

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI TRONG XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN GEN Ở BỆNH NHÂN PARKINSON

Trần Tín Nghĩa^{1,2}, Trần Huy Thịnh¹, Nguyễn Hoàng Việt¹

Phạm Lê Anh Tuấn¹ và Trần Văn Khánh^{1,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

Bệnh Parkinson là một rối loạn gây ra bởi nhiều yếu tố, gồm cả di truyền và môi trường, đồng thời chính những yếu tố này cũng quyết định thời gian khởi phát bệnh cũng như tiến triển của nó. Bệnh Parkinson ảnh hưởng chủ yếu tới hệ thần kinh vận động, do sự thoái hóa dài hạn của hệ thần kinh trung ương. Sự phát triển của các kỹ thuật sinh học phân tử đã chứng minh được rằng yếu tố di truyền đóng vai trò quan trọng trong tiến trình của bệnh Parkinson. Nghiên cứu này ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen thể hệ mới trong xác định đột biến gen ở bệnh nhân Parkinson. DNA tách từ máu ngoại vi của 40 bệnh nhân Parkinson được giải trình tự toàn bộ vùng gen mã hóa bằng kỹ thuật giải trình tự gen thể hệ mới (NGS), và phân tích kết quả trên các phần mềm chuyên dụng. Kết quả phát hiện 29/40 bệnh nhân có đột biến gen chiếm 72,5%. Trong đó, ghi nhận 42 dạng đột biến khác nhau trên 16 gen đã được chứng minh có ảnh hưởng tới bệnh Parkinson.

Từ khóa: Parkinson, NGS, đột biến gen.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Parkinson (PD) ảnh hưởng chủ yếu tới hệ thần kinh vận động, do sự thoái hóa dài hạn của hệ thần kinh trung ương. Cơ chế bệnh học điển hình của bệnh là sự mất chức năng hệ ubiquitin-proteasome, sự tăng vượt mức của các quá trình oxi hóa, sự rối loạn điều tiết vận chuyển protein và các thương tổn trong ty thể.¹ Sự kết hợp của nhiều cơ chế bệnh sinh khác nhau cuối cùng dẫn tới sự sụp đổ của các hoạt động tế bào quan trọng. Tuy nhiên, chính bởi nhiều yếu tố ảnh hưởng cũng như cơ chế khác nhau như vậy, Shulman (2011) ước tính chỉ khoảng 5 - 10% bệnh nhân PD mang các kiểu hình bệnh điển hình được ghi chép cụ thể trong y văn.²

Việc hoàn thành bản đồ gen của con người

cũng đã cung cấp nhiều công cụ như: trình tự gen của con người, bản đồ các biến dị di truyền và tiếp tục phát triển các công nghệ giúp đơn giản hóa việc phân tích các biến thể di truyền. Các công cụ này cho phép các nhà nghiên cứu tìm kiếm và xác định vai trò của yếu tố di truyền trong việc khởi phát bệnh, trong đó bệnh Parkinson. Cho đến nay, đã phát hiện được 27 gen liên quan tới Parkinson, có một số gen được gọi là PARK loci, bởi chúng được phát hiện có mối tương quan mật thiết tới các cơ chế gây bệnh. Đột biến trên những gen PARK loci này có thể gây thể bệnh di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường (AD: autosomal dominant) như gen PARK1 (a-Synuclein - SNCA), PARK8 (Leucine-Rich Repeat Kinase 2 - LRRK2), PARK17 (Vacuolar Protein Sorting 35 - VPS35) hay thể di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường (AR: autosomal recessive) như gen PARK2 (Parkin), PARK7 (DJ-1), PARK6 (Phosphatase và Tensin Homologue - giảm Kinase 1 - PINK1), ATP13A2 (ATPase type 13A2).^{3,4}

Tác giả liên hệ: Trần Văn Khánh

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: tranvankhanh@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 01/02/2023

