

XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN XÓA ĐOẠN TRÊN GEN PARK2 Ở BỆNH NHÂN PARKINSON

Nguyễn Tiến Lâm, Phạm Lê Anh Tuấn, Trần Tín Nghĩa, Lê Thị Phương
Nguyễn Hoàng Việt, Bùi Trần Tuyết Nhi, Trần Huy Thịnh và Trần Văn Khánh✉

Trường Đại học Y Hà Nội

Gen PARK2 mã hóa protein Parkin, biểu hiện hoạt động của một enzym ligase E3 ubiquitin. Đột biến trên gen PARK2 là một trong những nguyên nhân chính gây ra thể Parkinson gia đình, di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, đặc trưng bởi sự khởi phát sớm (trước 50 tuổi). Đột biến xóa đoạn gen PARK2 chiếm tỷ lệ khoảng 9,5% - 14% số bệnh nhân khởi phát sớm. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích xác định đột biến xóa đoạn trên gen PARK2 ở bệnh nhân Parkinson và các thành viên gia đình. Nghiên cứu được thực hiện trên 30 bệnh nhân Parkinson với độ tuổi trung bình là $51,47 \pm 11,91$ tuổi, tỷ lệ nam/nữ bằng 1,3. Trong đó, chúng tôi phát hiện 4/30 bệnh nhân (tỷ lệ 13,3%) mang đột biến xóa đoạn gen PARK2 bằng kỹ thuật MLPA. Nghiên cứu có ý nghĩa thực tiễn đối với cả bệnh nhân và gia đình, đóng góp vào cơ sở dữ liệu bệnh Parkinson đồng thời là cơ sở để tư vấn di truyền cho các thành viên trong gia đình.

Từ khóa: Parkinson, đột biến gen, MLPA, PARK2.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Parkinson (PD) là chứng rối loạn thoái hóa thần kinh phổ biến thường gặp thứ 2 sau bệnh Alzheimer và chiếm 1,6% so với các bệnh thần kinh.¹ PD đặc trưng bởi các biểu hiện run khi nghỉ ngơi, cứng đờ và chậm vận động. Bệnh PD gây nên do sự thoái hóa của các tế bào thần kinh trong vùng chất đen, một khu vực nhỏ ở trung não. Sự thoái hóa dần dần của các tế bào này làm giảm hàm lượng dopamine - một chất dẫn truyền tín hiệu thần kinh, có nhiệm vụ đảm bảo quá trình cơ cơ diễn ra bình thường dưới sự điều khiển của não bộ. Các triệu chứng của PD trở nên rõ ràng sau khi hơn gần 70% tế bào thần kinh dopaminergic chết.² Sự thoái hóa các tế bào thần kinh này, được chứng minh là kết quả cộng gộp của nhiều bất thường trong tế bào do những tác động xấu gây ra bởi môi

trường xung quanh hoặc do đột biến gen.

Các nghiên cứu về y sinh học di truyền ở mức độ phân tử đã tìm ra ít nhất 20 gen có liên quan đến PD di truyền. Một trong những gen xuất hiện phổ biến trên bản đồ đột biến PD trên thế giới chính là gen *PARK2*, gây thể bệnh cùng tên, có đặc điểm di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường và đặc trưng bởi sự khởi phát sớm. Các đột biến gây bệnh trên gen *PARK2* bao gồm các đột biến thay đổi đơn nucleotid, các đột biến xóa đoạn nhỏ và lớn và các đột biến tại vị trí cắt nối. Trong nghiên cứu này chúng tôi đi sâu tìm hiểu về các đột biến xóa đoạn lớn trên gen *PARK2*, một dạng đột biến phổ biến trên gen này. Tỷ lệ phát hiện đột biến xóa đoạn gen *PARK2* ở bệnh nhân PD cũng thay đổi đáng kể dựa trên các dân tộc, các vùng địa lý và tiêu chuẩn lựa chọn mẫu khác nhau. Cụ thể nghiên cứu của Min Kyung Chu và cộng sự (2014) tại Hàn Quốc trên 189 bệnh nhân PD cho tỷ lệ đột biến gen *PARK2* là 9,5%, trong khi đó nghiên cứu của Christoph B. Lücking và

Tác giả liên hệ: Trần Văn Khánh

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: tranvankhanh@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 15/03/2023

