kinaasa jardueraren aktibazioa substratuetan
- Eragin inhibitzaile posiblea
- LRRK2-ren ur gora elkarrekintzen inhibizioa
- Fosforilazio gune heterogeneoa
- Autofosforilazio gunea

4.irudia: Dardarina genearen fosforilazio prozesuan parte hartzen duten molekulak eta horiek erabiltako mekanismoak.

Dardarinaren funtzio zelular kopurua izugarri zabala da, ez soilik zelula mota espezifikoetan adierazteagatik, baita bere jardueraren erregulazio konplexu eta koordinatuagatik ere. Zeluletan monomero nahiz dimero moduan agertzen da, non bi espezieek ezaugarri eta kokapen subzelular desberdinak dituzten. Zehazki, forma dimerikoak mintz intrazelularretan daude, eta kinasa jarduera handiagoa dute -autofosforilazioko *in vitro* saiakuntzen arabera; forma monomerkioa, ordea, nagusiki zitosolikoa da, eta kinasa jarduera txikiagoa du. Dardarina molekulak elkarrekintza konstitutibo baten bidez dimerizatzen dira (**5.irudia**), bi ROC domeinuak hurbiltasun estuan mantentzen dituzten COR domeinuaren bidez. ROC domeinuei GTP lotuz gero, proteina dimerizatu egiten da, eta proteina efektoreak elkartu egiten dira. Ondoren, GTP-ren hidrolisiak ROC dimerizazioa eteten du, eta, horren ondorioz, proteina efektoreak disoziatzen dira. Dardarinaren dimerizazioa, beraz, erregulazio mekanismo garrantzitsua dazalantzarik gabe ^{[26] [27] [28]}.



5.irudia: Dardarinaren dimerizazioa. Proteina dimerizaturik dagoenean “on” egoeran aurkitzen da; disoziatuturik dagoenean, aldiz, “off” egoeran ^[28]

Guztiz argi ez dagon arren, badira froga batzuk LRRK2 genea homeostasi zelularren mantenuan hainbat mekanismo ezberdinen bidez inplikaturik dagoela pentsa arazten dutenak; bide lisosomalaren bidezko autofagian, garraio axonalean eta endozitasian, besteak beste ^[29].

3.2 Dardarina eta α -sinukleina

Ekintza mekanismo zehatza jakina ez den arren, bien arteko elkarrekintza ikusi da PGren sorreran eta garapenean. Elkarrekintza hori ordea, zuzena edo zeharkakoa izan daitekeela uste da.

3.2.1 Elkarrekintza zuzena

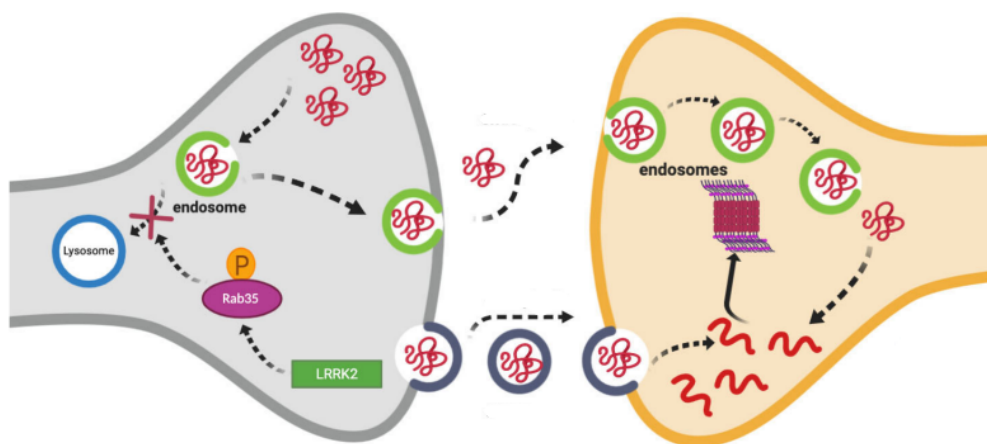
Dardarinaren eta α -sinukleinaren proteina-proteina elkarrekintza zuzena balitz, bien arteko kontaktu fisikoa beharko litzateke, eta, horri esker, proteina batek zuzenean erregulatu ahal izango luke bestearen funtzioa eta/edo jarduera. α -sinukleina egoera fisiologiko normalean monomero gisa egoten da, edota hainbat mintz eta egitura besikularrekin asoziatuak ^[30]. Hala ere, estres baldintza jakin batzuetan edo beste kausa ezezagun batzuen ondorioz, α -sinukleina oligomeroetan biltzen da, eta, ondoren, LG osatzen dituzten zuntzetan ^[31]. Zuntzetan dagoen α -sinukleina gehiena fosforilatuta egoten da. Dardarina serina/treonina kinasa den aldetik, G2019S mutazioak α -sinukleinarekin elkarreragin eta fosforilatu egin dezakeela iradoki da, α -sinukleina agregazioak sortzen direlarik, azkenean heriotza zelularra eraginez ^[32]. Oro har, froga gutxi daude dardarinaren eta α -sinukleinaren arteko elkarrekintza fisiko zuzena bermatzen dutenak.

