



Artículo original

Análisis de la mutación p.G2019S del gen LRRK2 en pacientes colombianos con enfermedad de Parkinson

Analysis of the LRRK2 p.G2019S mutation in Colombian Parkinson's Disease Patients

Andrés Felipe Duque¹, Juan Carlos Lopez^{1,2}, Bruno Benitez¹, Helena Hernandez¹, Juan José Yunis^{1,2}, William Fernandez^{1,3}, Humberto Arboleda^{1,4}, Gonzalo Arboleda^{1,2}.

¹ Grupo de Neurociencias. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

² Departamento de Patología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

³ Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

⁴ Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Duque AF, Lopez JC, Benitez B, Hernandez H, Yunis JJ, Fernandez W, Arboleda H, Arboleda G. Analysis of the LRRK2 p.G2019S mutation in Colombian Parkinson's Disease Patients. *Colomb Med.* 2015; 46(3): 117-121.

© 2015. Universidad del Valle. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution License, que permite el uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que el autor original y la fuente se acrediten

Historia:

Recibido: 04 abril 2014

Revisado: 02 mayo 2015

Aceptado: 21 septiembre 2015

Palabras clave:

Enfermedad de Parkinson; dardarin; LRRK2; mutación; G2019S; Colombia.

Keywords:

Parkinson's disease, dardarin, LRRK2, p.G2019S mutation, Colombia

Resumen

Introducción: Las mutaciones en el LRRK2 (del inglés gen leucine-rich repeat kinase 2) o Dardarina se consideran una causa común de enfermedad de Parkinson autosómica dominante. Sin embargo, la prevalencia de estas mutaciones varía en diferentes poblaciones.

Objetivo: Analizar la frecuencia de la mutación p.G2019S (transición c.6055 G>A) del gen LRRK2 en una muestra de pacientes colombianos.

Métodos: En el presente estudio analizamos la frecuencia de la mutación en 154 pacientes con enfermedad de Parkinson familiar o esporádica, y 162 controles normales.

Resultados: Se determinó la presencia de la mutación en 2 casos de Parkinson (2/154, 1.3%) los cuales presentan los signos clásicos de la enfermedad y en un control completamente asintomático (1/162, 0.6%).

Conclusión: La mutación p.G2019S no es un factor causal importante de la Enfermedad de Parkinson en la población Colombiana, y muestra frecuencias similares a las reportadas en otras poblaciones latinoamericanas.

Abstract

Introduction: Mutations in the leucine-rich repeat kinase 2 gene (LRRK2 or Dardarin) are considered to be a common cause of autosomal dominant and sporadic Parkinson's disease, but the prevalence of these mutations varies among populations.

Objective: To analyze the frequency of the LRRK2 p.G2019S mutation (c.6055G>A transition) in a sample of Colombian patients.

Methods: In the present study we have analyzed the frequency of the LRRK2 p.G2019S mutation in 154 patients with familial or sporadic Parkinson Disease, including early and late onset patients, and 162 normal controls.

Results: Our results show occurrence of this mutation in two cases (2/154, 1.3%) with classical Parkinson's signs, and one completely asymptomatic control (1/162, 0.6%).

Conclusion: The p.G2019S mutation is not an important causal factor of Parkinson Disease in Colombia having similar frequencies to those reported in other Latin American populations.

Autor de correspondencia:

Gonzalo Arboleda. Departamento de Patología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. Tel: +57 1 3165000 ext 11613; Fax: +57 1 3681517. Correo electrónico: gharboledab@unal.edu.co

Introducción

La enfermedad de Parkinson (EP) es el segundo desorden neurodegenerativo más común después de la enfermedad de Alzheimer (EA). La EP afecta a todos los grupos raciales y tiene una distribución uniforme alrededor del mundo^{1,2}. En Europa, la prevalencia de la EP es 1.6/100³, mientras en Colombia la prevalencia es de 4.7/1,000⁴.

Las características predominantes de la EP es el enteltecimiento progresivo del movimiento (bradiquinesia). Los pacientes inicialmente presentan temblor de reposo, dificultad en la iniciación de los movimientos en ausencia de parálisis (akinesia), y rigidez muscular, finalmente conduce a una estabilidad postural⁵. Un subgrupo de pacientes también desarrolla demencia^{6,7}. Las principales características patológicas de la EP son la pérdida progresiva y selectiva de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia Nigra, zona compacta del cerebro medio, degeneración del sistema nigrostriatal y la presencia de cuerpos de Lewy⁸.

