

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

---



**Hoàng Thị Phương**

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG VÀ SỰ BIỂU HIỆN  
CỦA CÁC GEN *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3*, *MT-RNR1* Ở TRẺ ĐIẾC BẨM SINH  
CÓ CHỈ ĐỊNH CÂY ĐIỆN CỰC ỐC TAI**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH SINH HỌC THỰC NGHIỆM**

*Hà Nội - 2023*

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

---



**Hoàng Thị Phương**

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG VÀ SỰ BIỂU HIỆN  
CỦA CÁC GEN *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3*, *MT-RNR1* Ở TRẺ ĐIẾC BẨM SINH  
CÓ CHỈ ĐỊNH CÂY ĐIỆN CỰC ỐC TAI**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH SINH HỌC THỰC NGHIỆM**

**Mã số: 8420114**

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:**

**PGS.TS. Võ Thị Bích Thủy**

**Hà Nội - 2023**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Hà Nội, ngày 04 tháng 08 năm 2023



**Hoàng Thị Phương**

## LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình thực hiện luận văn, tôi đã nhận được rất nhiều sự giúp đỡ quý giá của các thầy cô, các đồng nghiệp, bạn bè và gia đình. Với lòng biết ơn sâu sắc tôi xin gửi lời cảm chân thành đến họ.

Trước tiên, tôi xin được gửi lời cảm ơn sâu sắc nhất tới PGS.TS. Võ Thị Bích Thủy, Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, người đã trực tiếp hướng dẫn luận văn cho tôi. Cô đã dành nhiều thời gian, tâm sức, cho tôi nhiều ý kiến nhận xét quý báu. Cô luôn quan tâm, nhắc nhở kịp thời để giúp tôi thực hiện luận văn đúng kế hoạch. Những kiến thức mà cô truyền đạt là nền tảng giúp tôi thực hiện nội dung luận văn, đồng thời cũng giúp ích cho công việc của tôi hiện tại.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới tập thể các thầy cô cùng anh chị và các bạn tại Phòng Hệ gen học vi sinh, Viện Nghiên cứu hệ gen đã hết lòng chỉ bảo, hỗ trợ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn ban Lãnh đạo Học viện, phòng Đào tạo và các thầy cô của Khoa Công nghệ Sinh học - Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tận tình dạy dỗ cho tôi và tạo những điều kiện thuận lợi nhất để tôi hoàn thành chương trình học và luận văn. Mặc dù, trong thời gian học tập cũng là thời điểm dịch bệnh Covid19 gây nên những khó khăn nhất định.

Tôi xin trân trọng cảm ơn ban lãnh đạo Bệnh viện TƯQĐ 108, ban lãnh đạo Trung tâm Khám chữa bệnh đa khoa và Điều trị theo yêu cầu, bạn bè, các anh chị em đồng nghiệp nơi tôi công tác đã động viên, tạo mọi điều kiện để tôi tham gia học tập và hoàn thành luận văn.

Tôi cũng xin cảm ơn các gia đình bệnh nhân, bệnh nhân đã tin tưởng, ủng hộ tôi và hợp tác tham gia vào đề tài nghiên cứu này.

Nhân đây, tôi đặc biệt gửi lời cảm ơn sâu sắc đến gia đình thân yêu, bạn bè và người thân đã luôn bên cạnh quan tâm, khích lệ, động viên tôi truyền cho tôi động lực để hoàn thành quá trình học tập và có được kết quả như ngày hôm nay.

## MỤC LỤC

<b>DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT.....</b>	<b>i</b>
<b>DANH MỤC BẢNG.....</b>	<b>iii</b>
<b>DANH MỤC HÌNH.....</b>	<b>iv</b>
<b>MỞ ĐẦU .....</b>	<b>1</b>
<b>Chương 1: TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG VỀ ĐİẾC BẨM SINH .....</b>	<b>3</b>
1.1.1. Định nghĩa về điếc bẩm sinh.....	3
1.1.2. Nguyên nhân gây điếc bẩm sinh .....	4
1.1.3. Sơ lược về giải phẫu cơ quan thính giác và sinh lý nghe.....	5
1.1.4. Chẩn đoán điếc bẩm sinh .....	8
<b>1.2. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VỀ ĐİẾC BẨM SINH.....</b>	<b>11</b>
1.2.1. Tình hình nghiên cứu nghe kém bẩm sinh trên thế giới .....	11
1.2.2. Tình hình nghiên cứu nghe kém bẩm sinh tại Việt Nam .....	12
<b>1.3. CƠ SỞ SINH HỌC PHÂN TỬ TRONG NGHIÊN CỨU BỆNH ĐİẾC BẨM SINH.....</b>	<b>13</b>
1.3.1. <i>GJB2</i> (Gap Junction Beta 2) .....	14
1.3.2. Gen <i>SLC26A4</i> (solute carrier family 26 (anion exchanger), member 4).....	16
1.3.3. Gen <i>GJB3</i> (Gap Junction Beta 3).....	17
1.3.4. Gen <i>MT-RNR1</i> .....	18
<b>Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>20</b>
<b>2.1. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHẠM VI NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>20</b>
2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng và mẫu nghiên cứu.....	20
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ .....	20
2.1.3. Thiết kế nghiên cứu.....	21
2.1.4. Địa điểm nghiên cứu: .....	21
2.1.5. Sơ đồ nghiên cứu.....	21
<b>2.2. HÓA CHẤT VÀ THIẾT BỊ .....</b>	<b>21</b>
<b>2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>22</b>
2.3.1. Thu thập đối tượng nghiên cứu .....	22
2.3.2. Thu thập và bảo quản mẫu .....	22
2.3.3. Tách chiết RNA.....	22
2.3.4. Tổng hợp cDNA .....	23

2.3.5. Thiết kế môi và thực hiện phản ứng RT-PCR.....	24
2.3.6. Phương pháp xử lý số liệu.....	25
2.3.7. PCR, tinh sạch sản phẩm PCR và giải trình tự gen <i>MT-RNR1</i> .....	25
2.3.8. Giải trình tự gen và phân tích số liệu .....	27
2.3.9. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu trong y học .....	27
<b>Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>28</b>
<b>3.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>28</b>
3.1.1. Tuổi .....	28
3.1.2. Phân bố độ tuổi chẩn đoán nghe kém và độ tuổi cấy điện cực ốc tai.....	28
3.1.3. Giới.....	32
3.1.4. Nghe kém đơn độc hay nghe kém thuộc hội chứng.....	33
3.1.5. Tiền sử bệnh của mẹ trong thai kỳ .....	34
3.1.6. Tiền sử sơ sinh và tiền sử gia đình .....	35
<b>3.2. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG.....</b>	<b>37</b>
3.2.1. Đặc điểm lâm sàng .....	37
3.2.2. Cận lâm sàng .....	40
<b>3.3. KHUẾCH ĐẠI VÀ BIỂU HIỆN CÁC GEN <i>GJB2</i>, <i>SLC26A4</i>, <i>GJB3</i>, <i>MT-RNR1</i> .....</b>	<b>43</b>
3.3.1. Tách chiết RNA tổng số.....	43
3.3.2. Phương pháp PCR.....	45
3.3.3. Biểu hiện gen.....	48
3.3.4. Giải trình tự 30 mẫu cDNA với môi 3SNP- <i>MT-RNR1</i> .....	55
<b>3.4. ĐÁNH GIÁ LIÊN QUAN GIỮA MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG ĐIỂN HÌNH TRÊN BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU VỚI YẾU TỐ GEN.....</b>	<b>59</b>
3.2.1. Mối liên quan giữa tiền sử thai kì với kết quả biểu hiện gen.....	59
3.2.2. Mối liên quan giữa tiền sử gia đình với kết quả biểu hiện gen.....	60
3.2.3. Mối liên quan giữa tiền sử gia đình với kết quả biểu hiện gen.....	60
<b>Chương 4 : KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>62</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>64</b>
<b>PHỤ LỤC .....</b>	<b>76</b>

## DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

<b>Chữ viết tắt</b>	<b>Tiếng Anh</b>	<b>Tiếng Việt</b>
ABR	Auditory brain response	Đáp ứng thính giác thân não
ASHA	Hiệp hội Nghe – Nói – Ngôn ngữ Hoa Kỳ	American Speech-Language- Hearing Association
ASSR	Auditory steady state Response	Đáp ứng trạng thái bền vững thính giác
ATP	Adenosine triphosphate	
BN		Bệnh nhân
cDNA	Complementary deoxyribonucleic acid	
CMV	Cytomegalovirus	
CNV	Copy number variation	Biến đổi số lượng bản sao
CT	Computed tomography	Chụp cắt lớp vi tính
DNA	Deoxyribonucleic acid	Acid deoxyribonucleic
DEPC-WT	diethyl pyrocarbonate treated water	
dNTP	Deoxyribonucleotide triphosphate	Deoxyribonucleotid triphosphat
ĐCÔT		Điện cực ốc tai
EVA	Enlarged vestibular aqueduct	Cổng tiền đình giãn rộng
EHDI	Early Hearing Detection and Intervention	Phát hiện và Can thiệp Thính giác sớm
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid	
FDA	Food and drug Administration	Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ
MRI	Magnetic resonance	Chụp cộng hưởng từ

	imaging	
NCBI	National center for biotechnology informarion	
NST	Chromosome	Nhiễm sắc thể
NGS	Next generation sequencing	Giải trình tự gen thế hệ mới
OAE	Otoacoustic emission	Phản xạ âm thanh (âm ốc tai)
PXCBD		Phản xạ cơ bàn đạp
PCR	Polymerase chain reaction	Phản ứng chuỗi nhờ polymeraza
SNP	Single nucleotide polymorphism	Đa hình nucleotide đơn
SNVs	Single nucleotide variants	Biến thể nucleotide đơn
TEOAE	Transient evoked otoacoustic emissions	Phản xạ âm thanh (âm ốc tai) thoáng qua
RNA	Ribonucleic acid	Acid deoxyribonucleic
RNase	Ribonuclease	



## DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1.	Phân độ mức nghe kém.....	3
Bảng 2.1.	Thành phần thực hiện tổng hợp cDNA.....	23
Bảng 2.2.	Thành phần phản ứng PCR .....	24
Bảng 2.3.	Trình tự môi được sử dụng trong phản ứng PCR để phát hiện gen đặc của các bệnh nhân xét nghiệm gen đặc. ....	24
Bảng 2.4.	Thành phần phản ứng PCR .....	26
Bảng 3.1.	Phân bố theo độ tuổi nhóm bệnh nhân cấy ĐCÔT .....	28
Bảng 3.2.	Độ tuổi chẩn đoán nghe kém.....	28
Bảng 3.3.	Tiền sử mẹ nhiễm bệnh trong thai kỳ .....	34
Bảng 3.4.	Tiền sử sơ sinh và tiền sử gia đình.....	36
Bảng 3.5.	Kết quả khám nội soi tai mũi họng .....	37
Bảng 3.6.	Đánh giá tâm lý .....	37
Bảng 3.7.	Kết quả nhĩ lượng.....	38
Bảng 3.8.	Kết quả PXCBD, TEOAE, ABR .....	38
Bảng 3.9.	PTA dựa vào ASSR .....	39
Bảng 3.10.	Hình ảnh CT cấu trúc ốc tai .....	41
Bảng 3.11.	Hình ảnh dây thần kinh số VIII trên MRI.....	42
Bảng 3.12.	Nồng độ 30 mẫu RNA tổng số được tách từ mẫu máu bệnh nhân ...	44
Bảng 3.13.	Danh sách mức độ biểu hiện gen liên quan đến đến đặc (tăng hay giảm so với gen <i>18S rRNA</i> ).....	49
Bảng 3.14.	Vị trí đột biến trên gen <i>MT-RNR1</i> trên 30 bệnh nhân.....	55
Bảng 3.15.	Mối liên quan giữa tiền sử thai kỳ và kết quả biểu hiện gen <i>GJB2, SLC26A4, GJB3, MT-RNR1</i> .....	59
Bảng 3.16.	Mối liên quan giữa tiền sử gia đình và kết quả biểu hiện gen <i>GJB2, SLC26A4, GJB3, MT-RNR1</i> .....	60
Bảng 3.17.	Mối liên quan giữa tiền sử bệnh nhân và kết quả biểu hiện gen <i>GJB2, SLC26A4, GJB3, MT-RNR1</i> .....	60

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Sơ đồ các nguyên nhân gây điếc bẩm sinh .....	4
Hình 1.2.	Giải phẫu tai.....	5
Hình 1.3.	Mê nhĩ xương.....	7
Hình 1.4.	Tiết diện cắt ngang qua ốc tai .....	7
Hình 1.5.	Sơ đồ NST 13 và vị trí của gen GJB2.....	14
Hình 1.6.	Sơ đồ NST 7 và vị trí của gen SLC26A4 .....	16
Hình 1.7.	Sơ đồ NST 1 và vị trí của gen GJB3.....	17
Hình 1.8.	Sơ đồ và vị trí của gen MT-RNR1.....	18
Hình 3.1.	Độ tuổi cây ĐCOT của 30 bệnh nhân.....	29
Hình 3.2.	Phân bố của đối tượng nghiên cứu theo giới .....	32
Hình 3.3.	Nghe kém đơn độc hay nghe kém thuộc hội chứng .....	33
Hình 3.4.	Kết quả điện di 30 mẫu RNA tổng số trên gel agarose 1.5%.....	43
Hình 3.5.	Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL1 đến HL15 với với cặp mồi 18S rRNA.....	45
Hình 3.6.	Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL16 đến HL30 với với cặp mồi 18S rRNA.....	45
Hình 3.7.	Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL1 đến HL15 với với cặp mồi GJB2.....	46
Hình 3.8.	Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL16 đến HL30 với với cặp mồi GJB2.....	46
Hình 3.9.	Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL1 đến HL15 với với cặp mồi SLC26A4 .....	46
Hình 3.11.	Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL1 đến HL15 với với cặp mồi MT-RNR1 .....	47
Hình 3.12.	Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL16 đến HL30 với với cặp mồi MT-RNR1 .....	47
Hình 3.13.	Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL1 đến HL15 với với cặp mồi GJB3.....	48

Hình 3.14. Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL16 đến HL30 với với cặp mồi GJB3.....	48
Hình 3.15. Kết quả điện di sản phẩm PCR 30 mẫu HL với với các cặp mồi. ....	49
Hình 3.16. Biểu hiện của gen GJB2 so với gen đối chứng 18S rRNA.....	51
Hình 3.17. Biểu hiện của gen GJB3 so với gen đối chứng 18S rRNA.....	52
Hình 3.18. Biểu hiện của gen SLC26S4 so với gen đối chứng 18S rRNA ...	53
Hình 3.19. Biểu hiện của gen MT-RNR1 so với gen đối chứng 18S rRNA ....	54
Hình 3.20. Vị trí tham chiếu 3 SNP trên 30 mẫu bệnh nhân.....	56
Hình 3.21. Vị trí 1438 đột biến A thành G ở 30 mẫu bệnh nhân. ....	57
Hình 3.22. Vị trí đột biến của mẫu HL10 và HL26.....	57
Hình 3.23. Vị trí đột biến của mẫu HL21 .....	58
Hình 3.24. Vị trí đột biến trên mẫu HL4 và HL12 .....	58
Hình 3.25. Vị trí đột biến trên mẫu HL25 .....	59

## MỞ ĐẦU

Điếc bẩm sinh là khiếm khuyết thường gặp về khả năng nghe. Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO - World Health Organization), trên thế giới có hơn 1,5 tỷ người (khoảng 20% dân số toàn cầu) sống chung với tình trạng mất thính lực, trong đó 34 triệu là trẻ em [1], tỉ lệ điếc trung bình ở trẻ là 1,1/1000 [2], [3].

Trẻ em bị điếc nặng và sâu sẽ không tiếp nhận được âm thanh do đó thường bị câm. Tình trạng nghe kém này nếu không được chẩn đoán và can thiệp sớm nhằm phục hồi chức năng nghe nói thì sẽ ảnh hưởng nghiêm trọng tới sự phát triển ngôn ngữ, tư duy, khả năng giao tiếp, học tập thậm chí dẫn đến những rối loạn về tâm lý, nhân cách của trẻ từ đó gây ra gánh nặng lớn cho gia đình và toàn xã hội. Tổ chức WHO ước tính rằng tình trạng mất thính lực nếu không được giải quyết sẽ gây thiệt hại cho nền kinh tế toàn cầu khoảng 980 tỷ đô la Mỹ hàng năm cho chi phí y tế (không bao gồm chi phí cho máy trợ thính), chi phí hỗ trợ giáo dục và chi phí trợ cấp xã hội [4],[5].