Ngày được chấp nhận: 20/02/2023

Giải trình tự Sanger là phương pháp thường được sử dụng để phát hiện đột biến gen, tuy nhiên mỗi phản ứng chỉ giải được trình tự của một mảnh DNA, làm giới hạn tổng lượng trình tự được giải (với bệnh lý liên quan nhiều gen như Parkinson thì sử dụng giải trình tự Sanger sẽ tốn chi phí rất lớn), không thể phát hiện đột biến thêm hoặc mất đoạn lớn (indel). Việc ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (Next Generation Sequencing-NGS) cho phép giải trình tự đồng thời hàng triệu mảnh DNA trong một phản ứng, giúp phân tích kết quả nhanh chóng, chính xác, với chi phí giảm thấp hơn.⁵

Do đó, đề tài nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới trong xác định đột biến gen ở bệnh nhân Parkinson.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Tiêu chuẩn chọn

Lựa chọn 40 bệnh nhân được chẩn đoán xác định mắc bệnh Parkinson theo tiêu chuẩn của Ngân hàng não Hội Parkinson Vương quốc Anh (United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank) tại Bệnh viện Lão khoa Trung ương, Bệnh viện Bạch Mai, hồ sơ bệnh án cung cấp đầy đủ thông tin.

Tiêu chuẩn loại trừ

Bệnh nhân có bệnh tâm thần kèm theo, đang điều trị bằng thuốc an thần, suy giáp...

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm Nghiên cứu Gen - Protein Trường Đại học Y Hà Nội, Bệnh viện Lão khoa Trung ương và Bệnh viện Bạch Mai.

Thời gian nghiên cứu: 01/2022 - 09/2022.

Một số quy trình kỹ thuật thực hiện

- Kỹ thuật tách chiết DNA: DNA tổng số được tách chiết từ mẫu máu toàn phần của

bệnh nhân Parkinson bằng kit QIAamp DNA mini Kit. Các đối tượng nghiên cứu được lấy 2ml máu tĩnh mạch vào trong ống đựng máu vô trùng có chứa chất chống đông EDTA 1,5 mg/mL, mẫu đạt tiêu chuẩn OD280/OD260 \geq 1,8 được sử dụng tạo thư viện để phân tích gen.

- Khởi tạo thư viện và kiểm tra chất lượng thư viện: chuẩn bị cho giải trình tự bằng bộ kit Illumina DNA Prep (Illumina, Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Giải trình tự: toàn bộ vùng mã hóa bằng máy giải trình tự thế hệ mới NextSeq550Dx (Illumina, Mỹ), sử dụng bộ kit NexSeq 500TM High Output kit (Illumina, Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Phân tích kết quả: cắt bỏ (trimming) một phần đoạn trình tự dựa vào chỉ tiêu chất lượng (dưới 20) hay độ dài cần thiết; loại bỏ adapter còn sót lại trong dữ liệu bằng cách sử dụng công cụ FastXtoolkit. Gắn hàng (Alignment) dữ liệu với hệ gen tham chiếu hg19 bằng công cụ BWA Burrows-Wheeler Aligner. Sắp xếp đoạn trình tự xung quanh indel, chuẩn hóa lại nucleotide, chuẩn hóa lại nucleotide (phát hiện lỗi hệ thống trong điểm chất lượng của nucleotide), gọi tên biến thể và lọc biến thể bằng công cụ GATK. Phân chia các biến thể thành các nhóm theo mức độ ảnh hưởng chức năng của biến thể sử dụng phần mềm SnpEff, đồng thời chú thích và dự báo ảnh hưởng của các biến thể gen.

3. Đạo đức nghiên cứu

Đề tài đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học, Trường Đại học Y Hà Nội, mã số IRB-VN01.001/IRB00003121/FWA 00004148 chấp thuận, số quyết định 665/GCN-HĐĐĐNCYSH-ĐHYHN. Bệnh nhân tham gia nghiên cứu được thông báo các thông tin liên quan đến tình trạng sức khỏe của mình. Mọi thông tin của cá nhân được mã hóa và giữ bảo mật an toàn. Thu thập số liệu được tiến hành một cách trung thực, chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu của chúng tôi gồm 40

bệnh nhân được chẩn đoán mắc Parkinson không phân biệt về giới tính, tuổi tác và các giai đoạn bệnh khác nhau. Thông tin các đặc điểm này được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm về tuổi và giới của nhóm đối tượng nghiên cứu