3.2.2 Zeharkako elkarrekintza

Elkarrekintza mota honetan bai geneak eta bai sinukleinak amankomunean dituzten proteina eta bideen bidez jarduten dutela uste da. Bitartekari gisa jarduten duten proteina nagusiak txaperoiak dira. Txaperoiak proteostasia mantentzen duten molekulak dira. Sortzen diren kate polipeptidikoen tolestean, gaizki tolestutako proteinak ondo tolestean eta proteina akatsdunak degradaziora bideratzeaz arduratzen dira ^[33]. Horien artean, *heat shock* proteinak edo Hsp deiturikoak (Hsp70 eta Hsp90) daude, eta dardarina eta sinukleinarekin elkarrekiten dute. Konkreterik, Hsp70-k neurona dopaminergikoen endekapena eta α -sinukleinaren agregazioa saihesten ditu^[14]. Horrez gain, aurretik jada sorturik zeuden agregazioak desagiteko ahalmena du CMA edo txaperoi bidezko autofagiaren bidez. Hsp70k ubikitinazioz markatutako hainbat sustantzia (α -sinukleina barne) askatzen ditu, LAMP2 hartzaile lisosomalarekin batera, degradatuak izan daitezten. Dardarina mutatzeari LAMP2 inhibitzen da, hortaz, Hsp70k ezin izango du sinukleina lisosometara bideratu ^[34]. Ulertzekoa da txaperoien sistemak bitartekari gisa jardun ahal izatea, gaixotasunaren egoera jakin batzuetan sinukleinaren degradazioa erraztuz. Sistema horretan akatsen bat badago, dardarinaren mutazio ezberdinak kasu, degradazioa gutxitzea eta α -sinukleina metatzea eragin dezakete ^[33].

Aztertua izan den beste mekanismo bat α -sinukleinaren zelula-zelua transmisioa da. Lehen, zelularen proteina autonomotzat jotzen zen, bere zitotoxikotasuna aurkitzen zen zelulara mugatzen zela uste baitzen. Hala ere, gero eta froga gehiago dago kaltetutako zelula baten α -sinukleina zelulaz kanpoko espaziora aska daitekeela bermatzen dutenak. Hori horrela

izanik, ondoko neuronek eta glia zelulek har dezake. Hartutako proteinak aldi berean monomero bezala aritu daitezke, agregazioa eragin eta ondoren neurona hartzaileetan inklusioak sortzeko ^[35] ^[36]. LRRK2 geneak transmisio edo garraio hori erregula dezake (**6.irudia**). Rab proteinek lotura interesgarria ematen dute dardarinaren eta α -sinukleinen hedapenaren artean. Rab-ak G proteina familia bat dira, RAS proteinen superfamiliako kideak. Eskuarki, dardarinaren substratu nagusizat hartzen dira eta zelularen barruan, besikulen eraketa, aktina eta tubulinaren zitoeskeletoen mugimendua, eta beste besikula eta organulu batzuekin bat egitea erregulatzen dute. Mutatutako dardarinaren bidez Rab fosforilazioa handitzen da eta honek bere substratuekin duen elkarrekintza eragozten da. Rab35 eta Rab29-ek zeregin garrantzitsua dute trafiko endosomalean eta birziklapenean. Dardarina mutanteak eragindako Rab35-en fosforilazioa funtsezkoa da dardarina bidezko α -sinukleina hedapenean. Rab proteina hauen erregulazioan ematen diren aldaketek, neurona hartzaileetan α -sinukleina agregatuak degradatzen dituen bide endosomal-lisosomalala alda dezake; beraz, α -sinukleina agregatuak zelulaz-zelulaz transmitizera bideratuko lirarteke exozitosi bidez ^[14] ^[37] ^[34] ^[38] ^[39] .



6.irudia: Sinukleinen zelula-zelula transmisioa. Mutazioa jasan duen dardarinaren kina jardueraren handitzeak Rab35 fosforilatzen du, α -sinukleina agregatuen degradazio endosomal-lisosomalala eragotziz. Horrek, aldi berean, exosometan zelulaz kanpoko espazioan aska daitezkeen α -sinukleina agregatuen hazien erreserba zitosoliko mugikorak areagotu ditzake. Hazi horiek inguruko neuronetako zitosolera eraman daitezke, eta bertan α -sinukleina monomeroen agregazioa susta dezakete oligomero eta zuntzetan ^[14].