Phẫu thuật cấy điện cực ốc tai (ĐCÔT) là bước ngoặt lớn trong lịch sử y học hiện đại, đây là giải pháp can thiệp cuối cùng và hiệu quả nhất hiện nay đối với trẻ điếc bẩm sinh, giúp phục hồi thính giác gần như bình thường, từ đó trẻ có thể nghe, nói, giao tiếp và học tập như các bạn cùng trang lứa. Tuy nhiên, do nhiều yếu tố đặc biệt là chi phí cho thiết bị lớn nên số lượng trẻ được phẫu thuật còn rất hạn chế. Trẻ em điếc bẩm sinh thường được sinh ra bởi bố mẹ có thính lực bình thường [6]. Trong những năm gần đây, bên cạnh việc chẩn đoán nghe kém trên lâm sàng việc xác định nguyên nhân gây điếc bẩm sinh bằng các kỹ thuật sinh học phân tử đã giúp ích rất nhiều trong việc chẩn đoán sớm ngay từ thời kì bào thai hoặc sơ sinh từ đó giúp gia đình trẻ dự phòng được phương án điều trị tối ưu trong tương lai [7], [8].

Trên thế giới, một số nghiên cứu mới đây cho thấy có khoảng hơn 200 gen đột biến liên quan tới điếc bẩm sinh [9]. Có 4 gen *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3*, *MT-RNR1* là hay gặp trong số 18 gen gây nghe kém phổ biến [10]. Đột biến ở

gen *MT-RNR1* (gen này mã hóa cho 12S rRNA) làm cho ribosome của ty thể giống với ribosome vi khuẩn, từ đó làm tăng nhạy cảm với kháng sinh nhóm aminoglycoside [11]. Đây là một kháng sinh có hiệu quả trong điều trị nhiễm khuẩn nhất là nhiễm khuẩn vùng tai mũi họng, có giá thành rẻ nên đang được kê đơn phổ biến tại các hiệu thuốc trên toàn quốc. Tuy nhiên, khi trẻ mang đột biến gen này sử dụng thuốc có khả năng suy giảm thính lực vì gây tổn thương nghiêm trọng tới tế bào lông trong ốc tai và thần kinh thính giác. Việc phát hiện sớm đột biến gen này giúp dự phòng khiếm thính bẩm sinh trên những bệnh nhân có chỉ định điều trị bằng kháng sinh nhóm aminoglycoside như gentamycin, neomycin, kanamycin.

Hiện nay, có rất ít nghiên cứu đánh giá về biểu hiện của cùng 4 gen này trên trẻ bị điếc bẩm sinh, đặc biệt là vai trò của đột biến điểm ở gen di truyền theo dòng mẹ *MT-RNR1* với những trẻ có nguy cơ cao. Vì vậy, để tìm hiểu rõ hơn về mức độ biểu hiện của bốn gen *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3*, *MT-RNR1* và vai trò của các đột biến điểm 1555A>G, 1494C>T của gen *MT-RNR1* trong chẩn đoán sớm điếc bẩm sinh cũng như dự phòng khiếm thính cho trẻ khi dùng kháng sinh nhóm aminoglycoside chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và biểu hiện của các gen *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3*, *MT-RNR1* ở trẻ điếc bẩm sinh có chỉ định cấy điện cực ốc tai” nhằm các mục tiêu:

- Mô tả đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở các trẻ em điếc bẩm sinh có chỉ định cấy điện cực ốc tai.
- Mô tả biểu hiện của các gen *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3*, *MT-RNR1* và các đột biến điểm 1555A>G, 1494C>T của gen *MR-RNR1* ở trẻ điếc bẩm sinh có chỉ định cấy điện cực ốc tai.

## Chương 1: TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

### 1.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG VỀ ĐIẾC BẨM SINH

#### 1.1.1. Định nghĩa về điếc bẩm sinh

Điếc bẩm sinh là tình trạng khiếm khuyết về khả năng nghe ngay từ khi mới được sinh ra.

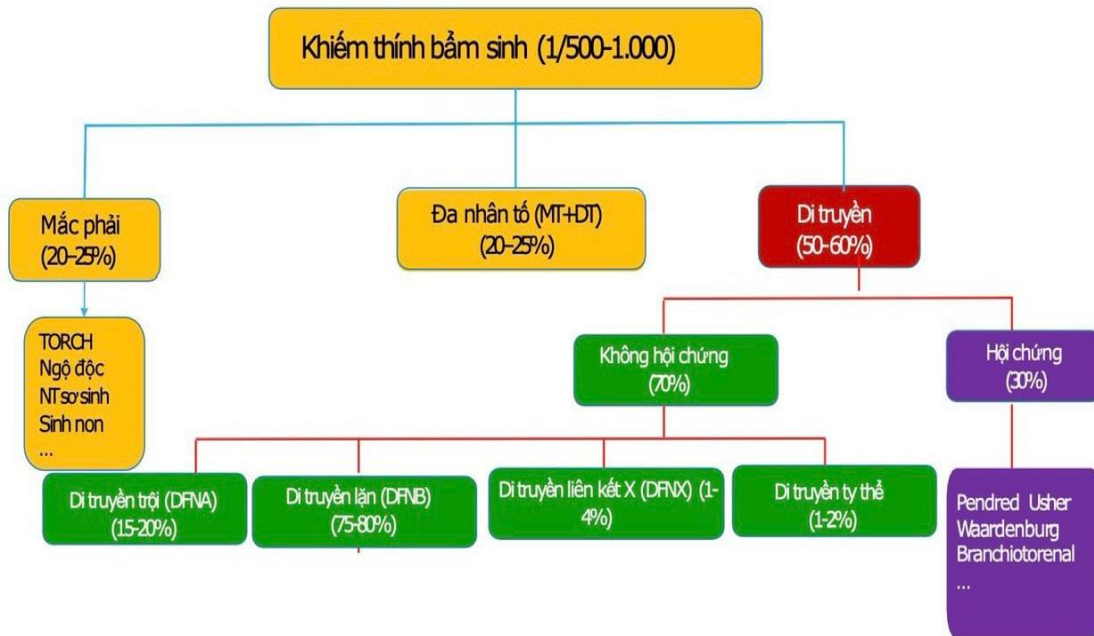
Chỉ số PTA (Pure Tone Average) còn gọi là ngưỡng nghe trung bình của đường khí ở 3 tần số 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz đơn vị là dB (decibel).

Theo hiệp hội thính học và tiền đình Hoa Kỳ nghe kém được chia thành các mức độ theo bảng sau:

**Bảng 1.1.** Phân độ mức nghe kém [12]

Mức độ nghe kém	PTA (dB)	Ảnh hưởng
Bình thường	10 – 15	Giao tiếp tốt
Rất nhẹ	16 – 25	Ít ảnh hưởng trong giao tiếp
Nhẹ	26 – 40	Nghe khó trong môi trường ồn, với âm thanh trường ồn, với âm thanh nhỏ và nghe kéo dài sẽ gây mệt mỏi
Trung bình	41 – 55	Gặp khó khăn trong phát triển ngôn ngữ và giọng nói
Trung bình nặng	56 – 70	Rất ảnh hưởng tới quá trình phát triển ngôn ngữ, ở các cuộc hội thoại thông thường nghe rất khó khăn
Nặng	71 – 90	ảnh hưởng nghiêm trọng tới việc phát triển ngôn ngữ, giọng nói bị ngọng, vốn từ rất ít và trong các cuộc hội thoại thông thường hoàn toàn không nghe được
Sâu	Từ 91 trở lên	không có khả năng nghe và học nói từ đó dẫn tới câm bất buộc phải có hỗ trợ của thiết bị trợ thính hoặc điện cực ốc tai (ĐCÔT)

### 1.1.2. Nguyên nhân gây điếc bẩm sinh



**Hình 1.1.** Sơ đồ các nguyên nhân gây điếc bẩm sinh [5]

Nguyên nhân gây điếc bẩm sinh được chia thành ba nhóm chính (Hình 1.1), do di truyền (đột biến gen) chiếm hơn 50%, 50% còn lại do các nguyên nhân mắc phải và đa nhân tố (do mắc phải và do di truyền kết hợp) [5].

Điếc bẩm sinh là một bệnh đa gen nghĩa là do nhiều đột biến ở các gen khác nhau gây ra, điều này không giống với đa số các bệnh lý khác thường chỉ do các đột biến ở chung một gen quy định.

Ở nguyên nhân di truyền, điếc thần kinh giác quan do hội chứng chiếm khoảng 30% trường hợp như các hội chứng Pendred, Usher, Waardenburg, Branchiotorenal (hội chứng khe – mang - thận). Còn chiếm số lượng nhiều hơn là điếc không hội chứng với 70% trường hợp. Trong đó, có khoảng 75-80% gen liên quan đến di truyền trên nhiễm sắc thể (NST) thường dạng lặn, gen di truyền trên NST thường dạng trội khoảng 15-20%, còn lại là gen di truyền liên kết với giới tính X dạng lặn và di truyền ngoài nhân trên ti thể (di truyền theo dòng mẹ) [13].

Một vài nghiên cứu gần đây trên thế giới cho thấy liên quan đến điếc bẩm sinh có khoảng hơn 200 gen bị đột biến trong đó điếc có hội chứng và điếc không có hội chứng do 156 gen; 56 gen gây ra điếc không hội chứng [13]. Mặt

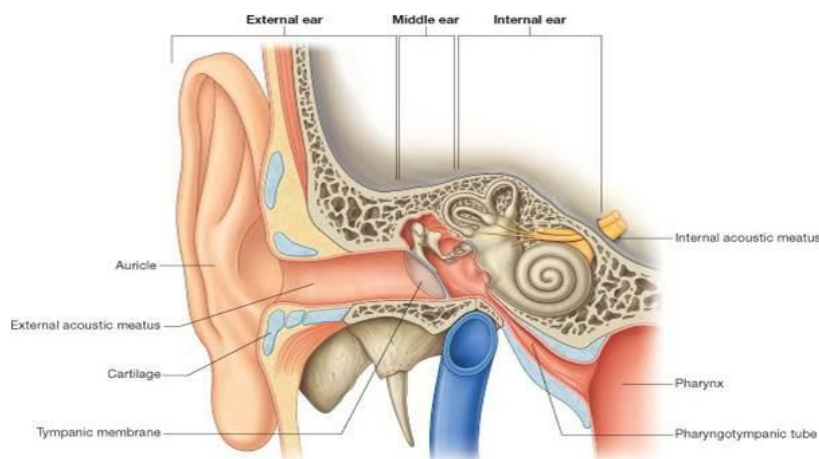
khác, các gen và đột biến này đối với từng khu vực, quốc gia hay dân tộc khác nhau lại mang tính đặc thù do đó khi tiến hành sàng lọc nên tập trung vào một số đột biến hay gặp đối với mỗi cộng đồng riêng [14].

Nguyên nhân gây điếc bẩm sinh khác không phải do di truyền chiếm tỷ lệ 15-20%. Tiền sử mang thai của mẹ và tiền sử sơ sinh có thể liên quan đến nghe kém ở trẻ em. Tiền sử này có thể bao gồm một hoặc một vài yếu tố như: Trẻ sinh non, nhẹ cân, trẻ phải hỗ trợ thông khí (để giúp thở hơn 10 ngày sau khi sinh), trẻ bị vàng da sơ sinh và các vấn đề về yếu tố Rh. Mẹ bị nhiễm trùng khi mang thai (Rubella, quai bị, cytomegalovirus (CMV), toxoplasmosis virus herpes simplex...), sử dụng thuốc điều trị có thể gây mất thính giác như một số kháng sinh độc cho tai và một số chất hoá trị liệu, sử dụng một số chất kích thích khi mang thai, mẹ bị tiểu đường, huyết áp cao khi mang thai. Hoặc tiền sử gia đình có người bị mất thính lực.

Nguyên nhân gây nghe kém bẩm sinh đa nhân tố do sự kết hợp của yếu tố di truyền và môi trường chiếm tỷ lệ còn lại. Ví dụ điển hình cho trường hợp này là ở những người mang đột biến DNA ty thể trong gen *12S RNA*, chẳng hạn m.1555A>G và m.1494C>T. Việc sử dụng kháng sinh nhóm aminoglycoside để điều trị bệnh lý nhiễm khuẩn từ đó có thể gây ra hoặc làm trầm trọng hơn tình trạng giảm thính lực [15].

### 1.1.3. Sơ lược về giải phẫu cơ quan thính giác và sinh lý nghe

#### 1.1.3.1. Sơ lược giải phẫu cơ quan thính giác [16], [17]



© Elsevier. Drake et al: Gray's Anatomy for Students - www.studentconsult.com

**Hình 1.2.** Giải phẫu tai [16]



**\* Cấu tạo của tai gồm có ba phần (Hình 1.2):**

- Tai ngoài: có vành tai và ống tai ngoài để hứng âm thanh, khu trú và khuếch đại âm thanh.

- Tai giữa: gồm có màng tai, chuỗi xương con, tế bào xương chũm và vòi nhĩ Eustachian làm nhiệm vụ dẫn truyền âm thanh.

- Tai trong: gồm có ốc tai phụ trách chức năng nghe và tiền đình có các ống bán khuyên, cầu nang và soan nang làm nhiệm vụ giữ thăng bằng cho cơ thể.

Nhờ cấu tạo đặc biệt gồm ba phần đã giúp tai đảm nhiệm được chức năng nghe bao gồm hệ thống truyền âm (tai ngoài, tai giữa đảm nhiệm), hệ thống tiếp âm (do tai trong đảm nhiệm) và chức năng thăng bằng.

**Cấu tạo của tai trong (Hình 1.3):**

Tai trong nằm giữa hòm nhĩ và ống tai trong trong xương đá, gồm có 2 phần là mê nhĩ xương và mê nhĩ màng.

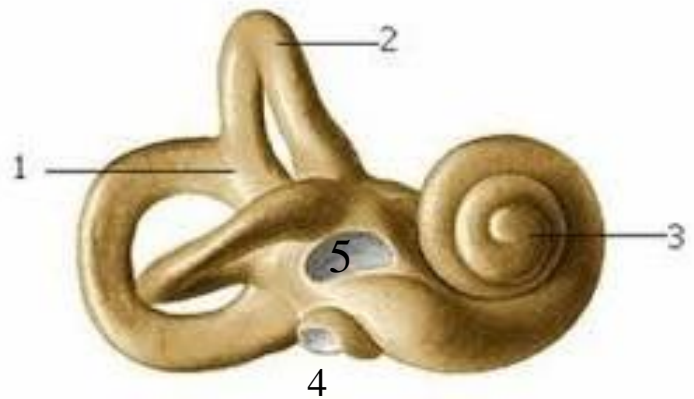
**\*Mê nhĩ xương:** đây là khối xương rỗng với cấu trúc phức tạp có 3 phần:

- Tiền đình xương: là hốc rỗng xoắn thẳng đứng với trục xương đá có 6 mặt, chứa mê nhĩ màng (gồm soan nang và cầu nang).

- Ống bán khuyên xương: gồm có ống bán khuyên trên, ống bán khuyên sau và ống bán khuyên ngoài. Ống bán khuyên xương chứa mê nhĩ màng gồm có các ống bán khuyên màng.

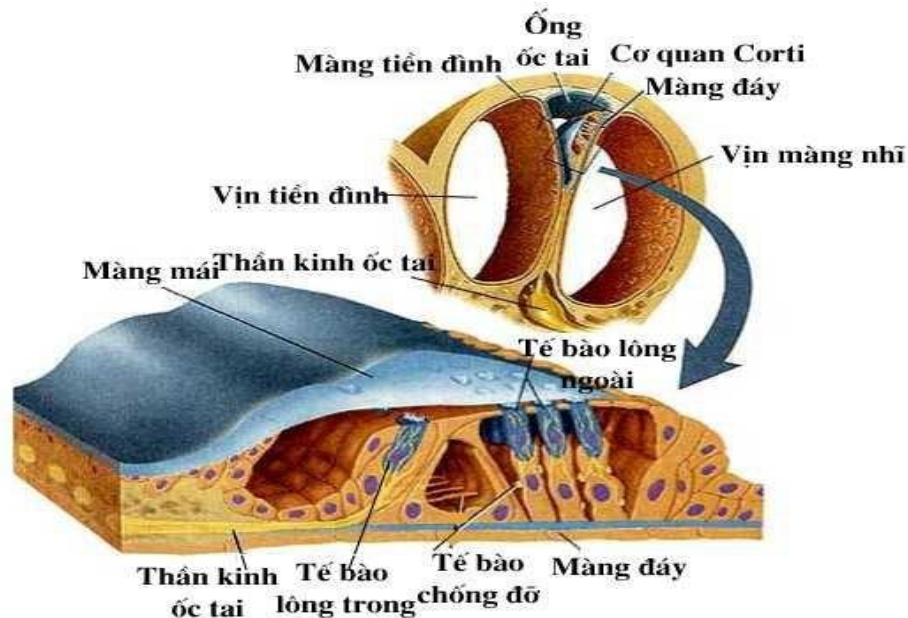
- Ốc tai xương: có hình dạng giống như vỏ con ốc sên nằm ở phía trước của tiền đình, xoắn 2 vòng rưỡi, vòng xoắn đầu tiên lồi vào trong thành trong của hòm nhĩ tạo thành ụ nhô. Cửa sổ tròn với màng ngăn cách vụn nhĩ - hòm tai, cửa sổ bầu dục là vị trí lấp của đế xương bàn đạp truyền những rung động của chuỗi xương con từ tai giữa vào tới tai trong.