La contribución de factores genéticos al desarrollo de la EP ha sido pobremente estimada por muchos años, aunque el 15% de los casos tienen una historia familiar de la enfermedad⁹. Con la reciente descripción de mutaciones en varios genes asociados a casos familiares autosómico dominantes y recesivos de inicio temprano de la enfermedad, se ha sugerido que la EP tiene una fuerte base genética^{10,11}. Sin embargo, la amplitud de la contribución genética y la interacción entre factores ambientales y genéticos permanece sin esclarecerse¹².

A la fecha, las mutaciones en varios genes se han asociado con la EP: PARK 1 a PARK 15. Algunas de estas mutaciones están asociadas a casos familiares autosómico dominantes (PARK 1/4: *alpha-synucleina*, PARK 8: *LRRK2*) o recesivos (PARK 2: *Parkina*, PARK 6: *DJ-1* y PARK 7: *PINK1*, PARK 13: *ATP13A2*) de la EP^{10,13,14}.

Recientemente, diversos estudios en varias poblaciones han identificado mutaciones en el gen leucine-rich repeat kinase 2 (PARK 8: *LRRK2* o Dardarina) en casos autosómico dominantes y esporádicos de la EP^{15,16}. Mutaciones en *LRRK2* causan EP en diferentes poblaciones y su prevalencia en casos familiares y esporádicos varía entre estos grupos^{17,18}. Estudios de la frecuencia de las mutaciones en *LRRK2* en poblaciones Latino Americanas son escasos. En Brasil, la prevalencia de la mutación p.G2019S en *LRRK2* es cercana al 2%, siendo más prevalente entre casos de EP familiares que en casos esporádicos (8.7% vs 0.76%)¹⁹. En la población chilena la prevalencia de esta mutación es cercana al 3%²⁰.

En el presente artículo hemos analizado la prevalencia de la mutación p.G2019S en *LRRK2* en una muestra de casos de EP no relacionados, de origen Caucásico-mestizo de Colombia.

Materiales y Métodos

Analizamos la frecuencia de la mutación p.G2019S (c.6055G>A transición) en un estudio de casos y controles de 154 pacientes con EP y 162 controles. Los casos de EP fueron 92 hombre y 62 mujeres (edad promedio: 59.53 años; DE: 15.01); los controles

fueron 60 hombres y 102 mujeres (edad promedio: 74.89 años; DE: 12.33). Veintiocho pacientes tuvieron EP de inicio temprano (menores de 40 años: edad promedio de inicio: 29.39 años; DE: 7.76). De inicio tardío de EP fueron 126 pacientes (edad promedio de inicio: 58.17 años; DE: 10.52), los casos esporádicos fueron 130 casos (edad promedio de inicio: 53.41 años; DE: 14.84) y 24 casos familiares (edad promedio de inicio: 48.70 años; DE: 16.61).

Tanto los pacientes como los controles fueron analizados por un grupo interdisciplinario en la Clínica de Movimientos Anormales de la Universidad Nacional de Colombia entre 2005-2014. El diagnóstico se realizó siguiendo los criterios del United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank (UK PDSBB)²¹. Los controles estuvieron libres de cualquier alteración motora o cognitiva y no tenían historia familiar de la enfermedad. El protocolo fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia y tanto pacientes como controles firmaron un consentimiento informado autorizando su participación en este estudio.

EL ADN fue extraído a partir de sangre periférica utilizando el kit de aislamiento Wizard Genomics DNA (Promega Corporation, Madison WI). Las mutaciones en *LRRK2* fue genotipificado siguiendo la metodología descrita por Nichols¹⁶. El ADN genómico fue amplificado usando los *primers forward* (5'-TTTTGATGCTTGACATAGTGGAC-3') y *reverse* (5'-CACATCTGAGGTCAGTGGTTATC-3'), en una reacción de amplificación con 50 ng de ADN, 25 pmol de cada primer, 250 µM de cada dNTP, 1.5 mM de MgCl₂, 2.5 µL de buffer de reacción 10X y 1U de Taq polimerasa, en un volumen final de 25 µL. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: un paso inicial de desnaturalización a 94° C por 5 min seguido por 35 ciclos de 94° C por 30 s, 60° C por 30 s, 72° C por 45 s, y una extensión final de 10 min a 72° C. Los productos de PCR fueron sujetos a digestión y análisis por la endonucleasa de restricción *Sfc1* (New England BioLabs, USA), resueltos en electroforesis en gel de agarosa al 70% NuSieve y 30% SeaKeam agarose y visualizado con bromuro de etidio bajo la luz ultravioleta. Los fragmentos de amplificación fueron de 228 y 101 bp para los no mutados, y 228, 207, 101 y 21 bp para los mutados heterocigotos. El secuenciamiento del ADN se realizó usando BigDye terminator siguiendo las recomendaciones del fabricante y analizado en el secuenciador automático ABI-

Tabla 1. Características clínicas de los casos positivos para la mutación G2019S en *LRRK2*.