Parkinson familiarraren dardarinaren mutazioen adierazpenak aldatu egiten ditu lisosomen morfologia, banaketa, pH-a eta degradazio ahalmena zelula mota askotan; besteak beste fibroblastoetan, neurona estriataletan, neurona primarioetan eta astrozito primarioetan. Funtzio lisosomikoaren akatsek biltegitratze lisosomikoaren asaldurak eragiten dituzte, eta horietako batzuk neurodegenerazio progresiboa dute ezaugarri. G2019S mutazioan glukozerebrosidasa lisosomalaren (GCasa) jardueraren jeitsiera bat ematen da. Ondorioz, glikoesfingolipidoen metaketa gertatzen da, hau nahikoa izanik α -sinukleina oligomeroen sortzea eta egonkortzea sustatzeko. Dardarinaren kinasa aktibitatea handitzean honen sustratua den Rab10 fosforilatzen da Y307an, bere funtzioaren inhibizioa eraginez, eta horrek GCasaren jardueraren gutxipena eragiten du. Lisosoma sistema horretan ematen diren disfuntzioek ere neurona dopaminergikoen suszeptibilitatea azal dezakete; izan ere, dardarina oso garrantzitsua da besikula garraiorako, eta proteina horren disfuntzioak dopamina garraiatzailea (DAT) gaizki orientatzea eragin dezake, dopaminaren ezohiko metabolismoa eta oxidazioa eraginez. Jakina da dopamina oxidatuak GCasaren jarduera murrizten duela, atzeraelikadura negatiboko bidea indartuz, eta, horren ondorioz, neurona dopaminergikok bereziki jasan dezakete endekapena. Azken aurkikuntzek adierazten dute dardarinaren kinasa aktibitatearen inhibizio farmakologikoak GCasaren jarduera leheneratu dezakeela, bai eta dopamina oxidatuaren eta sinukleina fosforilatuaren mailak murriztu ere [40] [14] [41] [42].

3.3 Dardarina eta mitokondria funtzioa

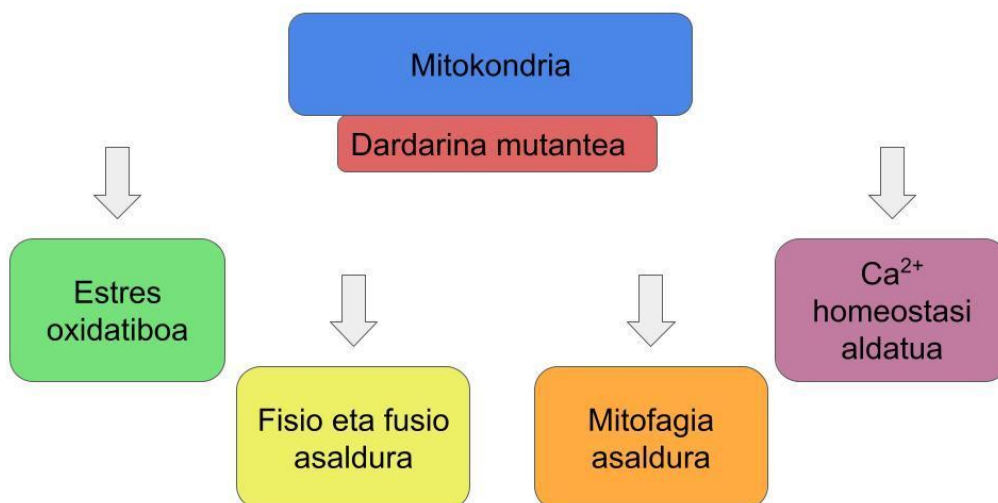
Dardarinaren mutazioek funtzio mitokondrialak asaldatzen dute (**7.irudia**), azken buruan PGren patogenesisian lagunduz. Hainbat ikerketak frogatu dutenez, LRRK2 mutantea estres oxidatiboarekin lotutako sentikortasun handiagoarekin lotzen da, eta horrek heriotza zelularra areagotzea dakar. Estres oxidatiboa oxigeno espezie erreaktibo (ROS) gehiegi ekoiztearen eta defentsa antioxidatzaile mugatuaren arteko desorekaren emaitza da. ROSe kalte oxidatiboak eragin ditzakete proteina, DNA eta lipidoetan. Mitokondriek sortzen dituzte ROS gehienak OXPHOS azpiproduktu gisa arnas katearen konplexuaren bidez [43]. LRRK2 genearen mutazio patogenoek mitokondrien defentsa antioxidatzaileak gutxitu ditzakete hainbat mekanismoren bidez. Dardarinaren G2019S mutanteak nabarmen handitzen du 3 peroxiredoxinaren (PRDX3) fosforilazioa, eta hau da mitokondrian hidrogeno peroxidoaren ezabatzaile garrantzitsuena [44]. Dardarina2 mutanteak mitokondrien defentsa antioxidatzaileak gutxitu ditzakete beste bide bat erabiliz, 4E-BP hiperfosforilatu. Itzulpenaren inhibitzaile bat da, estres oxidatiboaren biziraupen erantzunaren bitartekotzan inplikaturik dagoena. 4E-BParen hiperfosforilazioak estres oxidatiboarekiko eta

neurodegenerazio dopaminergikoarekiko erresistentzia txikiagoa ekar dezake.

Mitokondriak organulu dinamikoak dira, fusionatu eta banatu egiten direnak. Fasioaren eta fusioaren oreka dinamikoak mitokondrien funtzionamendu egokiari laguntzen dio. Dardarinaren mutazioek oreka horri eragiten diotela frogatu da. G2019S mutantearen gainespresioak zatiketa mitokondriala eragin dezake neurona kortikal primarioetan, DLP1-rekiko -fisio mitokondrialeko proteina elkarrekintzan bidez. Rab7 lisosomala ere fisio mitokondrialean inplikaturik dagoela ikusi da. Hainbat ikerketek frogatu dute mitokondria-lisosoma kontaktuak daudela, eta Rab7-ren GTP hidrolisiaren bidez fisio hori erregula daitekeela. Rab7 dardarinaren substratuetako bat denez, litekeena da dardarinaren mutanteek PGren dinamika mitokondrialari eragitea, Rab-ren GTP hidrolisiaren erregulazioaren bidez ^[45].