- 1 . Ống bán khuyên trên
- 2 . Ống chung của ống bán khuyên trên và ống bán khuyên sau
- 3 . Ốc tai xương
- 4 . Cửa sổ tròn
- 5 . Cửa sổ bầu dục



**Hình 1.3.** Mê nhĩ xương [17]

\* **Mê nhĩ màng:** vị trí ở bên trong mê nhĩ xương.



**Hình 1.4.** Tiết diện cắt ngang qua ốc tai [17]

Thành trong của mê nhĩ màng gồm 2 lớp: lớp ngoài là tổ chức liên kết, lớp trong là tổ chức biểu mô. Mê nhĩ màng bao gồm 3 phần: Tiền đình màng, ống bán khuyên màng và ốc tai màng (Hình 1.4).

Ở tai trong, âm thanh được truyền từ môi trường không khí, qua môi trường nước (nội dịch và ngoại dịch) đã mất đi 99% năng lượng. Như vậy chỉ còn 1% năng lượng được truyền đi tương đương cường độ bị giảm 30dB. Nhưng do hệ thống màng nhĩ và chuỗi xương con ở tai giữa có tác dụng như

một máy biến thế đã bù trừ giúp. Vì vậy, chúng ta vẫn nghe được đúng với cường độ thực ở bên ngoài.

Tổn thương ở tai trong có thể gây ra nghe kém nặng, thậm chí tới nghe kém hoàn toàn. Nghe kém tai trong là nghe kém dạng tiếp nhận.

### **1.1.3.2. Sinh lý truyền âm**

- **Tai ngoài:** Thu nhận sóng âm tới màng tai giúp cộng hưởng tăng cường lực của sóng âm 2000 Hz đến 3000 Hz gấp 3 lần.

- **Tai giữa:** Màng tai sau khi tiếp nhận sóng âm sẽ chuyển dao động âm thành các rung động cơ học. Sau đó chuyển các rung động này qua chuỗi xương con (xương búa, xương đe, xương bàn đạp) tới ốc tai qua cửa sổ bầu dục. Tại đây cường độ âm được tăng thêm 1,5 lần.

- **Tai trong:** Dịch lỏng bên trong ốc tai chuyển động kích thích các tế bào lông tạo ra xung điện và truyền tới dây thần kinh thính giác rồi đi đến 2 bộ phận của tai trong có chức năng truyền âm là: các dịch chủ yếu là ngoại dịch của loa đạo; màng đáy.

### **1.1.4. Chẩn đoán điếc bẩm sinh**

Hiện nay, chẩn đoán điếc bẩm sinh trên lâm sàng dựa vào nội soi tai mũi họng, đánh giá chức năng nghe và chẩn đoán hình ảnh.

#### **1.1.4.1. Chẩn đoán dựa vào khám lâm sàng [18]**

\* Nội soi tai mũi họng giúp kiểm tra loại trừ những viêm nhiễm, dị tật bẩm sinh vùng tai mũi họng.

\* Đo âm ốc tai OAE (*Otoacoustic Emission*) [18]

- Phép đo OAE có vai trò trong việc sàng lọc nghe kém bẩm sinh, nhất là đối với trẻ sơ sinh. Nếu có vấn đề về thính giác kết quả sẽ cho là REFER.

- Ứng dụng khác của đo OAE: giúp loại trừ tổn thương sau ốc tai trong trường hợp âm ốc tai bình thường nhưng bệnh nhân nghe kém nặng thì có thể do có tổn thương sau ốc tai.

- Độ chính xác: 80 – 85%; trong các trẻ được chẩn đoán là thính lực bình thường sẽ có tỷ lệ sai sót là 0,15%, sai số 0,17-0,18%.

\* Đo đáp ứng thính giác thân não ABR (Auditory Brain Response) [18]

- Ứng dụng: Xác định ngưỡng nghe khách quan vào cường độ nhỏ nhất làm xuất hiện sóng V.

- Chẩn đoán tổn thương sau ốc tai mà phép đo OAE chưa làm được, bệnh lý thần kinh vùng thân não (bởi vì phép đo ABR giúp đánh giá chức năng của dây thần kinh thính giác).

\* Đo đáp ứng trạng thái bền vững thính giác ASSR (Auditory Steady State Response) [18]

- Mục đích của nghiệm ASSR là:

- Xác định ngưỡng nghe khách quan của trẻ một cách chính xác không phụ thuộc vào trạng thái, ý thức của người đo, lứa tuổi hay mức độ giảm thính lực.
- Xác định độ nhạy của thính giác ở các ngưỡng nghe vượt quá giới hạn cho phép ở các nghiệm pháp OAE, ABR. Vì vậy, nghiệm pháp ASSR giúp đánh giá các trẻ nghe kém ở mức độ từ nặng đến rất nặng (ngưỡng nghe từ 90 dB trở lên).

\* Đo nhĩ lượng [18]

- Ứng dụng: giúp đánh giá trở kháng của hệ thống màng nhĩ, chuỗi xương con và áp lực của tai giữa. Hình thái nhĩ lượng có ý nghĩa quan trọng đối với các trường hợp có chỉ định cấy ĐCÔT.

\* Phản xạ gân cơ bàn đạp (PXGCBD): có vai trò trong việc loại trừ các trường hợp có thính lực bình thường

+ Nếu có PXGCBD: có thể bệnh nhân có sức nghe bình thường, không nghe kém nặng hoặc chỉ nghe kém mức độ nhẹ tới trung bình.

+ Nếu không có PXGCBD: không đánh giá được sức nghe. Tuy nhiên điều này không có nghĩa là nghe kém vì có khoảng 10% người không có PXGCBD nhưng sức nghe ở mức bình thường.

\* Tóm lại các đặc điểm lâm sàng để chẩn đoán điếc bẩm sinh gồm [18]

- Khám lâm sàng: hình ảnh nội soi tai mũi họng bình thường. Không có

các dị dạng tai ngoài, tai giữa.

- Đo OAE: REFER – không có đáp ứng, nghi ngờ có nghe kém
- Đo ABR: không thấy xuất hiện các sóng khi kích thích âm ở tần số  $\geq 90\text{dB}$
- Đo ASSR: Cho biết mức độ nghe kém của từng tai đồng thời cũng có

giá trị và độ chính xác của ABR.

#### ***1.1.4.2. Chẩn đoán dựa vào đặc điểm cận lâm sàng***

##### **\* Chụp cắt lớp vi tính xương thái dương [19]**

- Khảo sát tình trạng của tai giữa, xương chũm trước phẫu thuật.
- Khảo sát dây thần kinh mặt dây số VII: để tránh biến chứng sau phẫu thuật

- Khảo sát vịnh tĩnh mạch cảnh
- Khảo sát cửa sổ tròn
- Khảo sát cấu trúc của tai trong:
  - Ốc tai: về hình dạng, kích thước và số vòng.
  - Khảo sát ống tai trong: Kích thước bình thường từ 4 - 8mm, nhỏ hơn 2mm là hẹp.

**\* Chụp cộng hưởng từ MRI xương thái dương [20].** Đây là phương pháp tốt nhất nhằm khảo sát mảnh sàng vị trí hố ốc tai.

- Khảo sát dây thần kinh ốc tai: hình dạng, có hay không có, bình thường hay dạng mảnh.

- Khảo sát bất thường của tiền đình, ốc tai để đánh giá mức độ tổn thương có nên quyết định có phẫu thuật cấy ĐCOT cho bệnh nhân hay không.

- Khảo sát mức độ xơ hóa, vôi hóa, tình trạng hẹp và vị trí hẹp của vịnh nhĩ, vịnh tiền đình.

- Khảo sát thành phần của ống tai trong: dây thần kinh mặt, dây tiền đình trên, dây thần kinh tiền đình dưới, dây thần kinh ốc tai. Đánh giá tình trạng chung của não: thoái hóa chất trắng, giãn não thất hay các bất thường khác.

Như vậy, thăm dò chức năng bằng các test thính học kết hợp với chẩn đoán hình ảnh giúp đánh giá toàn diện từ đó định hướng chính xác giải pháp,

lựa chọn loại điện cực cây và tiên lượng kì vọng phù hợp cụ thể cho từng trường hợp điếc bẩm sinh.

#### ***1.1.4.3. Chẩn đoán dựa vào kỹ thuật sinh học phân tử***

Chẩn đoán xác định nguyên nhân điếc bẩm sinh bằng kỹ thuật sinh học phân tử có nhiều phương pháp như xác định biến đổi di truyền của các gen đơn lẻ bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự Sanger [21], [22] hoặc giải trình tự toàn bộ hệ gen bằng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (Next Generation Sequencing- NGS) để xác định và đánh giá các biến thể nucleotide đơn (SNVs), đa hình nucleotide đơn (SNPs), thay đổi cấu trúc vùng mã hóa protein của bộ gen (Indel calling), biến đổi số lượng bản sao (CNV), chú thích biến thể (Variant annotation), các vùng có giá trị tương đồng cao (Interfering highly homologous regions), lọc biến thể, giải thích, phân loại và giá trị trong chẩn đoán (Variant filtering, interpretation, classification and diagnostic yield), xác thực biến thể (Variant validation), phạm vi có thể báo cáo, tham chiếu của các biến thể (Reportable range, Reference range) [23]. Với sự hỗ trợ của các kỹ thuật sinh học phân tử đã đưa đến một cách tiếp cận toàn diện, chi tiết về các gen di truyền của điếc bẩm sinh, từ đó chẩn đoán điếc di truyền sẽ trở thành một mô hình trong lĩnh vực nâng cao y học chính xác. Kỹ thuật NGS hỗ trợ rất lớn cho quá trình thực hành lâm sàng, tăng hiệu suất chẩn đoán di truyền điếc bẩm sinh lên 50–60%, cải thiện độ chính xác chẩn đoán/tiên lượng, tư vấn sinh sản và tiết lộ các hội chứng chưa được chẩn đoán liên quan đến lâm sàng. Giảm chi phí và tăng chất lượng giúp mang lại cho lĩnh vực lâm sàng những lợi thế của xét nghiệm gen điếc bẩm sinh, dự đoán và phòng ngừa.

### **1.2. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VỀ ĐIẾC BẨM SINH**

#### **1.2.1. Tình hình nghiên cứu nghe kém bẩm sinh trên thế giới**

Vào năm 2012, thông qua hơn 40 nghiên cứu về dân số toàn cầu, Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) đã thống kê về mức độ phổ biến của tình trạng giảm thính lực. Cụ thể là trên thế giới có 360 triệu người có vấn đề về nghe kém (tương đương với 5.3% dân số). Trong số đó, 328 triệu người (91%) trong độ tuổi trưởng thành (183 triệu là nam giới, 145 triệu là nữ giới) số còn lại chiếm 32 triệu người (9%)

toàn bộ là trẻ em [4]. Tỷ lệ trẻ em khiếm thính cao nhất là vùng Nam Á chiếm 2,4% (12,3 triệu trẻ), tiếp đến là vùng châu Á Thái Bình Dương chiếm 2,0% (3,4 triệu trẻ) và thứ ba là ở châu Phi Saharan chiếm 1,9% (6,8 triệu trẻ) [4].

Đối với điếc bẩm sinh việc phát hiện và chẩn đoán sớm cho trẻ em nắm vai trò then chốt trong tiên lượng và định hướng điều trị. Trong khoảng hai thập kỉ trở lại đây nghiên cứu chẩn đoán tìm nguyên nhân điếc bẩm sinh do đột biến gen đang được quan tâm. Theo Glenn E. Green và cộng sự (1999) nghiên cứu với những người điếc tại miền Trung Tây Hoa Kỳ cho thấy tần số đột biến *GJB2* là 42%, trong đó đột biến 35delG chiếm 29/41 alen đột biến. Tỷ lệ đột biến 35delG ở trẻ sơ sinh bình thường được sàng lọc là 2,5% [24]. Nghiên cứu của Minarik G và cộng sự (2003) tại Slovak Caucasian đã phát hiện ra tần số đột biến 35delG ở bệnh nhân điếc không hội chứng là 50%, trong đó đột biến 333-334delAA là 0,91% và đột biến W24X là 0% [25]. Nghiên cứu của Satoko và cộng sự (2000) cũng cho thấy rằng đối với bệnh nhân điếc không hội chứng ở Nhật Bản nguyên nhân phổ biến nhất là đột biến gen *GJB2* và đột biến c.235delC thường gặp nhất (73%) [26]. Nghiên cứu của Du W (2014) nhằm mục đích điều tra phổ đột biến của các gen *GJB2*, *12S rRNA* ti thể và *SLC26A4* ở bệnh nhân mất thính lực thần kinh giác quan ở phía tây bắc Trung Quốc đã cho thấy số đột biến của ba gen gây bệnh lần lượt của người Hán, người Hồi và các dân tộc Duy Ngô Nhĩ là 34,05%, 27,47% và 14,44% [27]. Nghiên cứu năm 2005 của Santos tại Pakistan về tỷ lệ đột biến gen gây nghe kém không hội chứng do *TMC1* là 4.4% [28]. Wei (2013) cũng đã tiến hành nghiên cứu tại Giang Tô, Trung Quốc, phát hiện tần số đột biến của gen *GJB2* là 24.92% trong đó đột biến thường gặp nhất là c.235delC (15.5%), rồi đến c.35delG (0.30%), c.176del16 (3.19%) và c.299delAT (4.71%) [29].

### **1.2.2. Tình hình nghiên cứu nghe kém bẩm sinh tại Việt Nam**

Theo số liệu thống kê của Tổng cục dân số trung bình mỗi năm Việt Nam có khoảng 1,4-1,5 triệu trẻ ra đời, tỷ lệ trẻ khiếm thính vĩnh viễn là 0,3-0,5%, như vậy mỗi năm có thêm trung bình 5.000 trẻ khiếm thính [4]. Thống kê từ

một số nghiên cứu với quy mô nhỏ ở Việt Nam đã cho kết quả cụ thể như sau: Đánh giá của Nguyễn Tuyết Xương và cộng sự trên những trẻ tiền học đường sinh sống ở Hà Nội độ tuổi từ 2-5, trẻ em nghe kém các mức độ khác nhau chiếm 4,4% [30]. Nguyễn Tuyết Xương và cộng sự tiến hành nghiên cứu khám sàng lọc thính lực cho trẻ em tại Hà Nội năm 2011 với 7120 trường hợp bằng test OAE thì trẻ có bất thường về thính lực chiếm 3.5%, trong đó ở trẻ trai 3,7% còn tỷ lệ này ở trẻ gái là 3.3% [31]. Tại Hà Nội, năm 2015, Bệnh viện Phụ sản Hà Nội đã tiến hành khám sàng lọc thính lực cho 38.331 trẻ sơ sinh, trong số đó có 688 ca có vấn đề về nghe (1.5%); trên thực tế tỷ lệ này có thể tăng thêm trong quá trình phát triển đến độ tuổi trưởng thành. Tại Việt Nam, tình hình nghiên cứu ở cấp độ phân tử về đột biến gen nghe kém cũng như mối liên quan giữa đột biến gen với bệnh điếc bẩm sinh vẫn còn nhiều hạn chế và mới chỉ tiến hành những năm gần đây. Nguyễn Thuỳ Dương và cộng sự (2015), đã phát hiện thấy tỷ lệ đột biến c.235delC của gen *GJB2* là 3,95% [32]. Nghiên cứu của Cao Minh Thành và cộng sự (2021) cho thấy đột biến gen ở nhóm trẻ em nghe kém có tỷ lệ là 30%, trong đó đột biến gen *GJB2* chiếm tỷ lệ cao nhất (16%) trong 6 gen được khảo sát là *GJB2*, *SLC26A4*, *TMC1*, *12S-rARN*, *MT-TH*, *MT-TL1* [33]. Nghiên cứu của Trần Phan Chung Thủy và cộng sự (2023) đề cập đến tỷ lệ đột biến gen *GJB2* cao (25,8%) là yếu tố gây mất thính lực ở bệnh nhân được chẩn đoán điếc bẩm sinh không do hội chứng tại Bệnh viện Tai mũi họng Thành phố Hồ Chí Minh [34].

### **1.3. CƠ SỞ SINH HỌC PHÂN TỬ TRONG NGHIÊN CỨU BỆNH ĐIẾC BẨM SINH**

Trên thế giới đã nghiên cứu gần 200 gen liên quan đến khiếm thính bẩm sinh [9]. Ở Việt Nam, các nghiên cứu đã cho thấy 4 gen thường gặp nhất ở bệnh nhân xét nghiệm gen điếc là: *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3*, *MT-RNR1* [10]. Những trẻ mang đột biến trên 4 gen này sẽ mất thính giác ngay từ khi sinh ra hoặc xuất hiện trong quá trình phát triển tới tuổi trưởng thành, hoặc sẽ bị mất thính giác khi sử dụng một số loại dược phẩm đặc biệt [11]. Ở người lớn, tỷ lệ khiếm thính di truyền được ước tính là khoảng 3,2/1000. Một số gen DNA ty thể (mtDNA),

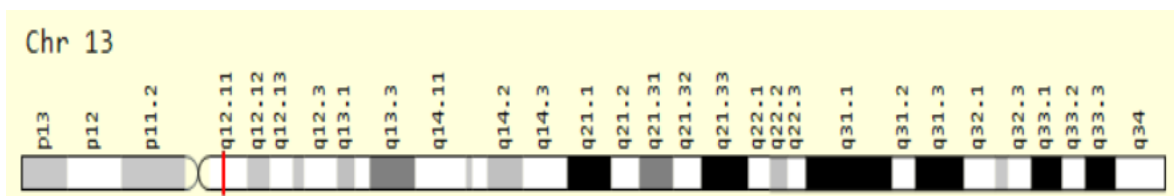


như 12S rRNA, tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> và tRNA<sup>Ser(UCN)</sup>, được biết đến là nguyên nhân gây mất thính giác di truyền.