Ngày được chấp nhận: 05/04/2023

cộng sự (2000) cho tỷ lệ lên tới 14%.^{3,4}

Từ những luận chứng trên, chúng tôi nhận định việc xác định đột biến xóa đoạn trên gen *PARK2* ở những bệnh nhân PD là rất cần thiết. Dữ liệu của nghiên cứu này không chỉ là thông tin di truyền quan trọng cho bệnh nhân PD cũng như thành viên gia đình bệnh nhân PD mà còn góp phần xây dựng hệ thống dữ liệu đột biến gây bệnh tại Việt Nam. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: Xác định đột biến xóa đoạn trên gen *PARK2* ở bệnh nhân Parkinson bằng kỹ thuật MLPA.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Tiêu chuẩn lựa chọn

Lựa chọn 30 bệnh nhân được chẩn đoán xác định mắc bệnh Parkinson tại Bệnh viện Lão khoa Trung ương theo tiêu chuẩn của Ngân hàng não Hội Parkinson Vương quốc Anh (UKPDSBB/United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank), hồ sơ bệnh án cung cấp đầy đủ thông tin.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân mắc các bệnh di truyền thần kinh khác.

- Bệnh nhân thuộc tiêu chuẩn loại trừ theo tiêu chuẩn chẩn đoán của Ngân hàng Não Hội Parkinson Vương quốc Anh.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 08/2022 đến tháng 07/2023.

Địa điểm nghiên cứu

Trung tâm Nghiên cứu Gen - Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.

Quy trình thực hiện:

- Thu thập mẫu: Đối tượng nghiên cứu được lấy máu tĩnh mạch khoảng 3ml máu vào ống chứa chất chống đông EDTA.

- Tách chiết DNA: DNA tổng số được tách chiết từ máu toàn phần chống đông EDTA bằng kit The Wizard® Genomic DNA Purification Kit của hãng Promega (USA). Nồng độ và độ tinh sạch của DNA được xác định bằng phương pháp đo mật độ quang trên máy OD Nanodrop 2000c. Mẫu đạt tiêu chuẩn $OD_{260nm}/OD_{280nm} = 1,8 - 2,0$ được sử dụng để phân tích gen.

Quy trình kỹ thuật MLPA

Sử dụng bộ kit SALSA MLPA Probemix P051 Parkinson Kit của hãng MRC Holland (Hà Lan). Bộ kit gồm 38 đầu dò cho gen *PARK2* để phát hiện đột biến xóa đoạn gen lớn trên gen *PARK2* và 10 đầu dò nội chuẩn để kiểm tra chất lượng phản ứng. Quy trình phản ứng được tiến hành như sau: Phản ứng lai: Cho 5µl dung dịch DNA (nồng độ 50 - 100ng là tối ưu) được biến tính vào hỗn hợp lai gồm 1,5µl probe (P051) cùng với 1,5 buffer MLPA. Sau đó lai ở 60°C trong vòng 16 - 20 giờ (ủ qua đêm). Phản ứng nối: Cho 32µl dung dịch đệm gắn probe gồm 3µl Dung dịch đệm A, 3µl Dung dịch đệm B, 25µl nước, 1µl Enzym ligase 65 vào hỗn hợp lai ủ qua đêm chạy theo chu trình nhiệt sau 54°C/15 phút → 98°C/3 phút → giữ ở 20°C. Tiến hành khuếch đại sản phẩm lai (probe) bằng phản ứng PCR: Thành phần phản ứng PCR gồm: 7,5µl nước, 2µl SALSA PCR primer và 0,5µl SALSA polymerase. Chu trình nhiệt phản ứng: 95°C/30 giây, 60°C/30 giây, 72°C/60 giây 72°C/20 phút, lặp lại 35 chu kỳ. Sau phản ứng PCR, mỗi probe sẽ được khuếch đại thành nhiều bản sao và được phân tách bằng phương pháp điện di mao quản trên hệ thống phân tích di truyền 3500 Genetic Analyzer hãng Applied Biosystems® (Mỹ). Kết quả điện di được phân tích bằng phần mềm Coffalyser để tính giá trị DQ (Dosage Quotients - thương số giữa diện tích đỉnh của mẫu bệnh phẩm và diện tích đỉnh của mẫu đối chứng) và xác định tình trạng gen theo bảng dưới đây:

Tình trạng gen	DQ
Bình thường	$0,8 < DQ < 1,20$
Xóa đoạn đồng hợp	$DQ = 0$
Xóa đoạn dị hợp	$0,4 < DQ < 0,65$
Lặp đoạn	$DQ > 1,3$

3. Đạo đức nghiên cứu

Đây là nghiên cứu mô tả cắt ngang mọi thông tin 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. Đã được Hội đồng đạo đức Trường Đại học Y Hà Nội cấp chứng nhận chấp thuận đạo đức nghiên cứu y sinh học (số 665/GCN-HĐĐĐNCYSH-ĐYHN).