Características	Paciente 1	Paciente 2	Control
Sexo	Femenino	Masculino	Masculino
Origen Étnico	CM	CM	CM
Historia Familiar	no	si*	no
Edad al examen (años)	79	67	77
Edad al inicio (años)	71	60	n/a
Bradiquinesia	si	si	no
Temblor de reposo	si	no	no
Rigidez	si	si	no
Inestabilidad Postural	si	si	no
Asimetría al inicio	si	si	no
Distonía	no	no	no
Alteraciones Comportamiento	no	no	no
Respuesta a L-DOPA	si	si	n/a
Decline Cognitivo	no	no	no
Disquinesia inducida por L-DOPA	si	si	n/a

CM= Caucásico mestizo

*Madre y medio hermano afectado

n/a= No Aplicable

PRISM 3500 (Applied Biosystems, USA). el software NovoSNP se usó para el análisis de las mutaciones.

Resultados

La frecuencia de la mutación p.G2019S en *LRRK2* fue del 1.3% en pacientes (2/154) y 0.6% en controles (1/162) ($p=0.9777$). Los dos casos con mutación p.G2019S en *LRRK2* fueron heterocigotos para la mutación y exhibieron los signos clásicos de EP (Tabla 1). Ambos tenían Buena respuesta a L-Dopa y experimentaron disquinesias inducidas por L-Dopa. El control con la mutación p.G2019S en *LRRK2* no presentó ni alteraciones motoras ni

cognitivas a los 77 años, y no tiene historia familiar de EP.

El estudio familiar de uno de los casos positivos para la mutación p.G2019S en *LRRK2* (sin historia familiar para la enfermedad) reveló la presencia de la mutación en 3 de 4 de sus descendientes, ninguno de los cuales ha sido afectado con la enfermedad. Sin embargo, debe considerarse que se ha descrito una penetrancia de la mutación dependiente de la edad de p.G2019S en *LRRK2*. El mayor de ellos tenía 42 años al momento del examen y los otros, un hombre de 40 años, una mujer de 39 años, y el menor de 36 años. Todos ellos son heterocigotos (Figs. 1A y 2). La familia del otro paciente positivo para la mutación p.G2019S en *LRRK2*, quien tiene historia familiar para la EP, se rehusó a participar en el estudio (Fig. 1B). El control positivo para la mutación no tiene descendientes ni hermanos.

Aunque la mutación pG2019S en *LRRK2* es un factor infrecuente causal para la EP en Colombia, se observa una tendencia al incremento en el riesgo (OR= 2.118, CI 95%= 0.190-23.616), que es de poco poder para considerarlo significativo.

Discusión

La etiología de la EP es compleja y no ha sido totalmente clarificada^{10,13}. Las mutaciones en *LRRK2* han sido descritas en diversas poblaciones, con variaciones en su frecuencia. La mutación más frecuente en *LRRK2* es la p.G2019S. La frecuencia de esta mutación es alta en norte Africanos (41%)¹⁸, seguido por los Judíos Askenazi (18.3%)²²; en Europa y Norte América es cercana al 0.8-6%^{23;24;25}, mientras que es menor entre Latino Americanos^{19,20,26} y ausente en Asiáticos²⁷ (Tabla 2). La mas probable explicación de las diferencias observadas en la frecuencia es la base genética de cada muestra, siendo Latino América y Colombia en particular, una población altamente mezclada²⁸, que define su susceptibilidad específica al desarrollo de la enfermedad. De hecho, la mutación ha sido analizada en diferentes poblaciones y los hallazgos sugieren la posibilidad de un ancestro común para esta mutación, considerándose un patrón de evolución demográfico y geográfico²⁹.

La frecuencia de la mutación p.G2019S en *LRRK2* en la población Colombiana es una de las menores observadas entre las poblaciones Latino Americanas y una de las menores en el mundo. Reportes en Perú, Chile y Brasil han descrito frecuencias de esta mutación entre 0.4-3.5%^{19,20,30}, y mayores en Argentina y Uruguay (4-5%)^{30,31}.