Một số nghiên cứu gần đây đã cho thấy vai trò của các gen *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3* và *MT-RNR1* đối với điếc bẩm sinh di truyền. Theo một nghiên cứu ở Hàn Quốc, gen gây bệnh phổ biến nhất của các gia đình khiếm thính nặng đến sâu là *SLC26A4*, sau đó là *GJB2*. Gen gây bệnh di truyền trên nhiễm sắc thể thường dạng trội là *GJB3*. Gen gây bệnh di truyền trên các nhiễm sắc thể thường dạng lặn bao gồm *GJB2* và *SLC26A4*. Các đột biến gây bệnh của gen *MRNR1* di truyền theo dòng mẹ. Nghiên cứu này cũng đưa ra bằng chứng cho thấy với đột biến của các gen như *GJB2*, *SLC26A4*, đột biến gen ty thể thì giải pháp cấy điện cực ốc tai sẽ cho tiên lượng rất tốt [35]. Ngoài ra, nghiên cứu của Lustig LR và cộng sự cũng đánh giá mức độ hiệu quả của can thiệp điện cực ốc tai trên bệnh nhân khiếm thính mang đột biến *GJB2*, kết quả cho thấy bệnh nhân sẽ có khả năng hồi phục thính giác tốt sau khi được cấy điện cực ốc tai [36], [37].

Trong hầu hết các nghiên cứu, tỷ lệ mất thính lực ở những người mang đột biến gen *MT-RNR1* sau khi sử dụng aminoglycoside là 100%. Tuy nhiên, thời gian bắt đầu giảm thính lực sau khi điều trị bằng aminoglycoside vẫn chưa rõ ràng. Trong khi một số người bị mất thính lực nặng hoặc sâu ngay sau khi điều trị, những người khác bị mất thính lực sau đó vài tháng nhưng vẫn có những người bị điếc tiến triển trong thời gian nhiều năm [38], [39].

### 1.3.1. *GJB2* (Gap Junction Beta 2)



**Hình 1.5.** Sơ đồ NST 13 và vị trí của gen *GJB2*

*GJB2* nằm trên cánh dài của NST 13, băng 1 vùng 2, vùng phụ 11 (13q12.11). *GJB2* (Gap Junction Protein Beta 2) là một gen mã hoá connexin 26 (CX26) của tai trong, dài 2290 nu (NM\_004004.6), có kích thước khoảng

7kb và gồm 2 exon (Hình 1.5). *GJB2* còn biết đến các tên khác là BAPS, CX26, DFNA3, DFNA3A, DFNB1, DFNB1A, HID, KID, NSRD1, PPK.

Protein mã hóa từ gen *GJB2* là một trong sáu tiểu đơn vị protein connexin hình thành các kênh màng tế bào chất nối khe hở cho phép các phân tử nhỏ truyền từ tế bào này sang tế bào khác. Trong ốc tai, CX26 được tìm thấy trong các tế bào hỗ trợ biểu mô bao quanh các tế bào lông cảm giác và trong các tế bào sợi ống dẫn ốc tai. Các khe nối giữa các tế bào hỗ trợ và tế bào sợi tạo ra một con đường nhờ đó các ion kali đi qua gốc của tế bào lông có thể quay lại trở lại nội dịch phía trên tế bào lông. Gen *GJB2* có kích thước nhỏ và toàn bộ trình tự mã hóa protein nằm trong một exon duy nhất. Điều này làm cho gen tương đối dễ sàng lọc các đột biến [40].

Connexin 26 được tìm thấy trong các tế bào khắp cơ thể, bao gồm cả tai trong. Do sự hiện diện của nó ở tai trong, đặc biệt là cấu trúc hình ốc sên được gọi là ốc tai, nên các nhà nghiên cứu quan tâm đến vai trò của protein này đối với thính giác. Thính giác yêu cầu chuyển đổi sóng âm thanh thành xung điện thần kinh. Quá trình chuyển đổi này bao gồm nhiều quá trình, bao gồm cả việc duy trì mức độ thích hợp của các ion kali ở tai trong. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng các kênh được tạo bằng connexin 26 giúp duy trì mức ion kali chính xác. Nghiên cứu khác cho thấy rằng connexin 26 cần thiết cho sự trưởng thành của một số tế bào trong ốc tai.

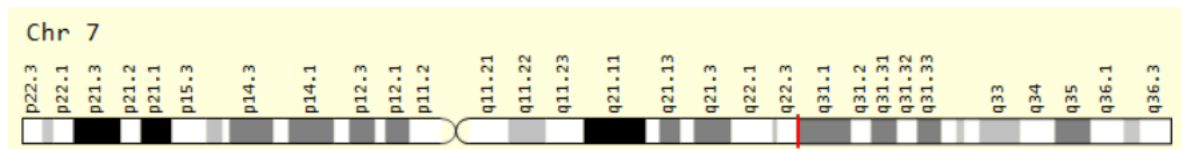
Đột biến trên gen *GJB2* có liên quan tới cả dạng trội và lặn, có hoặc không có hội chứng của nghe kém bẩm sinh [22]. Các đột biến nằm trên gen *GJB2* chiếm khoảng 50% tổng số các trường hợp điếc bẩm sinh trên nhiễm sắc thể thường dạng lặn. Đây là gen đầu tiên được xác nhận có liên quan đến nghe kém liên quan đến thần kinh thính giác (SNHR).

*GJB2* tuy chỉ là một gen nhỏ chứa 2 exon mã hóa, nhưng có tới 3.537 đột biến khác nhau đã được công bố [41]. Năm 2002 Janecke AR và cộng sự đã chỉ ra bằng các nghiên cứu đồng phân ly rằng L90P là một alen bệnh *GJB2* và các thể dị hợp tử đối với L90P và bất kỳ đột biến gen lặn nào đều có chung một kiểu hình

từ nhẹ đến trung bình [42]. Nghiên cứu của Shen J và cộng sự (2019) cho thấy ở thể đồng hợp tử hoặc dị hợp tử đối với p.Met34Thr hoặc p.Val37Ile của gen *GJB2* thường có biểu hiện mất thính lực từ nhẹ đến trung bình [43].

Mặc dù vậy, trong mỗi cộng đồng khác nhau sẽ có các đột biến riêng, một số nghiên cứu đã đưa ra kết luận ở Tây Bắc Trung Quốc thì đột biến phổ biến nhất là c.235delC [44] trong khi đó ở Ấn Độ đột biến phổ biến nhất là c.35delG [45]

### 1.3.2. Gen *SLC26A4* (solute carrier family 26 (anion exchanger), member 4)



**Hình 1.6.** Sơ đồ NST 7 và vị trí của gen *SLC26A4*

*SLC26A4*, bao gồm 21 exon và chứa khung đọc mở 2343 bp. Gen *SLC26A4* nằm trên cánh dài của NST số 7, băng 3, vùng 1(7q31.1) (Hình 1.6).

Gen *SLC26A4* mã hóa một protein tên là pendrin vận chuyển anion bao gồm clorua, iodua và bicacbonat qua màng tế bào. Pendrin được sản xuất ở một số cơ quan và mô, đặc biệt là tai trong và tuyến giáp. Ở tai trong, pendrin có khả năng giúp kiểm soát sự cân bằng hợp lý của các ion, bao gồm clorua và bicacbonat. Việc duy trì mức độ thích hợp của các ion này dường như đặc biệt quan trọng trong quá trình phát triển của tai trong và nó có thể ảnh hưởng đến hình dạng của các cấu trúc xương như ốc tai và công tiền đình. Ốc tai là một cấu trúc hình ốc sên giúp xử lý âm thanh. Công tiền đình là một ống xương nối tai trong với bên trong hộp sọ.

Đột biến ở gen *SLC26A4* là nguyên nhân di truyền gây ra nghe kém bẩm sinh đứng thứ 2 sau *GJB2*. Hàng chục đột biến gen *SLC26A4* đã được xác định ở những người bị mất thính giác không do triệu chứng, đó là tình trạng mất thính giác không liên quan đến các dấu hiệu và triệu chứng ảnh hưởng đến các bộ phận khác của cơ thể. Đột biến trong gen này gây ra một dạng mất thính lực không triệu chứng gọi là DFNB4. Dạng nghe kém này có thể xuất hiện trước

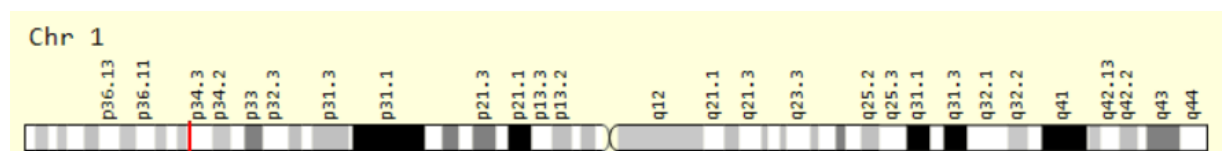
khi trẻ học nói (trước ngôn ngữ) hoặc bắt đầu sau khi trẻ học nói (sau ngôn ngữ) do vậy thường ít khi được chẩn đoán sớm. Hầu hết những người mắc DFNB4 cũng có công tiền đình lớn bất thường (công tiền đình mở rộng Enlarged Vestibular Aqueduct Syndrome - EVAS) [46]. Đột biến này cũng gây ra hội chứng Pendred, đây là một trong những dạng phổ biến nhất của nghe kém hội chứng. Hội chứng này chỉ xuất hiện triệu chứng ở tuyến giáp kèm theo khi trẻ trưởng thành, một số trường hợp vẫn có tình trạng nghe kém và không có bất thường ở tuyến giáp kèm theo [47].

Phổ đột biến của *SLC26A4* khác nhau giữa các nhóm dân số. Đột biến 2168A>G là dạng phổ biến nhất ở Nhật Bản, Trung Quốc và một số nước châu Âu đột biến phổ biến lại là IVS7-2A>G [48].

Nghiên cứu năm 2017 của Aimoni C và cộng sự về mối liên quan giữa mất thính giác và EVA (bệnh mở rộng công tiền đình) ở cả các rối loạn có hội chứng (Hội chứng Pendred, BOR, Waardenburg) và không có hội chứng cho thấy ở những trường hợp mất thính lực nghiêm trọng đều có mặt của đột biến gen *SLC26A4* [49]. Cũng theo nghiên cứu của Mey K và cộng sự (2019) trên những bệnh nhân có mở rộng công tiền đình nhóm không có đột biến *SLC26A4* ít bị mất thính lực nghiêm trọng hơn và hình thái tai trong đa dạng hơn [50].

### 1.3.3. Gen *GJB3* (Gap Junction Beta 3)

*GJB3* (Gap Junction Protein Beta 3) thuộc họ gen *GJB*, mã hóa connexin 31, dài 31 kDa gồm khoảng 270 acid amin. *GJB3* còn biết đến các tên khác là CX31, DFNA2, DFNA2B, EKV, EKVP1. Gen *GJB3* nằm trên cánh ngắn của NST số 1, băng 3, vùng 4 (1p34.3) (Hình 1.7).

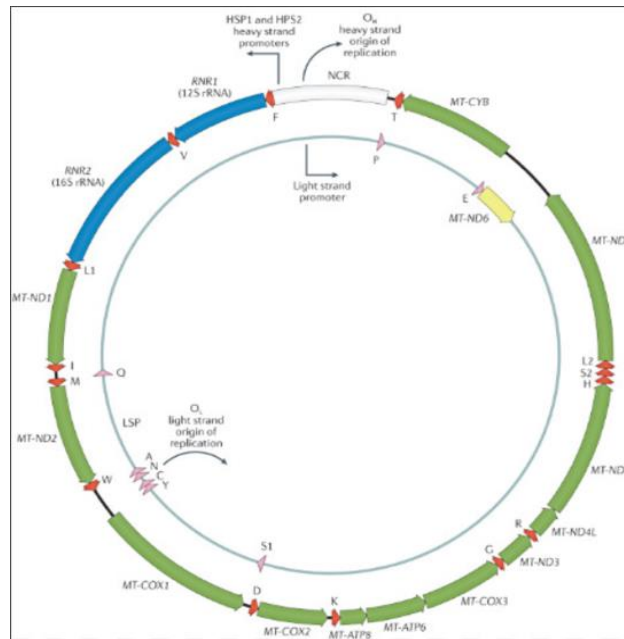


**Hình 1.7.** Sơ đồ NST 1 và vị trí của gen *GJB3*

Trong các nghiên cứu gần đây ở độ tuổi 20 - 40 đã phát hiện đột biến 538C>T làm xuất hiện codon stop ở vị trí amino acid 180, gây nghe kém dạng trội trên NST thường không triệu chứng [51], [52].

### 1.3.4. Gen *MT-RNR1*

Ở người, ngoài các gen nằm trên nhiễm sắc thể trong nhân tế bào còn có bộ gen nằm ngoài ty thể. Các đột biến gen ở ty thể di truyền theo dòng mẹ. Đáng chú ý trong đó là gen *MT-RNR1* mã hóa cho RNA ti thể 12S RNA (Hình 1.8).



**Hình 1.8.** Sơ đồ và vị trí của gen *MT-RNR1*

Kích hoạt hoạt động liên kết DNA và hoạt động liên kết yếu tố phiên mã gắn DNA. Tham gia vào một số quá trình, bao gồm tăng sinh nguyên bào xương; quy định sử dụng carbohydrate; và điều hòa quá trình trao đổi chất phosphate. Nằm trong không gian ngoại bào; ti thể; và hạt nhân.

Gen *MT-RNR1* cung cấp hướng dẫn để tạo ra một loại RNA ribosome được gọi là 12S rRNA. Phân tử này giúp lắp ráp các khối xây dựng protein được gọi là axit amin thành các protein hoạt động thực hiện quá trình phosphoryl hóa oxy hóa trong ty thể. Đột biến ở gen này làm tăng nguy cơ mất thính giác, đặc biệt ở những người dùng thuốc kháng sinh có tên là aminoglycoside. Nhóm kháng sinh này thường được sử dụng để điều trị các bệnh nhiễm trùng mãn tính hoặc gây nguy hiểm đến tính mạng như bệnh lao. Aminoglycoside tiêu diệt vi khuẩn bằng cách liên kết với RNA ribosome của chúng và phá vỡ khả năng tạo protein của vi khuẩn. Những thay đổi di

truyền phổ biến trong *MT-RNR1* có thể làm cho 12S rRNA trong tế bào người giống với RNA ribôxôm của vi khuẩn. Kết quả là, aminoglycoside có thể nhắm mục tiêu 12S rRNA đã thay đổi giống như chúng nhắm mục tiêu RNA ribosome của vi khuẩn. Loại kháng sinh này dễ dàng liên kết với 12S rRNA bất thường, làm suy yếu khả năng của ty thể để tạo ra các protein cần thiết cho quá trình phosphoryl hóa oxy hóa. Các nhà nghiên cứu tin rằng tác dụng ngoài ý muốn này của aminoglycoside có thể làm giảm lượng ATP được tạo ra trong ty thể, tăng sản xuất các sản phẩm phụ có hại và cuối cùng khiến tế bào tự hủy (trải qua quá trình chết theo chương trình).

Đột biến m.1555A>G ở gen 12S rRNA được tìm thấy tương đối thường xuyên (0,6 – 16%, tùy thuộc vào nhóm dân tộc) trong mất thính giác không hội chứng do aminoglycoside gây ra, bẩm sinh khởi phát muộn [53], [54]. Đột biến m1494C>T trong 12S rRNA cũng liên quan đến mất thính giác không triệu chứng và do aminoglycoside gây ra [55]. Ngoài ra, nhiều biến thể khác trong 12S A>G, rRNA cũng đã được giả định, đề xuất là có liên quan đến mất thính lực. Một số biến thể như m.827A>G, 961T>C, 961delT + Cn, 1005T>C và 1095T>C không hoàn toàn liên quan đến mất thính lực, vì chúng được tìm thấy ở những người có thính lực bình thường.

Nghiên cứu của Julia M. Barbarino và cộng sự cho thấy những người mang đột biến của gen *MT-RNR1* như 1555A>G (rs267606617) và 1494C>T (rs267606619) rất dễ bị mất thính lực sau khi điều trị bằng kháng sinh aminoglycoside bất kể với liều lượng, thời gian điều trị hoặc nồng độ thuốc trong huyết thanh. Tỷ lệ hay gặp của các đột biến gen *MT-RNR1* liên quan đến điếc là không rõ ràng và thay đổi theo dân số, nhưng được ước tính là khoảng 1–2% [56], [57].