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Nghiên cứu lựa chọn ngẫu nhiên 30 bệnh nhân đã được chẩn đoán mắc PD thông qua các triệu chứng lâm sàng. Các đặc điểm phân bố về nhóm tuổi và giới của các đối tượng nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Nhóm tuổi	Nam		Nữ		Tổng	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
< 50	12	40,0%	7	23,3%	19	63,3%
≥ 50	5	16,7%	6	20,0%	11	36,7%
Tổng	17	56,7%	13	43,3%	30	100%

Tỷ lệ nam/nữ = 1,3

Về tuổi, nhóm bệnh nhân dưới 50 tuổi chiếm đa số (63.3%) trong nghiên cứu. Những bệnh nhân phát bệnh trước tuổi 50 được coi là nhóm bệnh nhân khởi phát bệnh sớm theo hiệp hội PD Hoa Kỳ (APDA - American Parkinson Disease Association). Tuổi trung bình của các bệnh nhân nghiên cứu là $51,47 \pm 11,91$ tuổi, dao động từ 36 đến 73 tuổi. Về giới tính, tỷ lệ nam/nữ có sự chênh lệch là 1,3.

2. Xác định đột biến gen *PARK2* bằng kỹ thuật MLPA

Cả 30 mẫu nghiên cứu được xác định đột biến trên gen *PARK2* bằng kỹ thuật MLPA. Chúng tôi phát hiện được 4/30 (13.3%) bệnh nhân mang đột biến xóa đoạn trên gen *PARK2*, đột biến phát hiện từ exon 1 đến exon 7, tập trung trên exon 5 và 6. Thông tin cụ thể được tổng hợp ở bảng 2.

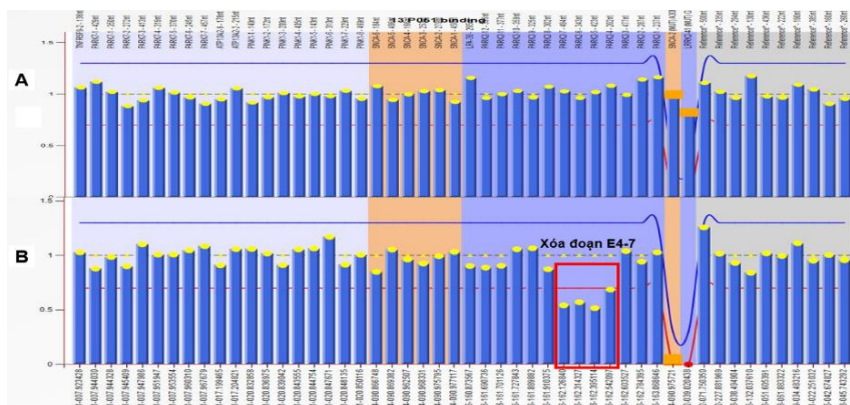
Bảng 2. Đặc điểm thông tin bệnh nhân có đột biến và các đột biến được tìm thấy

STT	Mã số	Giới	Tuổi	Đột biến gen	Mô tả đột biến	Thể bệnh
1	PK05	Nam	55	EX4-EX7 Del	Dị hợp tử	Pathogenic
2	PK10	Nam	59	EX5-EX6 Del	Dị hợp tử	Pathogenic
3	PK16	Nam	50	EX3-EX4 Del	Dị hợp tử	Pathogenic
4	PK22	Nam	70	EX1 Del	Dị hợp tử	Pathogenic