Nhóm tuổi	Nam		Nữ		Tổng số	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
< 60	18	81,82	15	83,33	33	82,5
≥ 60	4	18,18	3	16,67	7	17,5
Tổng	22	100	18	100	40	100
Tuổi trung bình: 53,33 ± 6,68						
Tỷ lệ nam/nữ = 1,22						

Tỷ lệ bệnh nhân Parkinson cao nhất ở nhóm tuổi < 60 tuổi (82,5%), còn nhóm tuổi ≥ 60 tuổi chiếm tỷ lệ (17,5%). Tuổi trung bình mắc bệnh là 53,33 ± 6,68 tuổi. Tuổi nhỏ nhất là 39 tuổi, tuổi cao nhất mắc bệnh là 66 tuổi. Tỷ lệ nam/nữ = 1,22.

2. Kết quả xác định đột biến gen ở bệnh nhân Parkinson bằng kỹ thuật giải trình tự

gen thể hệ mới

Trình tự toàn bộ vùng mã hóa gen của 40 bệnh nhân Parkinson được phân tích và tìm kiếm biến đổi. Nghiên cứu của chúng tôi đã xác định được 50 đột biến trên 16 gen ở 29 bệnh nhân Parkinson. Các đặc điểm khác của đột biến gen phát hiện trong nghiên cứu được lần lượt trình bày từ Bảng 2 đến Bảng 4.

Bảng 2. Kết quả xác định đột biến gen ở bệnh nhân Parkinson

Kết quả xác định đột biến		n	Tỷ lệ (%)
Không có đột biến		11	27,5
Có đột biến		29	72,5
1	Có 1 đột biến	16	40,0
2	Có 2 đột biến	6	15,0
3	Có 3 đột biến	6	15,0
4	Có 4 đột biến	1	2,5
Tổng số		40	100

Trong 40 bệnh nhân Parkinson được nghiên cứu phân tích trình tự toàn vùng mã hóa gen, 29 bệnh nhân có đột biến gen chiếm 72,5% và

tỷ lệ bệnh nhân mang 1 đột biến gen chiếm tỷ lệ cao nhất trong nhóm có đột biến gen chiếm 40,0%.

Bảng 3. Thông tin các gen đột biến được tìm thấy ở bệnh nhân Parkinson

STT	Gen	Số dạng đột biến	Tỷ lệ (%)	Dạng đột biến	Kiểu di truyền	Số bệnh nhân mang đột biến	Tỷ lệ (%)
1	<i>GBA</i>	6	14,29	Dị hợp tử	Trội	9	18,00
2	<i>EIF4G1</i>	8	19,05	Dị hợp tử	Trội	8	16,00
3	<i>PARK2</i>	6	14,29	Dị hợp tử	Lặn	8	16,00
4	<i>VPS13C</i>	5	11,9	Dị hợp tử	Lặn	6	12,00
5	<i>GIGYF2</i>	4	9,52	Dị hợp tử	Trội	5	10,00
6	<i>LRRK2</i>	2	4,76	Dị hợp tử	Trội	3	6,00
7	<i>PINK1</i>	2	4,76	Dị hợp tử	Lặn	2	4,00
8	<i>ATXN2</i>	1	2,38	Dị hợp tử	Trội	1	2,00
9	<i>DNAJC6</i>	1	2,38	Dị hợp tử	Lặn	1	2,00
10	<i>FBXO7</i>	1	2,38	Dị hợp tử	Lặn	1	2,00
11	<i>MAPT</i>	1	2,38	Dị hợp tử	Trội	1	2,00
12	<i>SLC18A2</i>	1	2,38	Dị hợp tử	Lặn	1	2,00
13	<i>SNCA</i>	1	2,38	Dị hợp tử	Trội	1	2,00
14	<i>TBP</i>	1	2,38	Dị hợp tử	Trội	1	2,00
15	<i>TRPM7</i>	1	2,38	Dị hợp tử	Lặn	1	2,00
16	<i>PARK7</i>	1	2,38	Dị hợp tử	Lặn	1	2,00
Tổng cộng		42	100			50	100

Tổng hợp nghiên cứu đã ghi nhận 42 dạng đột biến khác nhau trên 16 gen ở 29 bệnh nhân Parkinson. Trong đó, đột biến trên gen *GBA* chiếm tỷ lệ cao nhất 9/29 (chiếm 31,03%) bệnh nhân có mang đột biến gen với 6 dạng đột biến

khác nhau được xác định. Đột biến trên gen *EIF4G1* chiếm 8/29 (chiếm 27,59%) bệnh nhân có mang đột biến gen với 8 dạng đột biến khác nhau được xác định.