## **Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHẠM VI NGHIÊN CỨU**

#### **2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng và mẫu nghiên cứu**

##### ***Đối tượng nghiên cứu***

30 trẻ điếc bẩm sinh đã được cấy điện cực ốc tai từ năm 2018 đến năm 2022 tại bệnh viện Trung ương Quân đội 108 và một số bệnh viện thuộc Thành phố Hà Nội đã được khám sàng lọc.

***Mẫu nghiên cứu:*** Là mẫu máu của bệnh nhân.

Căn cứ vào mục đích nghiên cứu chúng tôi đưa ra các tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu và mẫu như sau:

##### ***\* Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu***

Đối tượng được chọn không xác xuất, theo phương pháp thuận tiện là các bệnh nhân khiếm thính bẩm sinh tình nguyện tham gia, không phân biệt giới tính, đáp ứng các tiêu chuẩn sau:

- Trẻ đã được chẩn đoán nghe kém trên lâm sàng và được phẫu thuật cấy điện cực ốc tai thành công.

- Trẻ được đánh giá tâm lý, trí tuệ trước phẫu thuật.

- Trẻ có đầy đủ các yếu tố cận lâm sàng với các tiêu chí sau:

- Trên phim chụp cắt lớp vi tính tai xương đá không có phát hiện dị dạng về cấu trúc của ốc tai.
- Trên phim chụp cộng hưởng từ sọ não và vùng hố não sau không phát hiện bất thường, phải có tồn tại dây thần kinh số VIII và ốc tai.

##### ***\* Tiêu chuẩn mẫu***

Mẫu máu của đối tượng nghiên cứu được thu thập và bảo quản đúng kỹ thuật.

#### **2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ**

- Trẻ không đủ các điều kiện trên.

- Những đối tượng không đồng ý tham gia nghiên cứu

- Những mẫu máu không được lấy và bảo quản đúng kỹ thuật

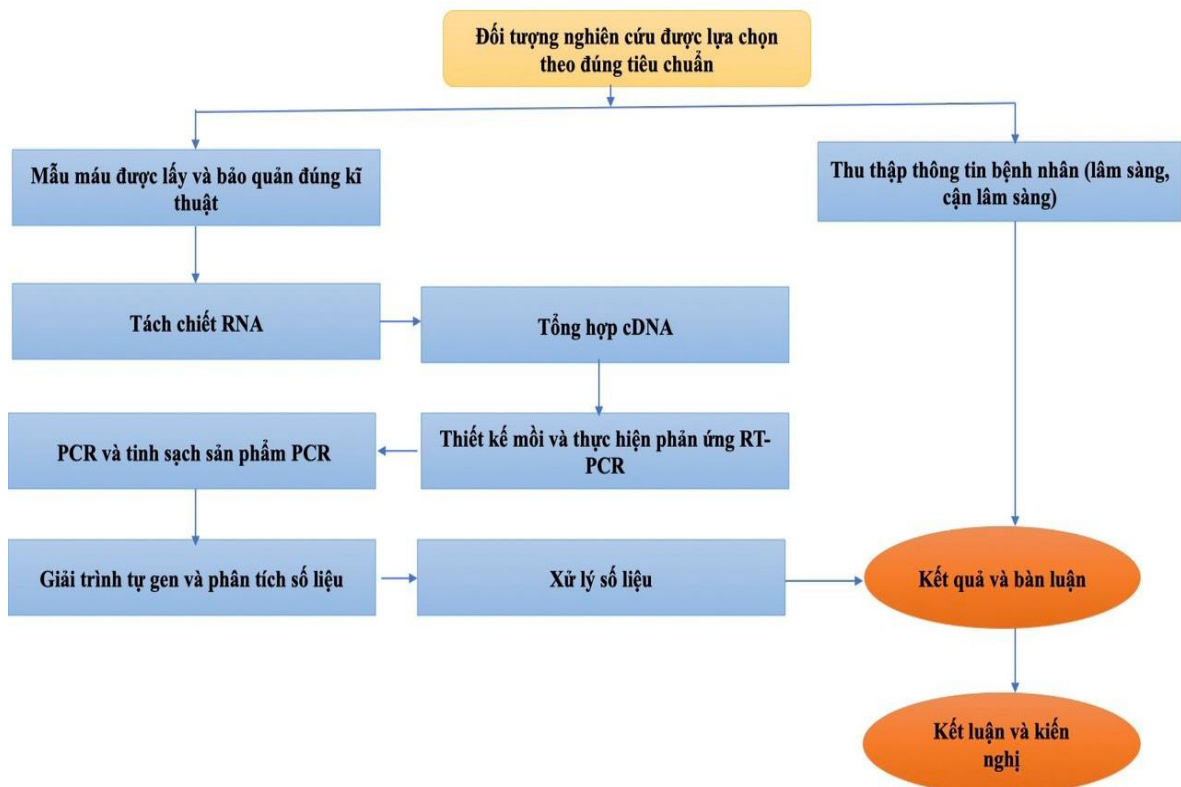
### 2.1.3. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng phương pháp mô tả cắt ngang kết hợp tiến cứu từng trường hợp qua chẩn đoán lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả biểu hiện của 04 gen, mức độ xuất hiện đột biến của gen *MT- RNR1* bằng phương pháp giải trình tự sanger, khảo sát mối liên quan giữa biểu hiện của từng gen/ các gen/ từng loại đột biến gen với diéc bẩm sinh.

### 2.1.4. Địa điểm nghiên cứu:

Tại labo của Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,

### 2.1.5. Sơ đồ nghiên cứu



## 2.2. HÓA CHẤT VÀ THIẾT BỊ

TRIzol™ Reagent (Thermo Scientific); chloroform; isopropanol (2-propanol); ethanol DEPC 70%; DEPC-DW; TAE 1X; agarose; loading dye 6X; marker 1kb plus; marker 100bp; ethidium bromie; bộ kit tổng hợp cDNA Tetro™ cDNA Synthesis Kit (Bioline); bộ kit DreamTaq Polymerases (Thermo Fisher); bộ kit GeneJET PCR purification kit (Thermo Scientific).



Ống lấy máu chống đông EDTA; pipet, đầu côn, Eppendof 1.5 ml; ống PCR 0.2 ml. Máy đo quang phổ Nano drop ND-1000 (NanoDrop® Technologies, Thermo Scientific); tủ lạnh sâu (-4°C, -20°C, -80°C); lò vi sóng; máy điện di; máy soi gel và chụp ảnh tự động Chemidoc EQ (Biorad); máy PCR (Thermo Scientific).

### **2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

#### **2.3.1. Thu thập đối tượng nghiên cứu**

Đối tượng được chọn ngẫu nhiên là những bệnh nhân nhi đã được chẩn đoán đái tháo đường bẩm sinh theo tiêu chuẩn lâm sàng, cận lâm sàng và phẫu thuật cấy điện cực ốc tai tại bệnh viện TWQĐ 108 và một số bệnh viện thuộc địa phận Hà Nội.

#### **2.3.2. Thu thập và bảo quản mẫu**

Mẫu sinh phẩm là 2ml máu ngoại vi của mỗi đối tượng nghiên cứu được lấy vô trùng và được đựng trong các ống chuyên dụng chứa sẵn EDTA có tác dụng chống đông máu, đảm bảo không bị nhiễm bẩn, không bị lẫn các mẫu với nhau, đảm bảo đủ thông tin (tên, tuổi, giới, ngày lấy mẫu, mã số ID).

Mẫu được bảo quản trong điều kiện -20°C cho đến khi được sử dụng để tách chiết RNA.

#### **2.3.3. Tách chiết RNA**

Hút 300µl mẫu máu sang ống Eppendof 1.5 ml (ống epp). Bổ sung 400 µl TRIzol™ Reagent vào ống epp và vortex đến khi đồng nhất dịch. Thêm 200 µl chloroform và vortex hòa tan dịch. Ly tâm hỗn hợp tại 13000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C. Thu phần dịch pha trên sang ống epp mới. Bổ sung isopropanol (với lượng thể tích dịch thu được) vào ống, đảo nhẹ. Ủ hỗn hợp ở -20°C trong 3-5 giờ. Ly tâm hỗn hợp tại 13000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C, đổ bỏ phần dịch. Bổ sung vào ống 1 ml Ethanol DEPC 70%, đảo nhẹ sau đó ly tâm tại 13000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C, đổ bỏ phần dịch. Làm khô tủa RNA sau đó hòa tan RNA trong ống bằng 25 µl DEPC-DW.

RNA tổng số đã tách sẽ được kiểm tra nồng độ trên máy đo quang phổ Nano drop ND-1000 có giá trị tỷ lệ hấp phụ (chỉ số tinh khiết của mẫu) 260nm/280nm đạt từ 1.8 – 2.0 nm là đạt yêu cầu cho thí nghiệm tiếp theo. Đồng thời mẫu RNA tổng số được điện di kiểm tra trên gel agarose 1.5% trong đệm TAE 1X, chạy ở dòng điện 110V trong 40 phút. Gel agarose sau khi nhuộm Ethidium Bromie được quan sát và chụp ảnh dưới đèn UV trên máy soi gel và chụp ảnh tự động và phân tích kết quả.

#### 2.3.4. Tổng hợp cDNA

Tiến hành tổng hợp cDNA từ mẫu RNA đã tách chiết được theo quy trình của bộ kit Tetro™ cDNA Synthesis Kit [8]. Mẫu RNA được lấy ra từ tủ âm sâu (- 80°C) đặt vào hộp đá bào để mẫu tan tự nhiên. Hiệu chỉnh mẫu RNA đạt nồng độ 1 µg/µl. Các thành phần hóa chất được giã đông trên đá, vortex nhẹ và spin down. Chuẩn bị hỗn hợp trên đá trong ống không chứa Rnase (tổng thể tích 20 µl). Thành phần của phản ứng tổng hợp cDNA được bình này trong Bảng 2.1.

**Bảng 2.1.** Thành phần thực hiện tổng hợp cDNA

STT	Thành phần	Thể tích
1	Total RNA	n µl
2	Primer: Random Hexamer	1 µl
3	10mM dNTP mix	1 µl
4	5X RT buffer	4 µl
5	Ribo Safe Rnase Inhibitor	1 µl
6	Reverse Transcriptase	1 µl
7	DEPC-treated water	20 - n µl
<b>TỔNG</b>		20 µl

Mix đều hỗn hợp bằng pipet. Ủ mẫu tại 25°C trong 10 phút, sau đó ủ tại 45°C trong 30 phút, bất hoạt ở 85°C trong 5 phút. Hoà 20 µl DEPC-WT, sản phẩm cDNA được bảo quản ở - 20°C cho đến khi thực hiện các bước tiếp theo. Nồng độ cuối của các mẫu cDNA là 100 ng/µl.

### 2.3.5. Thiết kế mồi và thực hiện phản ứng RT-PCR

Trình tự 4 gen *GJB2*, *GJB3*, *SLC26A4* và *MT-RNR1* trên cơ sở dữ liệu của NCBI được sử dụng để dự đoán trình tự mồi. Sử dụng chương trình PrimerBlast để thiết kế và kiểm tra tính đặc hiệu của gen.

Thực hiện phản ứng PCR với khuôn là cDNA đã tổng hợp sử dụng các cặp mồi đặc hiệu nhân bản các gen *18S rRNA*, *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3* và *MT-RNR1* với các thành phần trong Bảng 2.2. Trình tự các đoạn mồi được sử dụng cho quá trình khuếch đại PCR được thể hiện trong bảng 2.3.

**Bảng 2.2.** Thành phần phản ứng PCR

Thành phần	Thể tích (ul)	Nồng độ cuối
H <sub>2</sub> O 2X	6.4	
Taq Buffer 10X	1	1X
dNTP mix (2.5mM each)	1	0.2 mM
Forward primer	0.25	0.25 uM
Reverse primer	0.25	0.25 uM
Taq polymerase (5U/uL)	0.1	0.05 U/ul
cDNA template (100ng/ul)	1	
<b>Tổng</b>	10 ul/1 phản ứng	

**Bảng 2.3.** Trình tự mồi được sử dụng trong phản ứng PCR để phát hiện gen đích của các bệnh nhân xét nghiệm gen đích.

Tên mồi	Trình tự (5' -> 3')	Kích thước (bp)	Tm (°C)
18S rRNA	FW AGCTCTTCTCGATTCCGTG	110	
	RV GGGTAGACACAAGCTGAGCC		
<i>GJB2</i>	FW CTCACCGTCCTCTTCATTTT	531	59.4°C
	RV ATTCCAGACACTGCAATCATGAAC		61.8°C
SLC26A4	FW CTTACCAAGGAACAGTGTGTA	414	57.4°C
	RV CCTGTTGCAATACTGGACAA		56.4°C

GJB3	FW	ACAACACTACTTCCCCATCTCCAA	369	60.3°C
	RV	AGGTGAAGATTTTCTTCTCGGTA		59.3°C
MT- RNR1	FW	AAGCCGGCGTAAAGAGTG	420	56.1°C
	RV	CTCATGGGCTACACCTTGACCT		64°C

Tm: Nhiệt độ nóng chảy của mồi.

Chu trình nhiệt thực hiện tối ưu phản ứng: 95°C, 5 phút; (95°C, 30 giây; 55°C - 57°C, 15 giây; 72°C, 30 giây) 30 chu kì; 72°C, 7 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% và nhuộm ethidium bromide, quan sát bản gel trên máy.

Sản phẩm PCR của 5 đoạn gen được điện di trên gel agarose 1% và nhuộm ethidium bromide, quan sát bản gel trên máy GelDoc (BioRad).

### 2.3.6. Phương pháp xử lý số liệu

Mức độ biểu hiện của các gen được phân tích bằng cách đo độ sáng các band điện di trên phần mềm Quantity One (BioRad). Sự biểu hiện của mỗi gen mục tiêu được chuẩn hoá dựa trên mức độ của gen *18S rRNA*. Các lần đo được lặp lại tối thiểu 2 lần đo.

Các số liệu được thống kê bằng phương pháp phân tích một nhân tố (one-way ANOVA). Sự khác biệt có ý nghĩa giữa các gen và gen *18S rRNA* của bệnh nhân được phân tích bằng các hệ số trong hồi quy bội tính (Tukey's Multiple Regression Test) với độ sai khác  $p < 0,05$  (GraphPad Prism). Số liệu, biểu đồ và hình ảnh sử dụng phần mềm Excel 2019, Sigmaplot 15.0 để thống kê và tạo biểu đồ.

### 2.3.7. PCR, tinh sạch sản phẩm PCR và giải trình tự gen *MT-RNR1*

Thực hiện tối ưu phản ứng PCR với khuôn là cDNA sử dụng cặp mồi đặc hiệu nhân bản gen *MT-RNR1* theo thành phần phản ứng (Bảng 2.4).

**Bảng 2.4.** Thành phần phản ứng PCR

<b>Thành phần</b>	<b>Thể tích (ul)</b>	<b>Nồng độ cuối</b>
H <sub>2</sub> O 2X	6.4	
Taq Buffer 10X	1	1X
dNTP mix (2.5mM each)	1	0.2 mM
3SNP_MT.RNR1 - Forward primer	0.25	0.25 uM
3SNP_MT.RNR1 - Reverse primer	0.25	0.25 uM
Taq polymerase (5U/uL)	0.1	0.05 U/ul
cDNA template (100ng/ul)	1	
<b>Tổng</b>	<b>10 ul/1 phản ứng</b>	

Cặp mồi sử dụng để giải trình tự gen *MT-RNR1* được trình bày trong bảng dưới đây:

<b>Tên</b>	<b>Trình tự (5' -&gt; 3')</b>	<b>Kích thước (bp)</b>	<b>T<sub>m</sub> (°C)</b>
3SNP_MT.RNR1	FW AAGCCGGCGTAAAGAGTGT	800	57.3°C
	RV TGGTTTGGCTAAGGTTGTCTG		59.4°C

T<sub>m</sub>: Nhiệt độ nóng chảy của mồi.

Chu trình nhiệt thực hiện tối ưu phản ứng: 95°C, 5 phút; (95°C, 30 giây; 55°C - 57°C, 15 giây; 72°C, 30 giây) 30 chu kì; 72°C, 7 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% và nhuộm ethidium bromide, quan sát bản gel trên máy.

Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch bằng kit GeneJET PCR purification kit theo quy trình của nhà sản xuất [58]: Hút 60ul dung dịch

Binding Buffer vào ống và chuẩn bị 6 cột tinh sạch PCR. Hút toàn bộ dịch vào cột tương ứng. Ly tâm 14000rpm trong 1 phút ở nhiệt độ phòng, đổ dịch ở dưới thoát ra. Hút 500ul dung dịch Wash Buffer vào, ly tâm 14000rpm trong 1 phút. Loại bỏ dịch, ly tâm thêm 2 phút, chuyển lõi sang ống epp mới. Bổ sung 25ul dung dịch Elution, ly tâm 14000rpm trong 2 phút, thu dịch ở dưới.