Mitofagiaren bidez kaltetuak izan diren mitokondrioak eliminatzen dira. Prozesu horretan gertatzen diren asaldurek gaixotasun neurodegeneratiboetan paper garrantzitsua dute. Miro kanpoko mintz mitokondrialaren proteina bat da, eta kinesina eta dineina motor mikrotubularrak ainguratzen ditu. Dardarinak kaltetutako mitokondriak elimintatzen ditu, Miroekin konplexu bat eratzen baitu, mitokondrietatik honen atxikipena kenduz. Dardarina mutanteak (G2019S) konplexu hori eteten du, Miro kentzea moteltzen du eta ondorioz mitofagia atzeratzen du ^[46]

Mitokondriek kaltzioaren homeostasiaren mantentzean parte hartzen dute, hala nola neuronetan Ca^{2+} bahituz, afinitatea baxuko uniportatzaile mitokondrialaren eta hari lotutako erregulatzaileen bidez. Kaltzioaren homeostasiaren alterazioa PGren patogenesietako bat izan daitekela uste da. SNC-ko neurona dopaminergikoak, erritmo autonomoa ezartzeko boltai bidez aktibatutako kaltzio kanalen mende daude, eta horrek gehiegizko karga metabolikoa dakar ATPri dagokionez, despolarizazio erronda bakoitzean gehiegizko kaltzioa kanporatzeko. Neurona horietan Ca^{2+} zitosolikoaren igoera iraunkorrek ROS ekoizpena eragiten dute, azkenan heriotza zelularra sortzen delarik. Kaltzioaren homeostasian dardarinaren parte-hartze zuzena aztertzen duten ikerketak urriak diren arren, nolabaiteko erlazioa dagoela baieztatu da. Dardarina mutantea adierazten duten neurona kortikalek akatsak izan dituzte homeostasi hori mantentzerako orduan; ondorioz, disfuntzio mitokondriala, degradazioa eta dendriten laburtzea jasaten dute ^{[47] [48]}



7.irudia: Dardarina mutantearen ondorioz asaldurak jasaten dituzten mitokondrio funtzioak.

3.4 Tratamendu berriak

LRRK2 genean ematen diren mutazio patogenikoek proteinaren kinasa jardueraren areagotzea dakartela eta honen inhibitzaileak diren molekula txikiak eredu aurreklinikoetan neurobabesleak izan daitezkeela jakiteak, PG tratatzeko itu gisa kokatu dute dardarina ^[49]. Aipatutako ebidentzia horietan oinarrituta, enpresa farmazeutikoek LRRK2ren kinasa jarduerari zuzendutako konposatuak garatu dituzte, mutazioei lotutako kinasa jardueraren igoera blokeatzen dutenak. Lehen belaunaldiko dardarinaren inhibitzaileak deiturikoek, hala nola, estaurosporina, sunitinib, CZC 54252, CZC-25146, TAE684 eta LRRK2-IN-1, kinasa jarduera inhibitzeko eragin nahiko ona dute. Hala ere, ez dira espezifikoak eta beste kinasa batzuk ere inhibitzen dituzte, propietate farmakologiko eskasekin batera, eta horrek zaildu egiten du modelizaziorako edo ikasketa funtzionaletarako erabiltzea. Bigarren belaunaldiko konposatuek selektibitate handiagoa eta *in vivo* potentzial hobea dute, garunean dardarinaren inhibizioa mugatua izan arren ^[50].

3.4.1 Lehen belaunaldiko LRRK2 inhibitzaileak

LRRK2-IN-1 da potentzia eta selektibitate profil hobetua duten konposatu batzuen artean aurkitu zen lehena ^[51]. Ser910 eta Ser935-ren desfosforilazioa sustatzen du dardarinan ^[52]. LRRK2-IN-1-ren selektibitate sendoa zuela frogatu zen, errendimendu handiko 442 kinasako kinasa-profilen baheketa baten bidez. WT eta LRRK2 G2019S mutanteetan afinitate handia zuenez, eta ezaugarri farmakozinetiko egokiak (batezbesteko erdibizitza 4,5 ordu) zituenez, etorkizun handiko agentea zela zirudien PGren ikasketa terapeutikoetarako^[53]. Hala ere, haren tamaina handiak eta HHEren bidezko iragazgaitasunak *in vivo* erabilera mugatzen

dute, baita hantura bideekin lotutako zenbait eragin desiragaitzek ere ^[54].