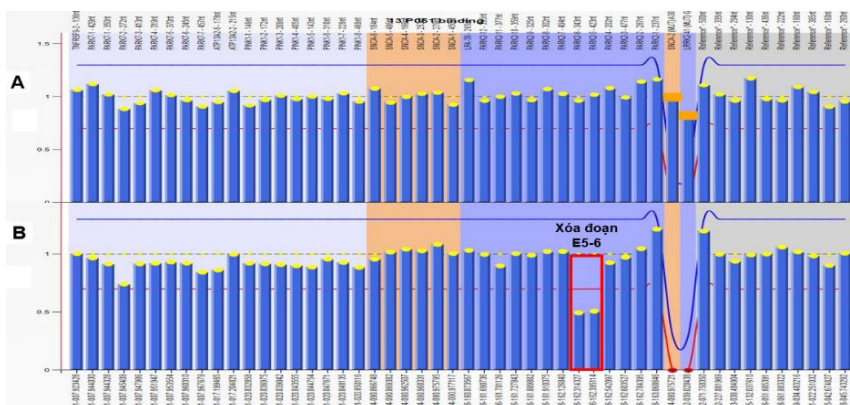
Kỹ thuật MLPA là tiêu chuẩn vàng để phát hiện các đột biến xóa đoạn gen lớn và lặp đoạn và được xác định bằng giá trị DQ.

Dựa vào giá trị DQ cả 4 đột biến xóa đoạn trên gen PARK2 được xác định trong nghiên

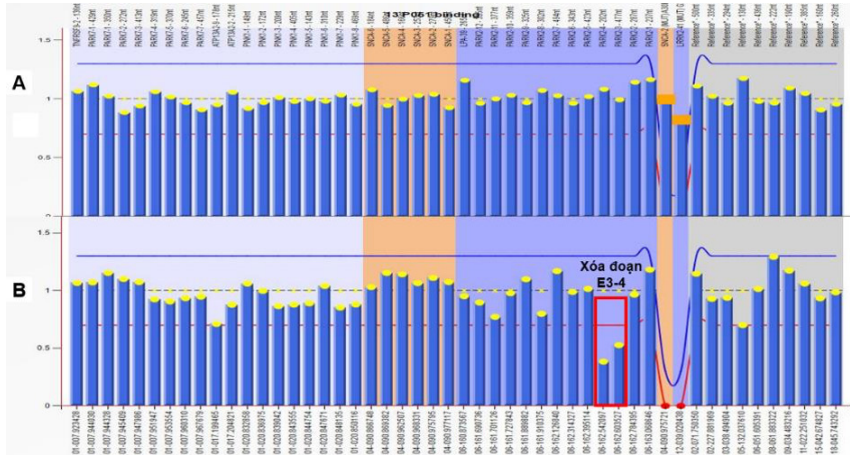
cứu này là đột biến xóa đoạn dị hợp tử và đều được chứng minh đóng góp vào khả năng gây bệnh PD (theo cơ sở dữ liệu Clinvar).⁵ Hình ảnh kết quả của 4 đột biến được trình bày dưới đây.



Hình 1. Kết quả MLPA đột biến xóa đoạn Exon 4-7 trên gen PARK2 của bệnh nhân PK05
 A: Kết quả MLPA của mẫu tham chiếu; B: Kết quả MLPA đột biến xóa đoạn exon 4-7 (xóa đoạn dị hợp tử) trên gen PARK2 của mẫu nghiên cứu PK05

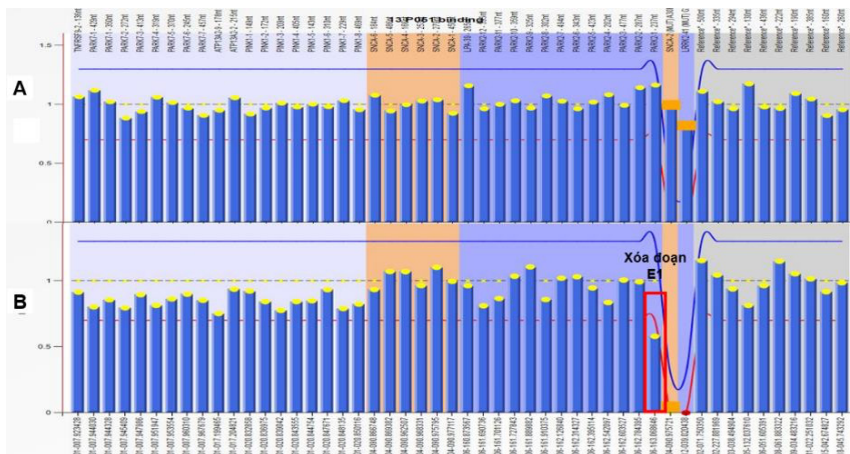


Hình 2. Kết quả MLPA đột biến xóa đoạn Exon 5-6 trên gen PARK2 của bệnh nhân PK10
 A: Kết quả MLPA của mẫu tham chiếu; B: Kết quả MLPA đột biến xóa đoạn exon 5-6 (xóa đoạn dị hợp tử) trên gen PARK2 của mẫu nghiên cứu PK10