Tabla 2. Frecuencia de la mutación G2019S en *LRRK2* en diversas poblaciones alrededor del mundo.

Población	Frecuencia p.G2019S (%)	Referencia
Chile	5/166 (3.0)	Perez-Pastene <i>et al.</i> ²⁰
Brasil	3/154 (2.0)	Pimentel <i>et al.</i> ¹⁹
Brasil	3/83 (3.5)	Munhoz <i>et al.</i> ²⁶
España	16/302 (5.3)	Gaig <i>et al.</i> ³¹
España	8/105 (7.6)	Infante <i>et al.</i> ³²
España	5/225 (2.7)	Mata <i>et al.</i> ³³
Italia	5/513 (0.8)	De Rosa <i>et al.</i> ²⁵
Uruguay y Peru	Uruguay 5/125 (4); Perú 1/240 (0.4)	Mata <i>et al.</i> ²⁹
Argentina	3/55 (5.45)	Gatto <i>et al.</i> ³⁰
Norte África	4/17 (41.0)	Lesage <i>et al.</i> ¹⁸
Judios Azkenazi	22/120 (18.3)	Ozelius <i>et al.</i> ²²
Asia	0/675 (0.0)	Tan <i>et al.</i> ²⁷
Colombia	2/154 (1.3)	Presente estudio

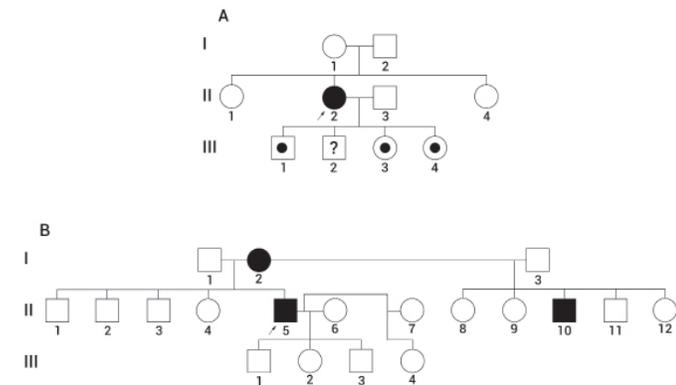


Figura 1. Pedigrí de los pacientes positivos para la mutación pG2019S en *LRRK2*. A. Pedigrí de paciente femenina en la que no se reportó historia familiar. Se encontró una mujer afectada (Generación II, individuo 2). B. Pedigrí de un paciente masculino con historia familiar de EP. Se observan múltiples individuos afectados (Generación I, individuo 2; Generación II, individuo 5 y 10). Cuadrado o círculo vacío: Hombre o mujer no afectado; Cuadrado o círculo lleno: Hombre o mujer afectado; punto dentro de cuadrado o círculo: portador asintomático. Los pedigrí fueron realizados utilizando el software Pelican.

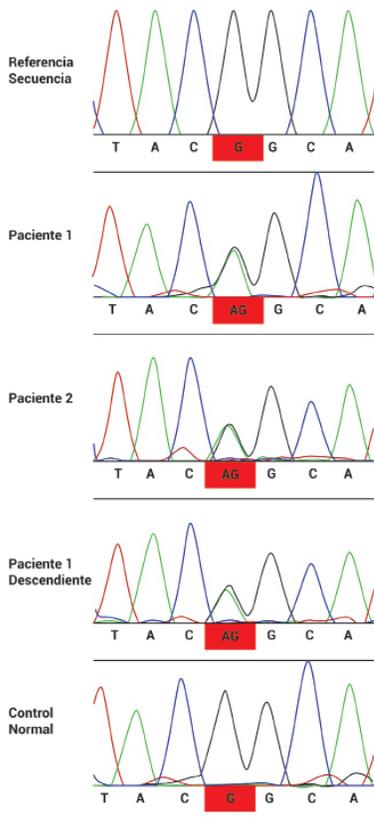


Figura 2. Secuencias del gen *LRRK2* que confirma la mutación pG.2019S en *LRRK2* pG.2019S en pacientes 1 y 2, y descendientes del paciente 1 (Sólo se muestra uno de ellos, pero la mutación estaba presente en 3 de 4 descendientes).

Sin embargo, las pequeñas diferencias observadas en la frecuencia de esta mutación entre el presente estudio y otras poblaciones Latino Americanas y Europeas podría estar más asociadas a característica metodológica, como el tamaño y la composición de las muestras analizadas (numero de casos familiares y esporádicos en cada estudio).