CZC-54252 eta CZC-25146 beste bi inhibitzaile dira, dardarinaren aurkako espezifikotasun eta potentzia hobetuak dituztenak. Bi konposatu horien aktibitatearen analisia egin da 185 kinasa ezberdin erabiliaz eta hurrengo datuak lortu dira; CZC-54252k hamar kinasa inhibitzen ditu, eta, CZC-25146k, berriz, bost, profil garbiagoa erakutsiz. *In vivo*, CZC-25146k propietate farmakozinetiko nahiko onak ditu, eta banaketa handia du saguetan benabarneko administrazio bidez. Zoritxarrez, LRRK2-IN-1-rekin gertatzen den bezala, bi CZC konposatuek ez dute HHE zeharkatzea lortu, % 4ko barneraketa bakarrik erakutsiz ^[55]. Beraz, entseguak garatzeko konposatu bikainak eman arren, oraindik hobekuntza gehiago behar dira gizakietan *in vivo* probetarako konposatuak sortzeko.

3.4.2 Bigarren belaunaldiko dardarinaren inhibitzaileak

HG-10-102-1 da aurkitutako dardarinaren lehen inhibitzaile selektiboa. Saguetan HHE zeharkatzen du garunean LRRK2-ren jarduera inhibitzen duelarik. WT eta G2019S mutazioa duten saguetan Ser910 eta Ser935 fosforilatzea inhibitzen du ^[56]. GNE-0877 eta GNE-9605 garunean barneratze hobea eta potentzia handia erakusten duten molekulak dira. Konposatu horiek dosi mendeko LRRK2 inhibizio nabaria erakutsi dute LRRK2 G2019S giza proteina adierazten duten sagu transgenikoen garunean ^[57].

Azken urteetan LRRK2 kinasaren inhibitzaileen garapenean aurrerapen esanguratsuak egin diren arren, potenteagoak eta selektiboagoak diren egitura ezberdinak bilatzen ari dira LRRK2ren biologia zehatz-mehatz esploratzeko egokiagoak direnak, *in vivo* zein *in vitro*. Azterlan horretan, Cls-2,6-dimetil-4-(6-(5-(1-metilciclopropoxi)-1H-indazol-3-il)pirimidin-4-il) morfolinaren (MLi-2) aurkikuntzaren eta farmakologiaren berri eman da, kinasa jardueraren inhibitzaile indartsua, selektiboa eta nerbio sistema zentrolean aktiboa, egokia dena proteinaren jardueraren inhibizio potentzial terapeutikoa eta segurtasuna aztertzeko ^[58].

Hala ere, oraindik ikerketa eta entsegu anitzen beharra dago molekula ezberdin hauek PGren tratamendu izatera iritsi arte, bai ekintzari eta bai segurtasunari dagokionez.

3.5 Dardarina Euskal Herrian

LRRK2 R1441G mutazioa lehen aldiz Euskal Autonomia Erkidegoko lau familian identifikatu zen, eta, ondoren, eskualde horretako pazienteen % 8an aurkitu zen. Duela urte batzuk baieztatu zen R1441Gren maiztasun handia Euskal Herrian, PG famaliarra duten

gaixoen %46ak eta noizbehinkako gaixotasun esporadikoa duten euskal pazienteen % 2,5ek pairatzen baitute ^[59].

2008. urtean eginiko ikerketa batek, dardarina aztertu zuen Euskal Herriko pertsonetan. LRRK2 genean ematen diren mutazioak dira PGren kausa genetiko ohikoenak, baina populazioaren arabera prebalentzia aldatu egiten da. Aurretik aipatu den moduan, ematen den mutazio nagusia G2019S da. Mundu osoan zehar aztertu da, Europan batez ere, nahiz eta etnia ezberdineko populazio batzuetan ez den aurkitu. Aitzitik, LRRK2-R1441G mutazioak Euskal Herrian prebalentzia handia du, non haplotipo sortzaile amankomun bat deskribatu den. Guztira 556 pertsonak hartu zuten parte; Donostiako Ospitaleko Neurologia Zerbitzuko Mugimendu Nahasmendu Unitatetik autatuak, 418 paziente eta 138 kontrol. Parte hartzaileak euskaldun gisa sailkatu ziren lehen bi abizenak euskal jatorrikotzat har zitezkeenean. Gainera, etnia elkarrizketa pertsonalean ebaluatu zen. Emaitzen arabera R1441G mutazioa ohikoagoa da euskal jatorriko populazioan; G2019S, berriz, askoz ere ohikoagoa da Euskal Herrikan kanpoko biztanlerian, R1441Grekin alderatuta ^[60].