Hình 3. Kết quả MLPA đột biến xóa đoạn Exon 3-4 trên gen PARK2 của bệnh nhân PK16

A: Kết quả MLPA của mẫu tham chiếu; B: Kết quả MLPA đột biến xóa đoạn exon 3-4 (xóa đoạn dị hợp tử) trên gen PARK2 của mẫu nghiên cứu PK16



Hình 4. Kết quả MLPA đột biến xóa đoạn Exon 1 trên gen PARK2 của bệnh nhân PK22

A: Kết quả MLPA của mẫu tham chiếu; B: Kết quả MLPA đột biến xóa đoạn exon 1 (xóa đoạn dị hợp tử) trên gen PARK2 của mẫu nghiên cứu PK22

DNA của các bệnh nhân được phân tích toàn bộ 12 exon tìm đột biến xóa đoạn bằng probemix P051, mỗi probe tương ứng với mỗi exon và tương ứng với mỗi đỉnh (mỗi exon ứng với 1 đỉnh). Mỗi phản ứng MLPA đều chạy kèm mẫu đối chứng là người không mang gen *PARK2* đột biến. So với mẫu đối chứng, các đỉnh tương ứng exon từ 4 - 7 ở mẫu bệnh nhân PK 05, các đỉnh tương ứng exon từ 5 - 6 ở mẫu bệnh nhân PK 10, các đỉnh tương ứng exon từ

3 - 4 ở mẫu bệnh nhân PK 16, đỉnh tương ứng exon 1 ở mẫu bệnh nhân PK 22 đều có giá trị DQ trong khoảng 0,4 - 0,65. Điều đó chứng tỏ các bệnh nhân có đột biến xóa đoạn dị hợp tử exon tương ứng của gen *PARK2*.

IV. BÀN LUẬN

Parkinson là một trong những bệnh lý thần kinh cơ nhận được sự quan tâm lớn từ xã hội bởi những hệ quả nó đem lại cho bệnh nhân,

gia đình cũng như cộng đồng. Bệnh do nhiều cơ chế bệnh sinh, nhiều biến đổi gen khác nhau gây ra nên mỗi nghiên cứu về một nguyên nhân cấu thành bệnh hay trên những vùng địa lý cụ thể cũng mang đóng góp không nhỏ tới cơ sở dữ liệu PD ở Việt Nam nói riêng và toàn thế giới nói chung. Nghiên cứu lựa chọn ngẫu nhiên 30 bệnh nhân đã được chẩn đoán mắc PD bởi các chuyên gia lâm sàng.

Về độ tuổi, tuổi trung bình nhóm nghiên cứu thu nhận được là $51,47 \pm 11,91$ tuổi, dao động từ 36 đến 73 tuổi, tương đồng với nghiên cứu của tác giả Nhĩ Đình Sơn (2012) với độ tuổi trung bình là $56,69 \pm 10,54$.⁶ Các đột biến trên gen *PARK2* được cho là có liên quan tới dạng PD khởi phát sớm (trước 40 tuổi). Trong bệnh nhân của chúng tôi, có 4 bệnh nhân mang đột biến trên gen *PARK2* và độ tuổi hiện tại của các bệnh nhân này lần lượt là 50, 55, 59, 70, tương đồng so với trung bình của nhóm nghiên cứu. Điều này không tương đồng với nghiên cứu Wojciech Ambroziak (2015) về tuổi khởi phát trung bình $34,6 \pm 14,6$ tuổi và tuổi bệnh nhân khi phân tích $43,2 \pm 18,3$ tuổi.⁷

Trên tổng số 30 bệnh nhân nghiên cứu, chúng tôi xác định được 4 bệnh nhân mang đột biến xóa đoạn trên gen *PARK2* (chiếm 13,3%). Tỷ lệ này tương đồng với các nghiên cứu trước của của Min Kyung Chu và cộng sự (2014) tại Hàn Quốc trên 189 bệnh nhân PD cho tỷ lệ đột biến gen *PARK2* là 9,5%, trong khi đó nghiên cứu của Christoph B. Lücking và cộng sự (2000) cho tỷ lệ lên tới 14%. Tất cả đột biến chúng tôi thu nhận được đều là đột biến dị hợp tử. Cả 4 đột biến xác định được này đều được chứng minh bởi các thử nghiệm lâm sàng hoặc in vitro và được công nhận trên ngân hàng dữ liệu Clinvar.