### **2.3.8. Giải trình tự gen và phân tích số liệu**

Sản phẩm PCR đã tinh sạch được đóng gói và gửi giải trình tự ở công ty 1<sup>st</sup> Base (Malaysia). Trình tự gen được đối chiếu và so sánh với trình tự trên Gen bank (National center for biotechnology informarion, NCBI) và phân tích bằng phần mềm BioEdit để xác định các điểm sai khác trong trình tự đoạn gen được nhân lên.

### **2.3.9. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu trong y học**

Luận văn tuân thủ chặt chẽ theo đạo đức nghiên cứu trong Y học. Đối tượng nghiên cứu và gia đình trước khi tham gia nghiên cứu được thông báo về mục đích, quy trình nghiên cứu và chỉ tiến hành nghiên cứu đối với những đối tượng có sự đồng ý của đại diện gia đình đối tượng nghiên cứu.

Các gia đình đối tượng nghiên cứu có thể rút khỏi nghiên cứu khi không muốn tham gia tại bất kì thời điểm nào.

Đại diện gia đình đối tượng nghiên cứu được thông báo và giải thích về kết quả xét nghiệm, đồng thời tư vấn sàng lọc nguyên nhân di truyền cho bố mẹ của trẻ nếu có dự định sinh thêm con trong tương lai.

Toàn bộ thông tin về bệnh và cá nhân của đối tượng nghiên cứu sẽ được đảm bảo bí mật (thông tin bao gồm kể cả phần hỏi bệnh, khám bệnh và kết quả cận lâm sàng, xét nghiệm gen chỉ được trao đổi riêng cho đối tượng nghiên cứu và người đại diện gia đình của từng đối tượng nghiên cứu).

Nghiên cứu được tiến hành hoàn toàn vì mục đích khoa học, lợi ích của đối tượng nghiên cứu và gia đình.

### Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

##### 3.1.1. Tuổi

**Bảng 3.1.** Phân bố theo độ tuổi nhóm bệnh nhân cây DCÔT

Tháng tuổi	Số lượng BN (n)	Tỷ lệ %
12 tháng - 36 tháng tuổi	5	17
> 36 tháng - 60 tháng tuổi	14	47
> 60 tháng (5 tuổi)	11	37
<b>Tổng (N)</b>	<b>30</b>	<b>100</b>

Trong các nghiên cứu liên quan tới trẻ điếc bẩm sinh được cấy điện cực ốc tai yếu tố đầu tiên thường được quan tâm tới là tuổi. Nghiên cứu của chúng tôi chia thành 3 nhóm tuổi, nhóm tuổi thứ nhất là từ 12 đến 36 tháng tuổi, nhóm tuổi thứ hai từ 36 tháng đến 60 tháng và nhóm tuổi trên 60 tháng tuổi (5 tuổi) lần lượt chiếm tỷ lệ là 17%, 47% và 37% (Bảng 3.1). Trong đó, bệnh nhân nhỏ tuổi nhất là 24 tháng tuổi và lớn tuổi nhất là 6 tuổi. Tuy nhiên, đây là độ tuổi tính tại thời điểm nghiên cứu, có đa phần bệnh nhân đã được phát hiện và cấy điện cực ốc tai từ trước đó nên độ tuổi xác định nghe kém và độ tuổi cấy điện cực ốc tai là hai tiêu chí được quan tâm hơn.

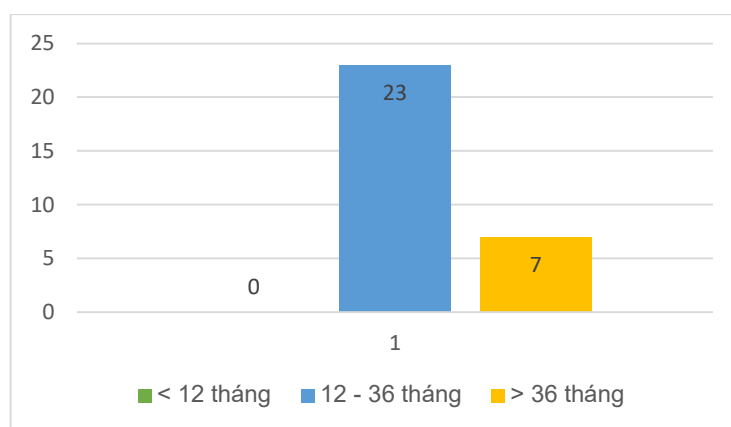
##### 3.1.2. Phân bố độ tuổi chẩn đoán nghe kém và độ tuổi cấy điện cực ốc tai

**Bảng 3.2.** Độ tuổi chẩn đoán nghe kém

Độ tuổi chẩn đoán nghe kém (tháng)	Số lượng BN (n)	Tỷ lệ (%)
< 0 - 6 tháng	5	14
6 - 12 tháng	7	24
> 12 - 36 tháng	18	62
> 36 tháng	0	0
<b>Tổng (N)</b>	<b>30</b>	<b>100</b>

Thống kê trong Bảng 3.2, chúng tôi nhận thấy nhóm bệnh nhân được chẩn đoán xác định điếc bẩm sinh có độ tuổi từ 12 tháng đến 36 tháng tuổi là chủ yếu chiếm 62%. Đặc biệt, tất cả các trường hợp đều được chẩn đoán xác định trước 36 tháng tuổi và có 1 trường hợp được phát hiện ngay sau sinh 24 giờ nhờ sàng lọc thính lực bằng đo âm ốc tai OAE. OAE là một phép đo đơn giản, nhanh chóng và an toàn tuyệt đối với trẻ sơ sinh. Đó là dấu hiệu đáng mừng cho chẩn đoán sớm điếc bẩm sinh trên lâm sàng ở Việt Nam khi nước ta vẫn là một nước đang phát triển. Ở Mỹ, các chương trình sàng lọc thính lực đã triển khai từ những năm 1990, cho đến năm 1999 đã triển khai rộng khắp 934 bệnh viện trên toàn quốc gia [2]. Ở Việt Nam hiện nay chỉ một số bệnh viện tuyến Trung ương có chuyên ngành sản khoa mới thực hiện test đo này trên những trẻ có nguy cơ cao [59], [60]. Mặc dù vậy, các chương trình sàng lọc đã thu được những kết quả nhất định, giúp chúng ta phát hiện được các trẻ nghe kém khi chỉ 1 tháng tuổi. Nhờ đó, công tác chẩn đoán sớm đã dần tiếp cận theo chuẩn thế giới. Các chương trình Phát hiện và Can thiệp Thính giác sớm (EHDI) của Hiệp hội Nghe – Nói – Ngôn ngữ Hoa Kỳ (ASHA) khuyến cáo nên tiếp cận và thúc đẩy các dịch vụ chẩn đoán và can thiệp sớm đối với trẻ điếc bẩm sinh, cụ thể là sàng lọc nghe kém trước 1 tháng tuổi, chẩn đoán xác định trước 3 tháng tuổi và can thiệp trước 6 tháng tuổi [61]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự kết quả của Sue Archbold [35] với 10,2 tháng là độ tuổi trung bình chẩn đoán xác định điếc bẩm sinh và sớm nhất là ngay sau sinh [62].

### Độ tuổi cây ĐCOT:



**Hình 3.1.** Độ tuổi cây ĐCOT của 30 bệnh nhân



Kết quả Hình 3.1 cho thấy độ tuổi được cấy điện cực ốc tai phần lớn đều nằm ở độ tuổi từ 12 tháng đến 36 tháng tuổi với 23/30 bệnh nhân chiếm 76,67%, 7/30 bệnh nhân có độ tuổi cấy điện cực ốc tai trên 36 tháng (23,33%) và không có bệnh nhân nào ở độ tuổi dưới 12 tháng tuổi (Hình 3.1).

Kết quả này cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của các tác giả trong nước. Nghiên cứu của Nguyễn Tuyết Xương và cộng sự (2014) cho thấy tỷ lệ trẻ ở độ tuổi 12 đến 36 tháng tuổi dao động từ 57,1% đến 77,1% [60]. Theo Cao Minh Thành (2012) trẻ được cấy điện cực ốc tai đa phần nằm trong nhóm tuổi từ 17 đến 68 tháng [63]. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Dung và Lê Trần Quang Minh (2012) Tổng kết phẫu thuật cấy điện cực ốc tai tại Bệnh viện Tai Mũi Họng Thành phố Hồ Chí Minh từ 1998 - 2011 có 97 bệnh nhân, trong đó có 78 bệnh nhân phẫu thuật có độ tuổi dưới 6 tuổi (dưới 2 tuổi chỉ có 11 trường hợp chiếm 11,3%, từ 2 đến dưới 6 tuổi có 67 bệnh nhân chiếm 69,1%) và có 19 bệnh nhân trên 6 tuổi [64]. Bên cạnh đó, đa phần các nghiên cứu của các tác giả trên thế giới lại tập trung đánh giá nhóm tuổi nhỏ hơn. Theo nghiên cứu của Yves Branda và cộng sự (2014) thì nhóm cấy điện cực ốc tai tại Thụy Sĩ ở nhóm tuổi dưới 3 tuổi ngày càng tăng [65], còn Jaime Leigh và cộng sự (2013) thì trẻ cấy điện cực ốc tai ở nhóm tuổi dưới 1 tuổi [66].

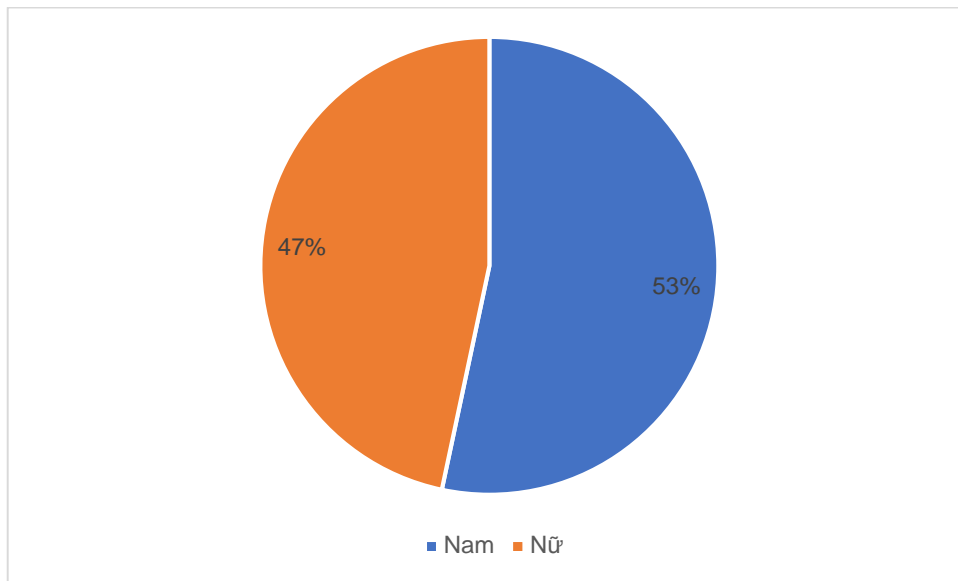
Phần lớn bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi được phẫu thuật ở độ tuổi vàng chiếm đa số có thể do chủ yếu là bệnh nhân của các gia đình thuộc khu vực Hà Nội và các tỉnh thành lân cận, bố mẹ bệnh nhân đều còn trẻ, có hiểu biết và có điều kiện tiếp cận thông tin mới nên quan sát và phát hiện kịp thời bất thường trong phản xạ về âm thanh của trẻ cũng như nhận thức được hiệu quả việc can thiệp sớm cho trẻ. Ngoài ra, nhờ máy móc và trang thiết bị hiện đại đã được đưa vào áp dụng tại các bệnh viện Trung ương giúp chẩn đoán sớm và chính xác hơn trước đây. Có 7 trường hợp cấy ở độ tuổi hơn 36 tháng tuổi. Trong đó, bệnh nhân cấy muộn nhất là 58 tháng (5 tuổi) tuy đều được chẩn đoán xác định trước 36 tháng nhưng lại được cấy muộn do chi phí phẫu thuật cao và điều kiện kinh tế gia đình còn khó khăn.

Ở nước ta, nhóm bệnh nhân cấy điện cực ốc tai dưới 12 tháng tuổi thường chưa được tiến hành rộng rãi do chúng ta mới được chuyển giao và làm chủ kỹ thuật phẫu thuật cấy điện cực ốc tai một vài năm trở lại đây. Ngoài ra, phẫu thuật trên những bệnh nhân ở độ tuổi này thường gặp nhiều nguy cơ như chảy máu trong phẫu thuật, chạm vào thần kinh mặt gây liệt mặt, xương sọ chưa phát triển toàn diện có thể gây thay đổi, dịch chuyển thiết bị cấy trong quá trình phát triển sau này cũng như nguy cơ trong gây mê. Đó là những rủi ro nghiêm trọng đối với trẻ [66].

Độ tuổi 12 tháng đến 36 tháng tuổi được xem là khoảng thời gian vàng cho việc phát triển ngôn ngữ, hay nói cách khác là độ tuổi quan trọng nhất cho sự phát triển nhận thức, tư duy và ngôn ngữ của trẻ [67]. Đây là giai đoạn vàng cho can thiệp điện cực ốc tai, ở thời điểm này phù hợp với đặc điểm phát triển sinh lý tự nhiên của cơ thể vì vậy sẽ cho hiệu quả phục hồi cao nhất.

Một số tác giả trên thế giới lại tập trung đánh giá ở nhóm đối tượng ở độ tuổi dưới 3 tuổi có thể vì ở các nước phát triển việc sàng lọc, chẩn đoán và can thiệp sớm được thực hiện thường quy ở trẻ sơ sinh nên độ tuổi được can thiệp ngày càng sớm. Theo một số nghiên cứu ở các nước phát triển thì độ tuổi được cấy ĐCÔT sẽ tập trung chủ yếu từ 12 - 24 tháng [68], [69]. Từ năm 2000 Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) mới cho phép cấy điện cực ốc tai cho trẻ bắt đầu từ 12 tháng tuổi. Tuy nhiên, một số nghiên cứu được công bố gần đây thực hiện cấy ĐCÔT trên nhóm trẻ có độ tuổi nhỏ hơn 12 tháng tuổi các tác giả lại khẳng định là an toàn, không thấy có tai biến trong và sau mổ cũng như hiệu quả phục hồi thính lực rất tốt như nghiên cứu của Thomas Roland [69], James và Papsin [70], Colletti [71], Miyamoto [72], Waltzman [73].

### 3.1.3. Giới

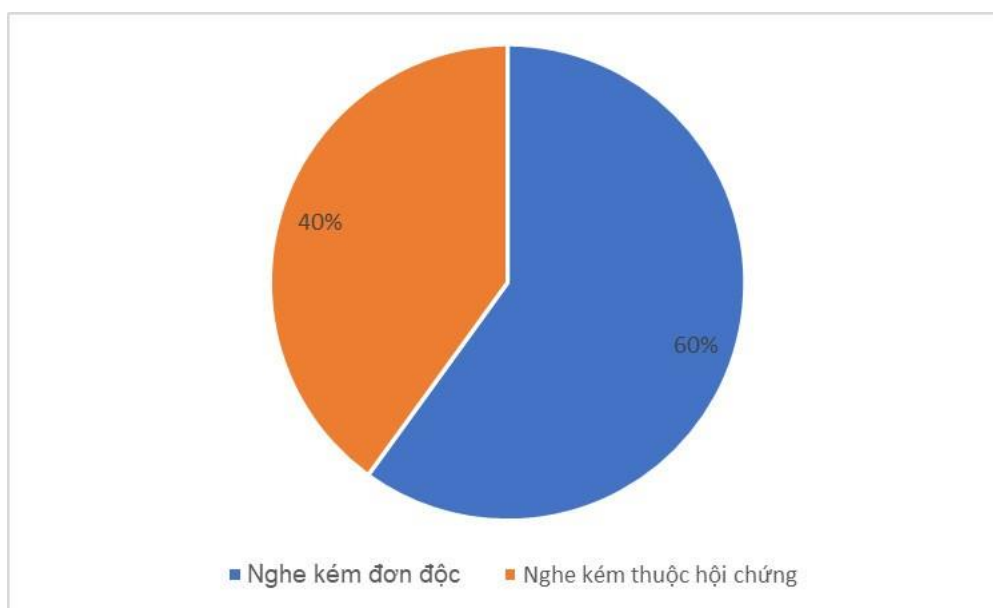


**Hình 3.2.** Phân bố của đối tượng nghiên cứu theo giới (n = 30)

Theo kết quả Hình 3.2 chúng tôi nhận thấy tỷ lệ bệnh nhân được phân bố theo giới là nam 16 (53%)/nữ 14 (47%). Tỷ lệ này là phù hợp với những nghiên cứu của các tác giả trong nước như Nguyễn Thị Ngọc Dung và Lê Trần Quang Minh (2012) [64], Phạm Tiến Dũng (2014) [74]. Kết quả nghiên cứu này cũng khá tương đồng với nhiều nghiên cứu của tác giả trên thế giới như Nikolopoulos và cộng sự trên đối tượng là 82 trẻ điếc trước ngôn ngữ [75], nghiên cứu của Declau và cộng sự trên 170 trẻ nghe kém bẩm sinh cũng cho thấy tỷ lệ nam/nữ đều xấp xỉ 1:1 [76].