4 ONDORIOAK ETA ETORKIZUNERAKO GOGOETA:

Parkinsona Lewy gorputzak eta neurona dopaminergikoen endekapena ezaugarri nagusizat dituen gaixotasun neurodegeneratiboa da, patologia neuronal ohikoena Alzheimerraren atzetik. Jatorri multifaktoriala du, hau da, faktore ezberdinek sustatzen dute bere sorrera eta garapena, horien artean genetikoak egonik. Genetikan eman diren aurrerapauso guztiek gaixotasun hau sakon aztertzea ekarri dute. Gene ezberdinak aurkitu dira (SNCA, VPS35, LRRK2, Parkin, PINK1 eta DJ1) non mutazio ezberdinak eragiten dituzten. LRRK2 dardarina izeneko proteina bat kodetzen du, ROCO superfamiliaren barnean kokatzen dena. Domeinu ezberdinez osaturik dagoen proteina horrek, gune katalitiko nagusi bat du, kinasa eta GTPasa aktibitateak dituena. Gene honetan identifikatu diren mutazio nagusiek (G2019S, R1441G/H/C, I2012T, Y1699C, I2020T, eta N1437H) bi aktibitate horien aldaketa eragiten dute. Dardarinak funtzio zelular anitzetan parte hartzen du, ez bakarrik zelula mota espezifikoetan adierazteagatik, baita bere jardueraren erregulazio konplexu eta koordinatuagatik ere. Dimeru edo monomero moduan aurkitzen da zelulen gune ezberdinetan, konformazio aktiboa dimerikoa izanik.

Mutazioak agertzearen ondorio nagusia serina/treonina kinasa aktibitatearen handipena da. Aktibitatearen handipen honek mekanismo ezberdinen bidez α -sinukleina metatzea eta agregatzea eragiten du. Agregazio horiek pilatzean zuntzak eratzen dira, ondoren neurona

dopaminergikoen endekapena sortzen dute. Zuntz horietan egoten den α -sinukleina gehiena fosforilatuta egoten da eta dardarina serina/treonina kinasa izanik, G2019S mutazioak α -sinukleinarekin elkarreragiten duela iradoki da, hau fosforilatuz. Zeharka ere eragiten duela ikusi da, lisosometan, txaperoietan eta sinukleinarene zelula-zelula garraioan eraginez. *Heat shock* proteina izeneko txaperoiek, Hsp70 eta Hsp90, dardarina eta sinukleinarekin elkarrekiten dute eta neurona dopaminergikoen endekapena eta α -sinukleina agregazioa saihesten dituzte CMA bidez, baina mutazioak ematean, txaperoi horien inhibizioa gertatzen da, sistema hau bertan behera utziz. Sinukleinarene zelula-zelula transmisioaren ere dardarinak parte hartzen duela ikusi dugu lanean zehar, Rab izeneko proteinen bidez. Mutazioa jasan duen LRRK2-ren kinasa jardueraren handitzeak Rab35 fosforilatzea eragiten du, α -sinukleina agregatuen degradazio endosomal-lisosomala eragotziz. Horrez gain, exosometan zelulaz kanpoko espaziora askatzen dira α -sinukleina agregatuen haziak. Hazi horiek inguruko neuronen zitosolean amaitzen dute α -sinukleina monomeroen agregazioa sustatuz oligomero eta zuntzetan. Azkenik, behatu da G2019S mutazioan glukozerebrosidasa lisosomalaren (GCasa) jardueraren jeitsiera bat ematen dela, ondorioz, glikoesfingolipidoen metaketa gertatzen delarik. Horrek α -sinukleina oligomeroen sortzea eta egonkortzea eragiten du aldi berean. Horrez gain, dardarinak mitokondrio funtzioaren gain eragiten duela ere aztertu da. Estres oxidatiboa handituz, fusio eta fisioaren oreka aldatuz, edota mitofagian eta Ca^{2+} homeostasian eraginez, neurona dopaminergikoen endekapena sortzen du. Esan beharra dago, arlo honetan oraindik asko dagoela ikertzeko, izan ere, ezezaguna da mitokondrioan ematen diren asadura horiek kinasa aktibitateari edo GTPasa aktibitateari dagozkion.

Mekanismo guzti horien sustraia kinasa aktibitatearen igoera dela ikusirik, funtzio horren inhibizioa eragiten duten molekulen bila dabilta enpresa farmazeutiko ezberdinak; horien artean CZC 54252, CZC-25146 eta LRRK2-IN-1. Gaur egun oraindik merkatuan ez egon arren, etorkizunean tratamendu baliagarria izatera iritsi daiteke. Baliteke agian, genetikaren alorrean burutzen diren aurrerapenek, PG-ren diagnostiko goiztiarra posible egitea, eta farmako ezberdin horien bidez gaixotasunaren garapena guztiz inhibitzea. Egoera bikaina izango litzatekeen arren, oraindik lan eta ikerketa ugari egin beharko dira etorkizunean posible izan dadin PGren sendaketa.

5 BIBLIOGRAFIA

1. Tysnes O, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2017;124(8):901-905.
2. Saavedra Moreno JS, Millán PA, Buriticá Henao OF. Introducción, epidemiología y diagnóstico de la enfermedad de Parkinson. *Acta Neurológica Colombiana.* 2019;35(3 supl. 1):2-10.
3. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *The Lancet.* 2021;397
4. Dick FD, De Palma G, Ahmadi A, et al. Environmental risk factors for Parkinson's disease and parkinsonism: The geoparkinson study. *Occupational and environmental medicine* 2007;64(10):666-672.
5. Cerri S, Mus L, Blandini F. Parkinson's disease in women and men: What's the difference? *Journal of Parkinson's disease.* 2019;9(3):501-515.
6. Gorell JM, Peterson EL, Rybicki BA, Johnson CC. Multiple risk factors for Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences.* 2004;217(2):169-174.
7. Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease. *European journal of neurology.* 2020;27(1):27-42.
8. Jankovic J, Tan EK. Parkinson's disease: Etiopathogenesis and treatment. *Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry.* 2020;91(8):795-808.
9. Raza C, Anjum R, Shakeel NuA. Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies. *Life sciences (1973).* 2019;226:77-90.
10. Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: A review. *JAMA.*2020;323(6):548-560.
11. Postuma RB, Berg D, Stern M, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement disorders.* 2015;30(12):1591-1601.
12. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, et al. Parkinson disease. *Nature Reviews Disease Primers.* 2017;3(1):17013.