Ở bệnh nhân mã số nghiên cứu PK05, kết quả phân tích MLPA cho thấy không xuất hiện các đỉnh tương ứng của 4 exon liền kề từ exon

4 tới exon 7 như vậy bệnh nhân này có đột biến xóa đoạn từ exon 4-7 trên gen *PARK2*. Trong khi đó, ở bệnh nhân mã số nghiên cứu PK10, kết quả cho thấy không xuất hiện đỉnh tương ứng với 2 exon từ exon 5 tới exon 6. Điều này khẳng định bệnh nhân mã số PK10 bị đột biến xóa đoạn 2 exon từ exon 5-6. Tương tự, kết quả bệnh nhân mã số PK16 cho thấy không xuất hiện đỉnh tương ứng với 2 exon từ exon 3 tới exon 4, khẳng định bệnh nhân mã số PK16 bị đột biến xóa đoạn 2 exon từ exon 3-4. Cả 3 đột biến trên (xóa từ 2 exon trở lên) đều gây ra dịch chuyển khung và dẫn đến cắt ngắn protein parkin, thiếu cấu trúc RING-IBR-RING. Cấu trúc này ở đầu C có khả năng chịu trách nhiệm cho chức năng có thể xảy ra của parkin với tư cách là một ligase protein E3 ubiquitin, thực hiện con đường Ubiquitin hóa. Ubiquitin hóa chỉ sự biến đổi sau dịch mã của một protein bằng cách gắn cộng hóa trị một hay nhiều đơn phân ubiquitin vào protein này (thông qua một liên kết isopeptid). Chức năng nổi bật nhất của ubiquitin là đánh dấu các protein cho quá trình tiêu hủy trong bộ máy phân hủy protein (proteasome). Bên cạnh chức năng này, ubiquitin hóa cũng kiểm soát độ bền, chức năng và sự định vị nội bào của nhiều loại protein. Enzym E1 khởi động tầng ubiquitin hóa. Bước cuối cùng của tầng ubiquitin hóa tạo thành liên kết isopeptide giữa một lysine của protein đích và glycine đầu C tận của ubiquitin. Thông thường, bước này cần đến sự hoạt động của một trong số hàng trăm enzym ligase ubiquitin - protein E3 (thường được gọi đơn giản là ligase ubiquitin). Enzym ligase protein E3 ubiquitin hoạt động xúc tác cho sự gắn cộng hóa trị của các gốc ubiquitin vào protein cơ chất. Các đột biến xóa này dự kiến sẽ tạo ra tín hiệu dừng dịch mã sớm và dẫn đến sản phẩm protein bị thiếu hoặc bị gián đoạn, dẫn đến một phiên bản bị lỗi của protein parkin và không thể hiện hiện

được chức năng. Các biến thể này đã được báo cáo ở trạng thái dị hợp tử ở nhiều cá nhân bị ảnh hưởng với bệnh Parkinson khởi phát sớm. Các biến thể mất chức năng trong *PARK2* được biết là có khả năng gây bệnh. Vì những lý do này, các biến thể này đã được phân loại là gây bệnh. Các nghiên cứu của Christoph B. Lücking (2000), Katja Hedrich (2001) và nghiên cứu của Min Kyung Chu (2014) đã khẳng định điều này.⁸

Đột biến cuối cùng là đột biến xóa exon đơn lẻ, đột biến xóa exon 1 của bệnh nhân nghiên cứu mã số PK22. Vị trí của các đột biến chỉ định xác định tầm quan trọng về chức năng của các vùng protein như UBIQUITIN và RING-IBR-RING miền. Đột biến xóa exon 1 nằm ở miền giống ubiquitin (UBL) ở đầu N ảnh hưởng đến chức năng của Ubiquitin, làm cho Ubiquitin không được phosphoryl hóa bởi PINK1 để kích hoạt parkin, dẫn đến protein không thể hiện được chức năng. Nghiên cứu của Fumika Koyano và cộng sự (2014) đã khẳng định điều này.⁹

V. KẾT LUẬN

Bằng kỹ thuật MLPA, nghiên cứu đã phát hiện được 4/30 bệnh nhân (tỷ lệ 13,3%) mang đột biến xóa đoạn trên gen *PARK2* gồm các đột biến xóa đoạn exon 4-7, xóa đoạn exon 5-6, xóa đoạn exon 3-4 và xóa đoạn exon 1. Các đột biến này đều là đột biến dị hợp tử, làm dịch chuyển khung dịch mã gây mất chức năng protein Parkin được phân loại là gây bệnh.