Bảng 4. Các dạng đột biến gen được tìm thấy ở bệnh nhân Parkinson

STT	Dạng đột biến gen	Thay thế 1 nucleotit	Mất 1 nucleotit	Mất đoạn	Thêm đoạn	Tổng cộng
1	<i>EIF4G1</i>	8				8
2	<i>GBA</i>	6				6
3	<i>PARK2</i>	2		4		6

STT	Dạng đột biến gen	Thay thế 1 nucleotit	Mất 1 nucleotit	Mất đoạn	Thêm đoạn	Tổng cộng
4	<i>VPS13C</i>	5				5
5	<i>GIGYF2</i>	2		1	1	4
6	<i>LRRK2</i>	1	1			2
7	<i>PINK1</i>	2				2
8	<i>DNAJC6</i>	1				1
9	<i>TRPM7</i>	1				1
10	<i>ATXN2</i>	1				1
11	<i>FBXO7</i>	1				1
12	<i>MAPT</i>	1				1
13	<i>PARK7</i>	1				1
14	<i>SLC18A2</i>	1				1
15	<i>SNCA</i>	1				1
16	<i>TBP</i>	1				1
Tổng cộng		35	1	5	1	42

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận 4 kiểu đột biến ở 42 dạng đột biến được tìm thấy. Trong đó, đột biến kiểu thay thế 1 nucleotit chiếm tỷ lệ cao nhất 35/42 (chiếm 83,33%) các dạng đột biến được ghi nhận, kể đến là mất đoạn 5/42 (chiếm 11,9%).

IV. BÀN LUẬN

Bệnh Parkinson là bệnh thoái hóa thần kinh phổ biến ở người cao tuổi. Trong nghiên cứu của chúng tôi thì độ tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $53,33 \pm 6,68$ tuổi, tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Nữ (2022) là $55,9 \pm 9,5$ tuổi và tác giả Nhữ Đình Sơn (2012) là $56,69 \pm 10,54$.^{6,7} Chúng tôi nhận thấy tỷ lệ bệnh nhân Parkinson cao nhất ở nhóm tuổi < 60 tuổi (81,82%), tuy nhiên đa số bệnh nhân khởi phát bệnh trên 50 tuổi. Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân Parkinson có ở cả 2 giới nam và nữ; với tỷ lệ nam, nữ tương

đương nhau nam/nữ = 1,22/1. Tương đồng với nghiên cứu của tác giả Đỗ Phương Vịnh (2005) khi nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng bệnh Parkinson với tỉ lệ nam chiếm 50,3%, nữ chiếm tỉ lệ 49,7% và tỉ lệ nam/nữ xấp xỉ 1,0. Tác giả Lê Quang Cường cũng ghi nhận không có sự khác nhau giữa tỷ lệ mắc bệnh giữa nam và nữ ở bệnh nhân Parkinson.⁸

Nghiên cứu của chúng tôi áp dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới - NGS để phân tích trình tự toàn vùng mã hóa gen của 40 bệnh nhân Parkinson. Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận có 29 bệnh nhân Parkinson (chiếm tỷ lệ 72,5%) có mang đột biến gen liên quan bệnh lý Parkinson. Trong đó, tỷ lệ bệnh nhân mang 1 đột biến gen chiếm tỷ lệ cao nhất 16/29 (chiếm 55,17%) ở nhóm bệnh nhân có mang đột biến gen. Kể đến lần lượt là nhóm bệnh nhân mang 2 và 3 đột biến (6/29 chiếm 20,69%), và nhóm

bệnh nhân mang 4 đột biến gen (1/29 chiếm 3,45%) ở những bệnh nhân có mang đột biến gen.