Las características clínicas de los casos positivos para la mutación p.G2019S en *LRRK2* no difieren de otros casos de EP, lo que coincide con el fenotipo descrito previamente para portadores de la mutación en otras poblaciones^{15,32,33,34}. El control positivo para la mutación es completamente asintomático a los 77 años.

No se hallaron ni signos motores, ni cognitivos, ni otros cambios neurológicos. Esto puede explicarse por un proceso de penetrancia incompleta de la mutación, como se ha descrito previamente para los portadores de la mutación pG2019S en *LRRK2* por encima de los 70 años de edad^{15,32}.

Conclusión

Nuestros resultados demuestran que la mutación p.G2019S en *LRRK2* es una causa infrecuente de la EP en la presente muestra, con frecuencias similares a otras poblaciones Latino Americanas.

Conflicto de interés:

Autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

Agradecimientos:

Este trabajo fue financiado por la DIB (822002) Universidad Nacional de Colombia, COLCIENCIAS (1101-04-10161) y Banco de la República (No 1.762).

Referencias

1. Khandhar SM, Marks WJ. Epidemiology of Parkinson's disease. *Dis Mon.* 2007; 53(4): 200–5.
2. Zhang ZX, Roman GC. Worldwide occurrence of Parkinson's disease: an updated review. *Neuroepidemiology.* 1993; 12(4): 195–208.
3. de Rijk MC, Tzourio C, Breteler MM, Dartigues JF, Amaducci L, Lopez-Pousa S, *et al.* Prevalence of parkinsonism and Parkinson's disease in Europe: the EUROPARKINSON Collaborative Study. European community concerted action on the epidemiology of Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1997; 62(1): 10–5.
4. Pradilla AG, Vesga ABE, León-Sarmiento FE, grupo GENECO Estudio neuroepidemiológico nacional (EPINEURO) colombiano. *Pan Am J Public Health.* 2003; 14(2): 104–11.
5. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008; 79(4): 368–76.
6. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1992; 55(3): 181–4.

7. Vermersch P, Delacourte A, Javoy-Agid F, Hauw JJ, Agid Y. Dementia in Parkinson's disease: biochemical evidence for cortical involvement using the immunodetection of abnormal Tau proteins. *Ann Neurol.* 1993; 33(5): 445–50.
8. Jellinger KA. Recent developments in the pathology of Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl.* 2002; (62): 347–76.
9. Elbaz A, Grigoletto F, Baldereschi M, Breteler MM, Manubens-Bertran JM, Lopez-Pousa S, *et al.* Familial aggregation of Parkinson's disease: a population-based case-control study in Europe. EUROPARKINSON Study Group. *Neurology.* 1999; 52(9): 1876–82.
10. Dawson TM, Dawson VL. Molecular pathways of neurodegeneration in Parkinson's disease. *Science.* 2003; 302(5646): 819–22.
11. Zhang Y, Dawson VL, Dawson TM. Oxidative stress and genetics in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2000; 7(4): 240–50.
12. Riess O, Kruger R. Parkinson's disease--a multifactorial neurodegenerative disorder. *J Neural Transm Suppl.* 1999; 56: 113–25.
13. Douglas MR, Lewthwaite AJ, Nicholl DJ. Genetics of Parkinson's disease and parkinsonism. *Expert Rev Neurother.* 2007; 7(6): 657–66.
14. Piccini P, Burn DJ, Ceravolo R, Maraganore D, Brooks DJ. The role of inheritance in sporadic Parkinson's disease: evidence from a longitudinal study of dopaminergic function in twins. *Ann Neurol.* 1999; 45(5): 577–82.
15. Healy DG, Falchi M, O'Sullivan SS, Bonifati V, Durr A, Bressman S, *et al.* Phenotype, genotype, and worldwide genetic penetrance of LRRK2-associated Parkinson's disease: a case-control study. *Lancet Neurol.* 2008; 7(7): 583–90.
16. Nichols WC, Pankratz N, Hernandez D, Paisan-Ruiz C, Jain S, Halter CA, *et al.* Genetic screening for a single common LRRK2 mutation in familial Parkinson's disease. *Lancet.* 2005; 365(9457): 410–2.
17. Ishihara L, Gibson RA, Warren L, Amouri R, Lyons K, Wielinski C, *et al.* Screening for Lrrk2 G2019S and clinical comparison of Tunisian and North American Caucasian Parkinson's disease families. *Mov Disord.* 2007; 22(1): 55–61.
18. Lesage S, Ibanez P, Lohmann E, Pollak P, Tison F, Tazir M, *et al.* G2019S LRRK2 mutation in French and North African families with Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2005; 58(5): 784–7.
19. Pimentel MM, Moura KC, Abdalla CB, Pereira JS, de Rosso AL, Nicaretta DH, *et al.* A study of LRRK2 mutations and Parkinson's disease in Brazil. *Neurosci Lett.* 2008; 433(1): 17–21.
20. Perez-Pastene C, Cobb SA, *et al.* az-Grez FHulihan MM.Miranda M.Venegas P Lrrk2 mutations in South America: A study of Chilean Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2007; 422(3): 193–7.