Dựa theo kết quả của nhiều nghiên cứu về dịch tễ bệnh điếc bẩm sinh, chúng tôi đưa ra lý giải cho sự khác biệt về tỷ lệ mắc bệnh của hai giới như sau: mất thính lực di truyền qua nhiễm sắc thể giới tính X chiếm khoảng 1% -2% các trường hợp mất thính lực do di truyền và có thể được phân loại là bệnh hiếm gặp [77]. Do đó, kết quả của các nghiên cứu dịch tễ học về điếc bẩm sinh không có sự khác biệt về tỷ lệ giới.

### 3.1.4. Nghe kém đơn độc hay nghe kém thuộc hội chứng



**Hình 3.3.** Nghe kém đơn độc hay nghe kém thuộc hội chứng (n = 30)

Trong 30 bệnh nhân nghiên cứu có 18 trường hợp nghe kém đơn độc chiếm 60%, có 12 trường hợp nghe kém thuộc hội chứng (bao gồm các triệu chứng của cơ quan khác phối hợp) chiếm 40%. Trong đó có 2 trường hợp thuộc hội chứng Waardenburg (nghe kém, mắt xanh), 3 trường hợp thuộc hội chứng nhiễm Rubella bẩm sinh tiền sử mẹ mang thai bị mắc Rubella <12 tuần (tổn thương teo thận trái, còn ống ĐM, tổn thương mắt), 3 trường hợp thuộc hội chứng vàng da sơ sinh và 4 trường hợp nghĩ đến cho gen di truyền (bệnh nhân có chị gái ruột, bác họ, ông, bà bị nghe kém). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Lương Hồng Châu (2013) với tỷ lệ điếc đơn độc nhiều hơn tỷ lệ điếc thuộc hội chứng lần lượt là 88,6% và 11,4% [78], cũng như kết quả nghiên cứu của Nguyễn Xuân Nam (2016) với tỷ lệ lần lượt là 82,19% và 17,81% [79].

Do đó, ở các trường hợp nghe kém bẩm sinh chúng ta cần khảo sát thêm các triệu chứng bất thường của các cơ quan khác nhất là tim mạch, thận và mắt hoặc khi có các dị tật đó đi kèm thì phải đánh giá kỹ về thính lực nhằm chẩn đoán sớm nghe kém.

### 3.1.5. Tiền sử bệnh của mẹ trong thai kỳ

Khiếm thính bẩm sinh được xem là có mối liên quan đến một số bệnh lý mẹ mắc phải trong khi mang thai đặc biệt là trong 3 tháng đầu thai kỳ, tiền sử bệnh của mẹ được phân bố trong Bảng 3.3.

**Bảng 3.3.** Tiền sử mẹ nhiễm bệnh trong thai kỳ

<b>Bệnh lý mắc phải trong thai kì của mẹ</b>	<b>Số lượng BN (n)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
Nhiễm virus Rubella	3	10
Sốt phát ban chưa rõ nguyên nhân	1	3,33
Nhiễm khuẩn hoặc virus khác (CMV, quai bị, Herpes Simplex..)	3	10
Cúm	4	13,33
Tiền sử sử dụng thuốc có thể gây độc cho tai	1	3,33
Các bệnh lý khác	1	3,33
Không phát hiện yếu tố nguy cơ trong thai kì	17	56,67
<b>Tổng (N)</b>	<b>30</b>	<b>100</b>

Tiền sử mẹ trong quá trình mang thai bị nhiễm Rubella và sốt phát ban chưa rõ nguyên nhân có 4/30 trường hợp (13,33%), mẹ bị cúm <12 tuần có 4/30 trường hợp (13,33%), mẹ bị nhiễm khuẩn hoặc virus khác (CMV, quai bị, Herpes Simplex) có 3 trường hợp chiếm 10%, có 1 trường hợp mẹ dùng thuốc có nguy cơ gây độc cho tai (3,33%), có 17 trường hợp không xác định được yếu tố nguy cơ trong thai kì (56,67 %). Các bệnh lý này đều được nhiều tác giả xem là nguyên nhân gây nghe kém bẩm sinh.

Rubella là một virus thuộc họ Togaviridae còn gọi là sởi Đức. Nhiễm Rubella trong thai kì gây ra các biến chứng: điếc bẩm sinh, đẻ non, sẩy thai, dị dạng hệ thần kinh, hệ tim mạch. Theo nghiên cứu của Caroça và cộng sự (2017) tại Châu Phi, hội chứng Rubella bẩm sinh đặc biệt trong 16 tuần đầu của thai kì là nguyên nhân gây nên 60% nghe kém bẩm sinh ở trẻ [80]. Nghiên cứu của Rosalina và cộng sự (2020) tại Indonesia cũng cho biết khiếm thính là biểu hiện lâm sàng phổ biến nhất, chiếm khoảng 96% trong tất cả các trường hợp mắc hội chứng Rubella bẩm sinh [81]. Các nghiên cứu ở Việt Nam cũng ghi nhận tương tự [82]. Nguyên nhân do virus tiếp theo gây điếc bẩm sinh thường gặp là CMV (cytomegalovirus). Theo báo cáo của Vos (2021) nhiễm CMV gây ra tới 45% trường hợp nghe kém bẩm sinh [83]. Theo nghiên cứu của Satterfield-Nash và cộng sự (2020) trong số tất cả trẻ em bị điếc bẩm sinh hai bên từ trung bình đến sâu ước tính rằng 32% trường hợp là do nhiễm CMV bẩm sinh [84]. Ở các nước phát triển, sau khi gần như loại bỏ hoàn toàn bệnh Rubella đang lưu hành, nhiễm CMV là nguyên nhân không di truyền phổ biến nhất gây mất thính lực ở trẻ em [85]. Báo cáo của Dietrich (2019) ở Mỹ cho biết tỉ lệ trẻ sơ sinh nghe kém bẩm sinh do nhiễm bệnh từ mẹ mắc CMV trước khi mang thai chỉ chiếm khoảng 0,6% -0,7% [86].

Đó chính là điều khác biệt, đối với các nước đang phát triển trong đó có Việt Nam khi mà bệnh lý do nhiễm virus, nhiễm khuẩn trong thời kì mẹ mang thai là yếu tố chính gây điếc bẩm sinh thì tại các nước phát triển tỷ lệ nhiễm khuẩn chỉ còn chiếm một tỉ lệ nhỏ mà chủ yếu là do nguyên nhân di truyền hoặc không tìm thấy nguyên nhân. Tuy nhiên, điểm thuận lợi là Rubella có thể được kiểm soát bởi chiến dịch tiêm chủng cho phụ nữ ở độ tuổi sinh đẻ trước khi mang thai ít nhất là 3 tháng để phòng ngừa nhiễm bệnh trong thai kì.

### **3.1.6. Tiền sử sơ sinh và tiền sử gia đình**

Kết quả nghiên cứu một số đặc điểm về tiền sử sơ sinh và tiền sử gia đình liên quan đến khiếm thính bẩm sinh được trình bày trong Bảng 3.4.

**Bảng 3.4.** Tiền sử sơ sinh và tiền sử gia đình

<b>Yếu tố nguy cơ</b>		<b>Số lượng BN (n)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
<b>Tiền sử sơ sinh</b>	Sinh non	9	30
	Suy hô hấp thở máy > 5 ngày	1	3,33
	Cân nặng < 1500 gram	1	3,33
	Bị dị tật ở vùng đầu mặt cổ	0	0
	Vàng da tăng bilirubin	4	13,33
<b>Tiền sử gia đình</b>	Gia đình có người nghe kém bẩm sinh	4	13,33
<b>Tổng (N)</b>		<b>30</b>	100

Thống kê trong Bảng 3.4, chúng tôi nhận thấy có 9 trường hợp sinh non, thiếu tháng, chiếm tỉ lệ 30%, đây chính là yếu tố nguy cơ dẫn tới khiếm thính bẩm sinh đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu như nghiên cứu của Hirvonen và cộng sự (2018) [87]; có 4 trường hợp vàng da tăng bilirubin ngay sau sinh chiếm tỉ lệ 13,33%, đây cũng là yếu tố nguy cơ gây điếc bẩm sinh thường gặp [88], có 1 trường hợp nhẹ cân <1500 gram, đây cũng là yếu tố nguy cơ cao theo như nghiên cứu của Gohari (2020) [89], tác giả cũng khuyến cáo rằng trẻ bị nhẹ cân sơ sinh cũng có nguy cơ cao bị mất thính lực tiến triển hoặc khởi phát muộn, do đó nên tiếp tục đánh giá thính giác nhiều lần sau khi trẻ xuất viện sau đợt điều trị đặc biệt sau sinh; có 4 bệnh nhân có tiền sử gia đình (chị gái ruột, bác họ, ông, bà) bị khiếm thính bẩm sinh chiếm tỷ lệ 13,33%. Theo nghiên cứu của Sekvarajan H và cộng sự (2013) tiền sử gia đình (yếu tố di truyền) là một yếu tố nguy cơ quan trọng của khiếm thính bẩm sinh chiếm 18,6% ở trẻ khiếm thính [90].

### 3.2. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG

#### 3.2.1. Đặc điểm lâm sàng

##### 3.2.1.1. Khám tai mũi họng

**Bảng 3.5.** Kết quả khám nội soi tai mũi họng

<b>Triệu chứng</b>	<b>Bộ phận</b>	<b>Tai</b>	<b>Mũi</b>	<b>Họng</b>
Bình thường		28	30	30
Viêm nhiễm cấp, mạn tính, bất thường khác		2	0	0
<b>Tổng (N)</b>		<b>30</b>	<b>30</b>	<b>30</b>

Tất cả 30 bệnh nhân đều được khám nội soi tai mũi họng, mục đích phát hiện và đánh giá các bệnh lý cấp tính để điều trị trước phẫu thuật, đồng thời phát hiện các dị tật bất thường vùng đầu mặt cổ kèm theo. Kết quả Bảng 3.5 cho thấy có 2/30 bệnh nhân bị viêm tai giữa chiếm 6,67% đều được điều trị ổn định hoàn toàn trước khi tiến hành phẫu thuật cấy điện cực ốc tai.

##### 3.2.1.2. Đánh giá tâm lý, trí tuệ

**Bảng 3.6.** Đánh giá tâm lý

<b>Trí tuệ</b>	<b>Số lượng BN (n)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
Bình thường	24	80
Tự kỷ, theo dõi tự kỷ	4	13.33
Chậm phát triển	1	3.33
Có vấn đề về tâm lý	1	3.33
<b>Tổng (N)</b>	<b>30</b>	<b>100</b>

Tất cả 30 bệnh nhân đều được đánh giá về tâm lý, trí tuệ trước phẫu thuật. Trong đó, có 6 trẻ chiếm 20% có vấn đề về tâm lý còn lại có 24 trẻ bình thường về tâm lý chiếm 80% (Bảng 3.6). Mục đích đánh giá của chúng tôi nhằm loại trừ các trường hợp có tổn thương thần kinh trung ương gây chậm phát triển trí tuệ, tăng động giảm chú ý hoặc các rối loạn hành vi khác. Phát hiện sớm các



bất thường về tâm lý, trí tuệ sẽ giúp tiên lượng trước khả năng phục hồi ngôn ngữ sau phẫu thuật cấy điện cực ốc tai cho trẻ [91].

### 3.2.1.3. Nhĩ lượng

**Bảng 3.7.** Kết quả nhĩ lượng

Dạng nhĩ lượng	Số lượng BN (n)	Tỷ lệ (%)
Type A	27	90
Type As	2	6,67
Type B	0	0
Type C	1	3,33
<b>Tổng (N)</b>	<b>30</b>	<b>100</b>

Kết quả đánh giá nhĩ lượng trong Bảng 3.7 cho thấy có 27 bệnh nhân có nhĩ lượng bình thường dạng type A và A (As) chiếm 90,67%, có 1 bệnh nhân nhĩ lượng type C (có rối loạn chức năng vòi tai) chiếm tỷ lệ 3,33%. Đối với các bệnh nhân có viêm tai giữa, rối loạn chức năng vòi tai do viêm mũi họng sẽ được điều trị nội khoa ổn định trước khi tiến hành phẫu thuật.

**3.2.1.4. Phản xạ cơ bàn đạp (PXCBD), âm ốc tai (TEOAE), điện thính giác thân não (ABR).**

**Bảng 3.8.** Kết quả PXCBD, TEOAE, ABR

PXCBD		Số lượng BN (n)	TEOAE		Số lượng BN (n)	ABR cường độ kích thích Có sóng V ở cường độ		Số lượng BN (n)
Có	Không		Pass	Refer		80 - 90 dB	> 90dB	
0	30	30	0	30	30	1	29	30

Theo thống kê trong Bảng 3.8, tất cả 30 bệnh nhân đều không có phản xạ gân cơ bàn đạp (PXCBD) 2 bên chiếm 100%. PXCBD không xuất hiện chỉ giúp nghi ngờ trẻ có nghe kém vì khoảng 10% trường hợp tuy có sức nghe bình thường cũng không có PXCBD. Có 30 bệnh nhân có kết quả TEOAE Refer cả 2 tai chiếm 100%. OAE không giúp xác định chính xác được mức độ

nghe kém mà giúp tầm soát sớm nghi ngờ có nghe kém hay nói cách khác là giúp củng cố thêm nghi ngờ tổn thương tại ốc tai. Trong một số bệnh nhân có điếc bẩm sinh do vàng da nhân gây tổn thương các nhân thính giác thân não mà ốc tai bình thường nên vẫn có kết quả Pass (bình thường) khi đo âm ốc tai.

Kích thích âm thanh là clicks khi đo ABR ở cường độ 80dB có 1 trường hợp không xuất hiện sóng V ở cả hai tai chiếm 3,33%, ở cường độ 90dB có 29 trường hợp không xuất hiện sóng V cả 2 tai chiếm 96,7%. Cường độ kích thích cho phép chúng ta biết mức độ nghe kém, như vậy các bệnh nhân này đều có mức độ nghe kém nặng đến sâu. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Cao Minh Thành [63] tỷ lệ bệnh nhân không xuất hiện sóng ABR khi kích thích với cường độ từ 90 dB là 100%. Tuy vậy, ngưỡng nghe trên ABR thường lớn hơn ngưỡng nghe thực tế khoảng 10 dB nên mức độ nghe kém của bệnh nhân có thể từ 70 – 90dB [57]. Các tác giả trong nước và quốc tế cũng báo cáo về việc sử dụng phép đo ABR là công cụ chính đánh giá tổng thể chức năng của tai trước phẫu thuật cấy điện cực ốc tai, đồng thời giúp phát hiện vị trí tổn thương là tại ốc tai hay sau ốc tai [92]. Mức độ cụ thể ở từng tần số âm thanh sẽ phải dựa vào kết quả đo điện thính giác ổn định (ASSR).

**Bảng 3.9.** PTA dựa vào ASSR

<b>Tai</b> <b>PTA</b>	<b>Phải</b>	<b>Trái</b>	<b>Số lượng BN</b> <b>(n)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
<71 – 90 dB	1	1	2	3.3
91 – 100 dB	2	1	3	96,7
101 – 110 dB	12	10	22	
> 110 dB	15	18	33	
<b>Tổng (N)</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>100</b>

Trong nghiên cứu này, ngưỡng nghe trung bình PTA trước khi cấy điện cực ốc tai của các đối tượng nghiên cứu dựa vào kết quả ASSR của 30 bệnh nhân đánh giá theo 2 tai độc lập (Bảng 3.9). Trong số 60 tai của 30 bệnh nhân

được đánh giá chỉ có 1 tai phải và 1 tai trái của cùng 1 bệnh nhân có mức PTA nằm trong khoảng 71 - 90dB (nghe kém mức độ nặng), có 58 tai của 29 bệnh nhân còn lại đều có mức PTA > 90dB (nghe kém mức độ sâu).

Kết quả của chúng tôi khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của một số tác giả trong nước. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Dung và Lê Trần Quang Minh (2012) cho thấy số trẻ điếc mức độ nặng là 5 trường hợp (5.1%), số trẻ điếc mức độ sâu là 92 trường hợp (94.9%). Theo Cao Minh Thành thì PTA trung bình ở tần số từ 250 đến 8K Hz của các bệnh nhân cấy điện cực ốc tai cũng ở mức độ sâu là 110,4dB [63]. Nghiên cứu của Phạm Tiến Dũng [44] cũng cho thấy có 58 tai trên 60 tai có ngưỡng nghe trung bình > 90dB.