Nghiên cứu của chúng tôi đã xác định được 50 đột biến (có 42 dạng đột biến khác nhau) trên 16 gen ở 29 bệnh nhân Parkinson. Tất cả các đột biến được tìm thấy đều ở dạng dị hợp tử. Trong đó, có 8/16 gen có kiểu di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường (Autosomal dominant) là gen *GBA*, *EIF4G1*, *LRRK2*, *ATXN2*, *MAPT*, *SNCA*, *GIGYF2*, *TBP* được ghi nhận. Trong 42 dạng đột biến được tìm thấy thì kiểu đột biến chủ yếu là thay thế 1 nucleotit (chiếm 83,33%). Điều này cũng tương đồng với một số nghiên cứu trên thế giới ghi nhận các đột biến thay thế nucleotit có vai trò quan trọng trong sự phát triển bệnh Parkinson ở những bệnh nhân Parkinson. Kế đến là đột biến dạng mất đoạn gen (chiếm 11,9%) và chủ yếu là ở gen *PARK2* (4 trường hợp) và *GIGYF2* (1 trường hợp).

Đột biến trên gen *GBA* chiếm tỷ lệ cao 9/29 (chiếm 31,03%) bệnh nhân có mang đột biến gen với 6 dạng đột biến khác nhau được xác định. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với các nghiên cứu trên thế giới. Các nghiên cứu trên thế giới đã phát hiện hơn 300 đột biến của gen *GBA*, với sự phân bố trải dài trên gen và ghi nhận đột biến trên gen *GBA* là một yếu tố nguy cơ dẫn đến bệnh Parkinson chính, chiếm tỷ lệ cao, thường liên quan đến chứng sa sút trí tuệ, rối loạn tâm thần kinh và rối loạn chức năng tự chủ.^{9,10} Đặc biệt, một đột biến vô nghĩa được tìm thấy trong nghiên cứu là đột biến c.814G>T (Glu272*). Hệ quả của đột biến thay thế 1 nucleotid này làm thay đổi khung dịch mã, chuyển mã bộ ba GAA mã hóa cho Glutamic acid thành mã bộ ba kết thúc sớm TAA (stop codon). Bởi vậy, đột biến này làm cho *GBA* thay vì có 536 axit amin thì chỉ còn 272 axit amin. Lượng acid amin còn lại không đủ để đảm nhiệm dịch mã ra một protein hoàn chỉnh,

dẫn đến Gcase bị mất phần lớn chức năng, sự suy thoái của α -synuclein trong tế bào bị suy giảm và chức năng của lysosome bị tổn hại, dẫn đến tăng nồng độ α -synuclein oligomeric, dẫn đến chết tế bào thần kinh dopaminergic và gây bệnh Parkinson.¹¹

Cho đến nay, các nhà khoa học đã phát hiện được 27 gen liên quan tới Parkinson có tính gia đình và di truyền theo quy luật Mendel.^{3,4} Sản phẩm của các gen này thường đóng vai trò quan trọng cho quá trình kiểm soát chất lượng protein nội bào cũng như sự dẫn truyền thần kinh, vận chuyển các chất trong tế bào thần kinh. Điều này cho thấy, sự phức tạp trong sinh bệnh học của Parkinson. Ứng dụng kỹ thuật NGS ta mới có thể phần nào xác định được nguyên nhân di truyền của bệnh lý này vì chỉ kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới - NGS mới cho phép việc giải trình tự tiết kiệm chi phí và hiệu quả nhiều gen, đặc biệt là các gen lớn và phức tạp trong bệnh Parkinson.¹²

V. KẾT LUẬN

Trong 40 bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh Parkinson được nghiên cứu phân tích trình tự toàn bộ vùng mã hóa gen bằng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới - NGS thì tỷ lệ bệnh nhân có đột biến gen chiếm 72,5% (29/40 bệnh nhân). Trong đó, ghi nhận 42 dạng đột biến khác nhau trên 16 gen ở bệnh nhân Parkinson, trong đó đột biến trên gen *GBA*, *EIF4G1* và *PARK2* chiếm tỷ lệ cao.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được thực hiện dưới sự hỗ trợ kinh phí của đề tài cấp Bộ Y tế “Nghiên cứu xác định đột biến gen liên quan đến bệnh Parkinson ở Việt Nam” số quyết định phê duyệt 5886 QĐ-BYT, thực hiện từ 6/2020 - 6/2022.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Shi MM, Shi CH, Xu YM. Rab GTPases:

The Key Players in the Molecular Pathway of Parkinson's Disease. *Front Cell Neurosci*. 2017;11. doi: 10.3389/FNCEL.2017.00081.