21. Daniel SE, Lees AJ. Parkinson's Disease Society Brain Bank, London: overview and research. *J Neural Transm Suppl.* 1993; 39: 165–72.
22. Ozelius LJ, Senthil G, Saunders-Pullman R, Ohmann E, Deligtisch A, Tagliati M, *et al.* LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med.* 2006; 354(4): 424–5.
23. Kachergus J, Mata IF, Hulihan M, Taylor JP, Lincoln S, Aasly J, *et al.* Identification of a novel LRRK2 mutation linked to autosomal dominant parkinsonism: evidence of a common founder across European populations. *Am J Hum Genet.* 2005; 76(4): 672–80.
24. Kay DM, Zabetian CP, Factor SA, Nutt JG, Samii A, Griffith A, *et al.* Parkinson's disease and LRRK2: frequency of a common mutation in U.S. movement disorder clinics. *Mov Disord.* 2006; 21(4): 519–23.
25. De Rosa A, De Michele G, Guacci A, Carbone R, Lieto M, Peluso S, *et al.* Genetic screening for the LRRK2 R1441C and G2019S mutations in Parkinsonian patients from campania. *J Parkinsons Dis.* 2014; 4(1): 123–8.
26. Munhoz RP, Wakutani Y, Marras C, Teive HA, Raskin S, Werneck LC, *et al.* The G2019S LRRK2 mutation in Brazilian patients with Parkinson's disease: phenotype in monozygotic twins. *Mov Disord.* 2008; 23(2): 290–4.
27. Tan EK, Shen H, Tan LC, Farrer M, Yew K, Chua E, *et al.* The G2019S LRRK2 mutation is uncommon in an Asian cohort of Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett.* 2005; 384(3): 327–9.
28. Ruiz-Linares A, Adhikari K, Acuña-Alonzo V, Quinto-Sanchez M, Jaramillo C, Arias W, *et al.* Admixture in Latin America: geographic structure, phenotypic diversity and self-perception of ancestry based on 7,342 individuals. *PLoS Genet.* 2014; 10(9): e1004572.
29. Zabetian CP, Hutter CM, Yearout D, Lopez AN, Factor SA, Griffith A, *et al.* LRRK2 G2019S in families with Parkinson disease who originated from Europe and the Middle East: evidence of two distinct founding events beginning two millennia ago. *Am J Hum Genet.* 2006; 79(4): 752–8.
30. Mata IF, Cosentino C, Marca V, Torres L, Mazzetti P, Ortega O, *et al.* LRRK2 mutations in patients with Parkinson's disease from Peru and Uruguay. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009; 15(5): 370–3.
31. Gatto EM, Parisi V, Converso DP, Poderoso JJ, Carreras MC, Martí-Massó JF, *et al.* The LRRK2 G2019S mutation in a series of Argentinean patients with Parkinson's disease: clinical and demographic characteristics. *Neurosci Lett.* 2013; 537: 1–5.
32. Gaig C, Ezquerra M, Martí MJ, Muñoz E, Valldeoriola F, Tolosa E. LRRK2 mutations in Spanish patients with Parkinson disease: frequency, clinical features, and incomplete penetrance. *Arch Neurol.* 2006; 63(3): 377–82.
33. Infante J, Rodríguez E, Combarros O, Mateo I, Fontalba A, Pascual J, *et al.* LRRK2 G2019S is a common mutation in Spanish patients with late-onset Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2006; 395(3): 224–6.
34. Mata IF, Ross OA, Kachergus J, Huerta C, Ribacoba R, Moris G, *et al.* LRRK2 mutations are a common cause of Parkinson's disease in Spain. *Eur J Neurol.* 2006;13(4):391–394. [PubMed] 1. Khandhar SM, Marks WJ. Epidemiology of Parkinson's disease. *Dis Mon.* 2007; 53(4): 200–5.