13. Burke RE, Dauer WT, Vonsattel JPG. A critical evaluation of the Braak staging scheme for Parkinson's disease. *Annals of neurology*. 2008;64(5):485-491.
14. O'Hara DM, Pawar G, Kalia SK, Kalia LV. LRRK2 and α -synuclein: Distinct or synergistic players in Parkinson's disease? *Frontiers in neuroscience*. 2020;14:577.
15. Surmeier DJ. Determinants of dopaminergic neuron loss in Parkinson's disease. *The FEBS journal*. 2018;285(19):3657-3668.
16. Mandel SA, Morelli M, Halperin I, Korczyn AD. Biomarkers for prediction and targeted prevention of Alzheimer's and Parkinson's diseases: Evaluation of drug clinical efficacy. *EPMA Journal*. 2010;1(2):273-292.
17. Axelsen TM, Woldbye DPD. Gene therapy for Parkinson's disease, An Update. *Journal of Parkinson's disease*. 2018;8(2):195-215.
18. Gandhi KR, Saadabadi A. Levodopa (L-dopa). *StatPearls*.
19. Church FC. Treatment options for motor and non-motor symptoms of Parkinson's disease. *Biomolecules* 2021;11(4):612.
20. Kim CY, Alcalay RN. Genetic forms of Parkinson's disease. *Semin Neurol*. 2017;37(02):135.
21. Cherian A, Divya KP. Genetics of Parkinson's disease. *Acta Neurol Belg*. 2020;120(6):1297-1305.
22. Sassone J, Reale C, Dati G, Regoni M, Pellicchia MT, Garavaglia B. The role of VPS35 in the pathobiology of Parkinson's disease. *Cell Mol Neurobiol*. 2020;41(2):199-227.
23. Panicker N, Ge P, Dawson VL, Dawson TM. The cell biology of Parkinson's disease. *Journal of Cell Biology*. 2021;220(4).
24. Wallings RL, Tansey MG. LRRK2 regulation of immune-pathways and inflammatory disease. *Biochemical Society transactions*. 2019;47(6):1581-1595.
25. Marchand A, Drouyer M, Sarchione A, Chartier-Harlin M, Taymans J. LRRK2 phosphorylation, more than an epiphenomenon. *Frontiers in neuroscience*. 2020;14:527.

26. Berwick DC, Heaton GR, Azeggagh S, Harvey K. LRRK2 biology from structure to dysfunction: Research progresses, but the themes remain the same. *Molecular neurodegeneration*. 2019;14(1):49.
27. Hardy J. Rideout. Leucine- rich repeat kinase 2 (LRRK2). .
28. Nixon-Abell J, Berwick DC, Grannó S, Spain VA, Blackstone C, Harvey K. Protective LRRK2 R1398H variant enhances GTPase and wnt signaling activity. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2016;9:18.
29. Chen X, Le W. LRRK2 G2019S mutation amplifies protein aggregate propagation. *Brain* 2021;144(5):1289-1290.
30. Pineda A, Burré J. Modulating membrane binding of α -synuclein as a therapeutic strategy. *Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS*. 2017;114(6):1223-1225.
31. Meade RM, Fairlie DP, Mason JM. Alpha-synuclein structure and Parkinson's disease -lessons and emerging principles. *Mol Neurodegeneration* 2019;29;14.
32. Longo F, Mercatelli D, Novello S, et al. Age-dependent dopamine transporter dysfunction and Serine129 phospho- α -synuclein overload in G2019S LRRK2 mice. *Acta Neuropathologica Communications*. 2017;5(1):22.
33. Friesen EL, De Snoo ML, Rajendran L, Kalia LV, Kalia SK. Chaperone-based therapies for disease modification in Parkinson's disease. *Parkinsons Disease*. 2017;2017:5015307-11.
34. Rivero-Ríos P, Romo-Lozano M, Fasiczka R, Naaldijk Y, Hilfiker S. LRRK2-related Parkinson's disease due to altered endolysosomal biology with variable lewy body pathology: A hypothesis. *Frontiers in neuroscience*. 2020;14:556.
35. Lim S, Kim H, Kim D, Lee S. Non-cell-autonomous actions of α -synuclein: Implications in glial synucleinopathies. *Progress in neurobiology*. 2018;169:158-171.
36. Angot E, Steiner JA, Lema Tomé CM, et al. Alpha-synuclein cell-to-cell transfer and seeding in grafted dopaminergic neurons *in vivo*. *PLoS One*. 2012;7(6):e39465.