2. Shulman JM, De Jager PL, Feany MB. Parkinson's Disease: Genetics and Pathogenesis. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2011;6(1):193-222. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130242.

3. Lunati A, Lesage S, Brice A. The genetic landscape of Parkinson's disease. *Rev Neurol (Paris)*. 2018;174(9):628-643. doi: 10.1016/j.neurol.2018.08.004.

4. Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease. *Eur J Neurol*. 2020;27(1):27-42. doi: 10.1111/ene.14108.

5. Bonifati V. Genetics of Parkinson's disease--state of the art, 2013. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014;20(1):S23-28. doi: 10.1016/S1353-8020(13)70009-9.

6. Nhữ Đình Sơn. Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và một số yếu tố nguy cơ của bệnh Parkinson. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*. 2012.

7. Nguyễn Thị N, Phạm Lê Anh T, Trần Văn K, Trần Huy T. Xác định đột biến gen LRRK2 ở bệnh nhân Parkinson. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 2022;151(3):18-25.

8. Bộ Y tế. Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng

bệnh Parkinson ở người cao tuổi và tác dụng của Piribedil trong giai đoạn sớm. Accessed November 12, 2022. <http://lienthuvien.yte.gov.vn/tai-lieu/benh-hoc-noi-khoa/nghien-cuu-dac-diem-lam-sang-benh-parkinson-o-nguoi-cao-tuoi-va-tac-dung-cua-piribedil-trong-giai-doan-som>

9. Hruska KS, LaMarca ME, Scott CR, Sidransky E. Gaucher disease: mutation and polymorphism spectrum in the glucocerebrosidase gene (GBA). *Hum Mutat*. 2008;29(5):567-583. doi: 10.1002/humu.20676.

10. Behl T, Kaur G, Fratila O, et al. Cross-talks among GBA mutations, glucocerebrosidase, and α -synuclein in GBA-associated Parkinson's disease and their targeted therapeutic approaches: a comprehensive review. *Transl Neurodegener*. 2021;10(1):4. doi: 10.1186/s40035-020-00226-x.

11. Sidransky E, Lopez G. The link between the GBA gene and parkinsonism. *Lancet Neurol*. 2012;11(11):986-998. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70190-4.

12. Jia F, Fellner A, Kumar KR. Monogenic Parkinson's Disease: Genotype, Phenotype, Pathophysiology, and Genetic Testing. *Genes*. 2022;13(3):471. doi: 10.3390/genes13030471.

Summary

APPLICATION NEXT GENERATION SEQUENCING IN MUTATION IDENTIFICATION IN PARKINSON'S DISEASE PATIENTS

Parkinson's disease is the second most common neurodegenerative disorder in the elderly after Alzheimer's. The disease is characterized by the progressive degeneration of substantia nigra dopaminergic neurons, leading to a decrease in dopamine content and affecting the transmission of nerve signals to ensure the normal process of muscle contraction. With the rapid growth of recent studies, genetic factors play a crucial role in the progression of Parkinson's disease. The

purpose of the research is to apply next generation sequencing to identify mutations in genes that are related to Parkinson's disease. DNA extracted from peripheral blood samples of 40 Parkinson's patients was sequenced using the whole-exome next generation sequencing method. Mutations were detected in 29 patients (72.5%). 18.0% of cases had *GBA* mutations and 16.0% of cases had *EIF4G1* mutations. The average age was 53.33 ± 6.68 . The ratio of male/female was 1.22.

Keywords: Parkinson's disease, Next Generation Sequencing, mutation.