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. Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn Bệnh viện Lão khoa Trung ương đã cung cấp mẫu nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rui Q, Ni H, Li D, Gao R, Chen G. The Role of LRRK2 in Neurodegeneration of Parkinson Disease. *Current neuropharmacology*. 2018; 16(9): 1348-1357. doi:10.2174/1570159x16666180222165418.
2. Houlden H, Singleton AB. The genetics and neuropathology of Parkinson's disease. *Acta neuropathologica*. Sep 2012; 124(3): 325-38. doi:10.1007/s00401-012-1013-5.
3. Chu MK, Kim WC, Choi JM, et al. Analysis of dosage mutation in *PARK2* among Korean patients with early-onset or familial Parkinson's disease. *J Clin Neurol*. 2014; 10(3): 244-248. doi:10.3988/JCN.2014.10.3.244.
4. Lücking CB, Dürr A, Bonifati V, Vaughan J, De Michele G, Gasser T, Harhangi BS, Meco G, Denèfle P, Wood NW, Agid Y, Brice A; French Parkinson's Disease Genetics Study Group; European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease. Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. *N Engl J Med*. 2000 May 25; 342(21): 1560-7. doi: 10.1056/NEJM200005253422103. PMID: 10824074.
5. VCV000813338.5 – ClinVar – NCBI. Accessed April 26, 2022. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/813338/?new_evidence=true
6. Nhữ Đình Sơn. Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và một số yếu tố nguy cơ của bệnh Parkinson. 2003. Luận án tiến sĩ y học.
7. Ambroziak W, Koziorowski D, Duszyk K, Górka-Skoczylas P, Potulska-Chromik A, Sławek J, Hoffman-Zacharska D. Genomic instability in the *PARK2* locus is associated with Parkinson's disease. *J Appl Genet*. 2015 Nov; 56(4): 451-461. doi: 10.1007/s13353-015-0282-9. Epub 2015 Apr 2. PMID: 25833766; PMCID: PMC4617850.

8. Hedrich K, Kann M, Lanthaler AJ, Dalski A, Eskelson C, Landt O, Schwinger E, Vieregge P, Lang AE, Breakefield XO, Ozelius LJ, Pramstaller PP, Klein C. The importance of gene dosage studies: mutational analysis of the parkin gene in early-onset parkinsonism. *Hum Mol Genet.* 2001 Aug 1; 10(16): 1649-56. doi: 10.1093/hmg/10.16.1649. PMID: 11487568.

9. Koyano F, Okatsu K, Kosako H, Tamura Y, Go E, Kimura M, Kimura Y, Tsuchiya H, Yoshihara H, Hirokawa T, Endo T, Fon EA, Trempe JF, Saeki Y, Tanaka K, Matsuda N. Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate parkin. *Nature.* 2014 Jun 5; 510(7503):162-6. doi: 10.1038/nature13392. Epub 2014 Jun 4. PMID: 24784582.

Summary

PARK2 GENE MUTATION IN PARKINSON PATIENTS

PARK2 gene encodes parkin protein, functions as an E3 ubiquitin ligase. *PARK2* mutations are among the main causes of familial chromosomal Parkinson's disease, characterized by early onset (before 50 years of age). Mutations in the *PARK2* gene segment account for about 9.5% - 14% of patients with early onset. This study aims to identify deletion mutations on the *PARK2* gene in Parkinson's patients and family members. In a study conducted on 30 Parkinson's patients with an average age of 51.47 ± 11.91 years old, male/female ratio of 1.3, we found that 4/30 patients (13.3%) carried mutations in the *PARK2* gene segment differentiated by MLPA technique. This study shows practical implications for patients and contributes to the Parkinson's disease database as well as genetic consultation for family members.

Keywords: Parkinson's disease, gene mutation, MLPA, *PARK2*.