37. Jeong GR, Jang E, Bae JR, et al. Dysregulated phosphorylation of rab GTPases by LRRK2 induces neurodegeneration. *Mol Neurodegeneration*. 2018;13(1). 0-1
38. Pfeffer SR. LRRK2 and rab GTPases. *Biochemical Society transactions*. 2018;46(6):1707-1712.
39. Seol W, Nam D, Son I. Rab GTPases as physiological substrates of LRRK2 kinase. *Exp Neurol*. 2019;28(2):134.
40. Madalynn L Erb, Darren J Moore. LRRK2 and the endolysosomal system in Parkinson's disease. *Journal of Parkinson's disease*. 2020;10(4):1271-1291.
41. Burbulla LF, Krainc D. The role of dopamine in the pathogenesis of GBA1-linked Parkinson's disease. *Neurobiology of disease*. 2019;132:104545.
42. Niu J, Yu M, Wang C, Xu Z. Leucine-rich repeat kinase 2 disturbs mitochondrial dynamics via dynamin-like protein. *Journal of neurochemistry*. 2012;122(3):650-658.
43. Singh A, Zhi L, Zhang H. LRRK2 and mitochondria: Recent advances and current views. *Brain research*. 2019;1702:96-104.
44. Angeles DC, Ho P, Chua LL, et al. Thiol peroxidases ameliorate LRRK2 mutant-induced mitochondrial and dopaminergic neuronal degeneration in drosophila. *Human molecular genetics*. 2014;23(12):3157-3165.
45. Wong YC, Ysselstein D, Krainc D. Mitochondria-lysosome contacts regulate mitochondrial fission via RAB7 GTP hydrolysis. *Nature*. 2018;554(7692):382-386.
46. Hsieh C, Shaltouki A, Gonzalez AE, et al. Functional impairment in miro degradation and mitophagy is a shared feature in familial and sporadic Parkinson's disease. *Cell stem cell*. 2016;19(6):709-724.
47. Surmeier DJ, Sanchez-Padilla J, Wokosin D, et al. Oxidant stress evoked by pacemaking in dopaminergic neurons is attenuated by DJ-1. *Nature*. 2010;468(7324):696-700.
48. Cherra SJ, Steer E, Gusdon AM, Kiselyov K, Chu CT. Mutant LRRK2 elicits calcium

imbalance and depletion of dendritic mitochondria in neurons. *The American Journal of Pathology*. 2013;182(2):474-484.

49. Tolosa E, Vila M, Klein C, Rascol O. LRRK2 in Parkinson disease: Challenges of clinical trials. *Nature Reviews Neurology*. 2020;16(2):97-107.

50. Cresto N, Gardier C, Gubinelli F, et al. The unlikely partnership between LRRK2 and α -synuclein in Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience*. 2019;49(3):339-363.

51. Li W, Zhou Y, Tang G, et al. Chemoproteomics reveals the antiproliferative potential of Parkinson's disease kinase inhibitor LRRK2-IN-1 by targeting PCNA protein. *Mol Pharmaceutics*. 2018;15(8):3252.

52. Lee BD, Dawson VL, Dawson TM. Leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) as a potential therapeutic target in Parkinson's disease. *Trends in pharmacological sciences (Regular ed.)*. 2012;33(7):365-373.

53. Atashrazm F, Dzamko N. LRRK2 inhibitors and their potential in the treatment of Parkinson's disease: Current perspectives. *Clinical Pharmacology : Advances and Applications*. 2016;8:177-189.

54. Luerman GC, Nguyen C, Samaroo H, et al. Phosphoproteomic evaluation of pharmacological inhibition of leucine-rich repeat kinase 2 reveals significant off-target effects of LRRK2-IN-1. *J Neurochem*. 2013;128(4):561.

55. Ramsden N, Perrin J, Ren Z, et al. Chemoproteomics-based design of potent LRRK2-selective lead compounds that attenuate Parkinson's disease-related toxicity in human neurons. *ACS chemical biology*. 2011;6(10):1021-1028.

56. Choi HG, Zhang J, Deng X, et al. Brain penetrant LRRK2 inhibitor. *ACS medicinal chemistry letters*. 2012;3(8):658-662.

57. Estrada AA, Chan BK, Baker-Glenn C, et al. Discovery of highly potent, selective, and brain-penetrant aminopyrazole leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) small molecule inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*. 2014;57(3):921-936.

58. Fell MJ, Mirescu C, Basu K, et al. MLi-2, a potent, selective, and centrally active compound for exploring the therapeutic potential and safety of LRRK2 kinase inhibition. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2015;355(3):397-409.
59. Ruiz-Martínez J, Gorostidi A, Ibañez B, et al. Penetrance in Parkinson's disease related to the LRRK2 R1441G mutation in the basque country (spain). *Movement disorders*. 2010;25(14):2340-2345.
60. Gorostidi A, Ruiz-Martínez J, Lopez de Munain A, Alzualde A, Martí Massó JF. LRRK2 G2019S and R1441G mutations associated with Parkinson's disease are common in the basque country, but relative prevalence is determined by ethnicity. *Neurogenetics*. 2008;10(2):157-159.