Một số tác giả quốc tế cũng báo cáo kết quả tương tự như Miyamoto (2005) khi nghiên cứu trên 26 trẻ cấy ĐCÔT cho thấy ngưỡng nghe trung bình PTA trên 90dB chiếm 100% [58]. Theo Boerrigter (2023) thì tất cả 40 trẻ trong nghiên cứu đều có PTA trên 85dB [93].

Như vậy, ở trẻ nhỏ chưa thể hợp tác đo thính lực đơn âm, nhờ có phép đo ABR sẽ cho biết thính lực của trẻ. Tuy nhiên, ABR chỉ đánh giá được tại các tần số cao dao động từ 2K – 4K Hz chứ không phải ở tất cả các tần số. Trong khi đó, phép đo ASSR cũng là một biện pháp đo khách quan không cần sự hợp tác của trẻ lại cho biết sức nghe cụ thể ở từng tần số âm thanh. Thực hiện cả hai phép đo ABR, ASSR là sự kết hợp hoàn hảo cho việc đánh giá và chẩn đoán sớm (trước 6 tháng tuổi) điếc bẩm sinh ở trẻ nhỏ.

### **3.2.2. Cận lâm sàng**

#### **3.2.2.1. Chẩn đoán hình ảnh**

Chẩn đoán hình ảnh bao gồm chụp cắt lớp vi tính (CT) xương thái dương và cộng hưởng từ (MRI) xương thái dương là thăm dò bắt buộc đối với mỗi bệnh nhân có chỉ định cấy điện cực ốc tai. Thăm dò này giúp chẩn đoán, đánh giá cấu trúc của tai, ốc tai, đồng thời phát hiện các bất thường tại ốc tai, dây thần kinh thính giác. Từ đó, giúp tiên lượng và định hướng trong phẫu thuật.

Chúng tôi đã thống kê hình ảnh CT cấu trúc ốc tai và hình ảnh dây thần kinh số VIII trên MRI. Kết quả được trình bày trong các bảng dưới đây:

- Hình ảnh cắt lớp vi tính cấu trúc ốc tai:

**Bảng 3.10.** Hình ảnh CT cấu trúc ốc tai

<b>Hình ảnh CT cấu trúc ốc tai</b>		<b>Số lượng BN (n)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
Bình thường		24	80,02
Dị dạng	Rộng cống tiền đình	1	3,33
	Dị dạng Mondini	1	3,33
	Dị dạng khác	4	13,32
<b>Tổng (N)</b>		<b>30</b>	<b>100</b>

Chụp CT xương thái dương với lớp cắt 1mm phóng đại theo hai hướng Coronal và Axial mục đích đánh giá chủ yếu tổ chức xương. Kết quả Bảng 3.10 cho thấy 24 bệnh nhân có hình ảnh bình thường chiếm tỷ lệ 80,02%, 1 trường hợp rộng cống tiền đình chiếm tỷ lệ 3.33%, 1 trường hợp có dị dạng Mondini (sự kết hợp của rộng cống tiền đình và ốc tai có hình dạng bất thường) chiếm tỷ lệ 3,33% và 4 trường hợp dị dạng khác chiếm tỷ lệ 13,32%. Trong công bố của Cao Minh Thành chỉ có 1 trường hợp có hình ảnh ốc tai, tiền đình, ống tai trong bình thường trong tổng số 21 bệnh nhân nghiên cứu [63]. Còn Nguyễn Thị Ngọc Dung và Lê Trần Quang Minh thì cho biết có 2 trường hợp có dị dạng khoang chung [64].

Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của một số tác giả quốc tế. Daneshi và cộng sự (2020) ước tính rằng dị tật tai trong xuất hiện trên hình ảnh (CT, MRI) của 20% trẻ em bị điếc bẩm sinh [94]. Theo nghiên cứu của Buchman (2004) có 28 trường hợp trong tổng số 315 trường hợp cấy điện cực ốc tai có dị dạng tai trong [95]. Cũng chính nghiên cứu này của Buchman cho biết cấy điện cực ốc tai có thể thực hiện thành công cho trẻ có dị tật tai trong. Tuy nhiên tùy thuộc từng loại dị tật mà tiên lượng sẽ khác nhau đối với hiệu quả hoạt động thính giác sau phẫu thuật.

• **Hình ảnh dây thần kinh VIII trên cộng hưởng từ**

**Bảng 3.11.** Hình ảnh dây thần kinh số VIII trên MRI

<b>Dây thần kinh VIII</b>	<b>Số lượng BN (n)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
Dây VIII bình thường	29	96.67
Dây VIII dạng vết (mảnh)	1	3.33
Không có dây VIII	0	0
<b>Tổng (N)</b>	<b>30</b>	<b>100</b>

Phim cộng hưởng từ (MRI) đánh giá chủ yếu tổ chức mềm và quan trọng nhất là giúp xác nhận sự tồn tại của dây thần kinh thính giác (dây thần kinh VIII). Đây là điều kiện rất quan trọng, nhất định phải có nếu muốn cấy điện cực ốc tai. Nếu không có dây thần kinh VIII thì việc cấy điện cực ốc tai hoàn toàn không có hiệu quả vì dây thần kinh này làm nhiệm vụ đưa thông tin về âm thanh từ ốc tai lên thần kinh trung ương (não bộ). Theo Bảng 3.11 chúng tôi nhận thấy có 29 bệnh nhân có kết quả chụp cộng hưởng từ bình thường và 1 bệnh nhân có hình ảnh chụp MRI xương thái dương bất thường cụ thể là hình ảnh thiếu sản dây thần kinh số VIII đoạn trong ống tai trong, không quan sát thấy nhánh ốc tai bên phải, quan sát thấy dạng vết nhánh bên trái. Bệnh nhân có bất thường này được chỉ định cấy điện cực ốc tai bên trái.

Đối với những trường hợp điếc bẩm sinh có cấu trúc ốc tai và dây thần kinh VIII bình thường nếu chỉ cấy một tai thường được chỉ định lựa chọn tai cùng bên với tay thuận (thường là bên phải). Tuy nhiên, trong trường hợp cụ thể này bệnh nhân sẽ được chỉ định cấy điện cực ốc tai bên trái và tư vấn về tiên lượng hiệu quả sau phẫu thuật thấp, khó ổn định.

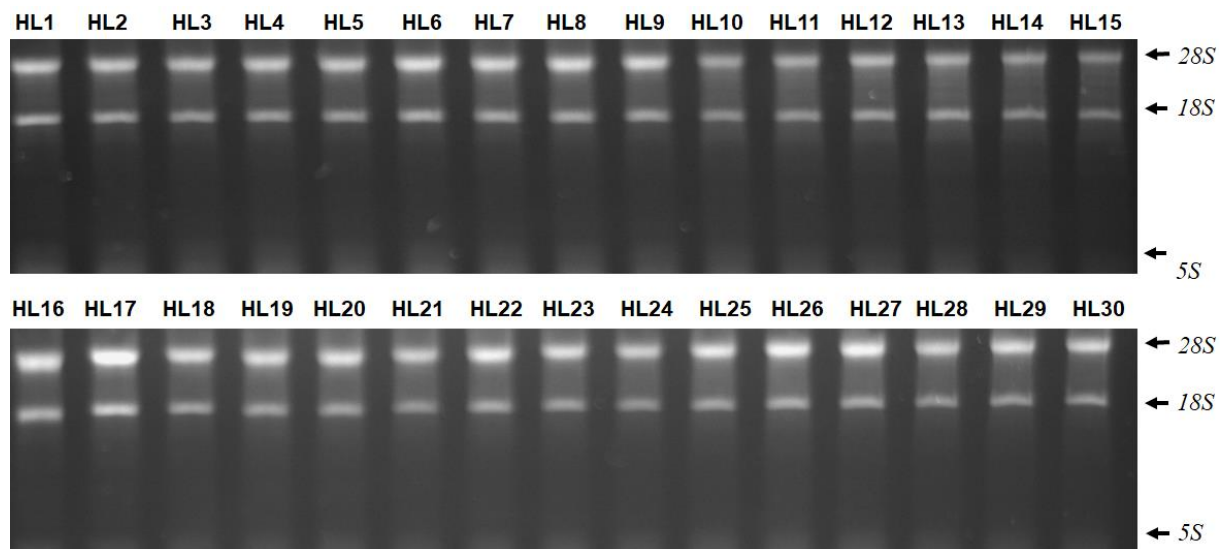
Theo kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Ngọc Dung và Lê Trần Quang Minh trên 54 bệnh nhân có chỉ định cấy điện cực ốc tai hình ảnh MRI xương thái dương không có bất kì dị dạng nào [64]. Tác giả Gray (1998) đã báo cáo về thất bại khi cấy điện cực ốc tai cho trường hợp không phát hiện ra thiếu

sản dây TK VIII trước phẫu thuật vì chỉ dựa vào hình ảnh CT mà không chỉ định chụp MRI trước phẫu thuật [96]. Tác giả Adunka (2009) chỉ ra rằng CT với độ phân giải cao cũng không thể phát hiện ra bất sản dây thần kinh VIII, tác giả cũng báo cáo một trường hợp tuy có hình ảnh ống tai trong bình thường trên CT nhưng lại không có dây thần kinh VIII trên phim chụp MRI [97]. Mohamed (2023) khuyến cáo việc kết hợp đồng thời cả CT và MRI xương thái dương là hết sức cần thiết để đánh giá toàn diện, không thể thiếu trước khi phẫu thuật cấy điện cực ốc tai [98].

### 3.3. KHUẾCH ĐẠI VÀ BIỂU HIỆN CÁC GEN *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3*, *MT-RNR1*

#### 3.3.1. Tách chiết RNA tổng số

Kết quả điện di kiểm tra 30 mẫu RNA tổng số đã tách chiết trên gel agarose 1.5% trong Hình 3.5.



**Hình 3.4.** Kết quả điện di 30 mẫu RNA tổng số trên gel agarose 1.5%

Tất cả mẫu RNA tổng số đều xuất hiện rõ ba băng vạch 28S, 18S và 5S.

Kết quả đo bằng máy NanoDrop các mẫu RNA tổng số có kết quả đo nồng độ > 50 ng/ul và có giá trị tỷ lệ hấp phụ (chỉ số tinh khiết của mẫu) 260/280 nm đạt từ 1.8 – 2.0 (Bảng 3.12).

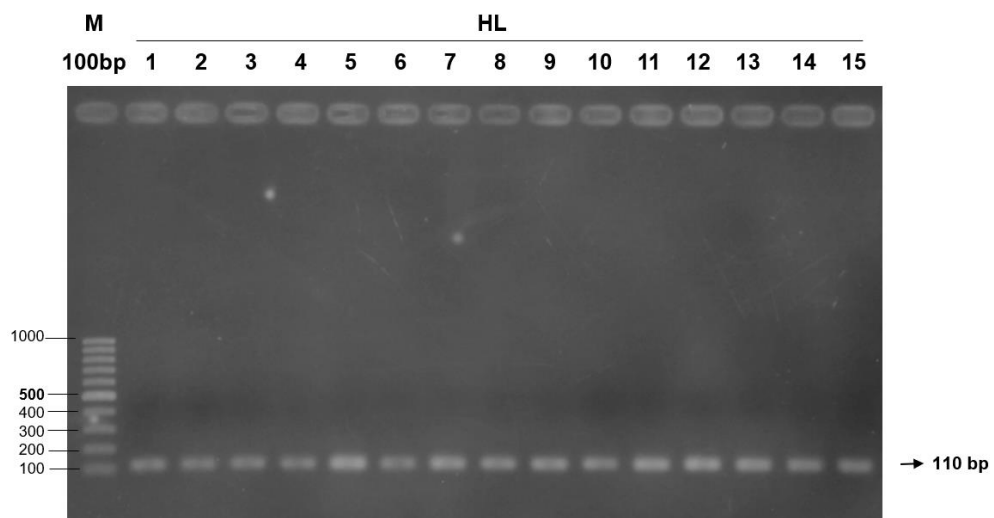
**Bảng 3.12.** Nồng độ 30 mẫu RNA tổng số được tách từ mẫu máu bệnh nhân

STT	Kí hiệu mẫu		Nồng độ (ng/ul)	A260/280	STT		Kí hiệu mẫu	Nồng độ (ng/ul)	A260/280
1	<b>HL1</b>	Trần Đoàn Hoàng H	163.9	1.80	16	Dương Quỳnh C	<b>HL16</b>	101.7	1.81
2	<b>HL2</b>	Nguyễn Duy A	73.5	1.94	17	Ngô Minh H	<b>HL17</b>	83.4	2.00
3	<b>HL3</b>	Ngô Kh	123.5	1.81	18	Nguyễn Tuệ M	<b>HL18</b>	458.5	1.88
4	<b>HL4</b>	Nguyễn Gia H	175.7	1.93	19	Đào Trọng N	<b>HL19</b>	643.3	1.91
5	<b>HL5</b>	Nguyễn Đình Đăng Kh	52.3	1.98	20	Nguyễn Thạc K	<b>HL20</b>	300.9	1.88
6	<b>HL6</b>	Bì Bảo B	52.3	1.98	21	Ngô Bảo L	<b>HL21</b>	318.6	1.92
7	<b>HL7</b>	Phạm Thị Diệu H	232.1	1.84	22	Nguyễn Ngọc Hồng A	<b>HL22</b>	132.7	1.86
8	<b>HL8</b>	Nguyễn Gia Kh	165.6	1.85	23	Nguyễn Ngọc Trà M	<b>HL23</b>	549.5	1.99
9	<b>HL9</b>	Lý Trà M	280.5	1.85	24	Phạm Tú A	<b>HL24</b>	451.7	1.89
10	<b>HL10</b>	Nguyễn Linh C	88.7	1.99	25	Nguyễn Hoàng Kim N	<b>HL25</b>	460.2	2.02
11	<b>HL11</b>	Bùi Anh T	98.4	2.00	26	Đặng Lê Kim N	<b>HL26</b>	355.5	2.00
12	<b>HL12</b>	Phạm Nguyễn Quang H	50.9	1.83	27	Nguyễn Phước L	<b>HL27</b>	412.5	1.97
13	<b>HL13</b>	Đỗ Đăng K	117.4	1.81	28	Nguyễn Trần Quỳnh C	<b>HL28</b>	117.0	2.01
14	<b>HL14</b>	Nguyễn Ngọc Bích L	103.7	1.80	29	Mai Tuấn K	<b>HL29</b>	479.2	1.91
15	<b>HL15</b>	Nguyễn Thị Kim L	54.5	1.88	30	Hoàng Anh T	<b>HL30</b>	192.1	1.99

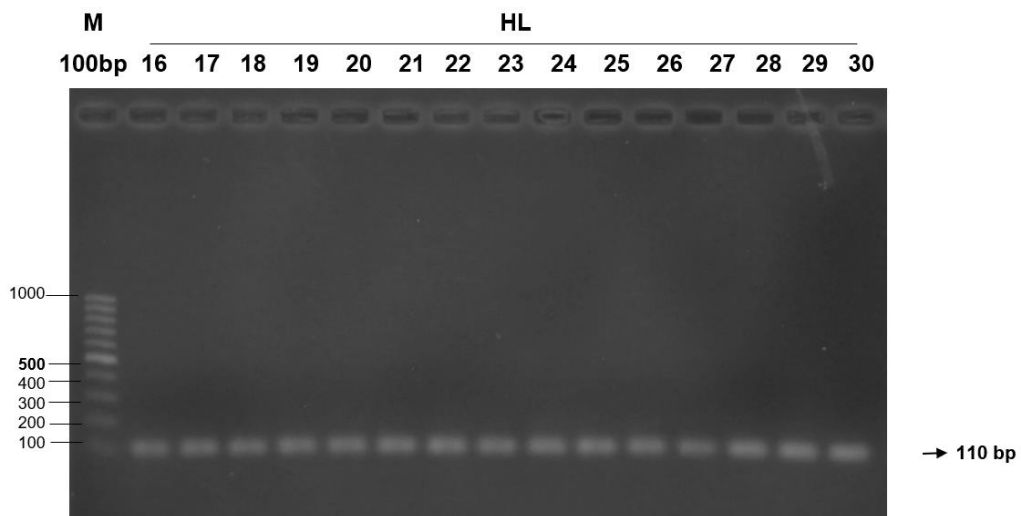
Các mẫu RNA tổng số đều có nồng độ  $> 50 \text{ ng/ } \mu\text{L}$ , chỉ số OD260/280  $\geq 1.8$ . Như vậy các mẫu RNA tổng số đạt yêu cầu cho tổng hợp mẫu cDNA.

### 3.3.2. Phương pháp PCR

Chu trình nhiệt đã được tối ưu, thực hiện phản ứng ở chu kỳ nhiệt:  $95^\circ\text{C}$  trong 5 phút, 30 chu kỳ cho cặp mồi *18S rRNA*, *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3* và 25 chu kỳ cho cặp mồi *MT-RNR1* ( $95^\circ\text{C}$ , 30 giây;  $55^\circ\text{C}$ , 15 giây;  $72^\circ\text{C}$ , 30 giây);  $72^\circ\text{C}$ , 7 phút. Kết quả các sản phẩm PCR được trình bày trong các Hình 3.6 - 3.15.

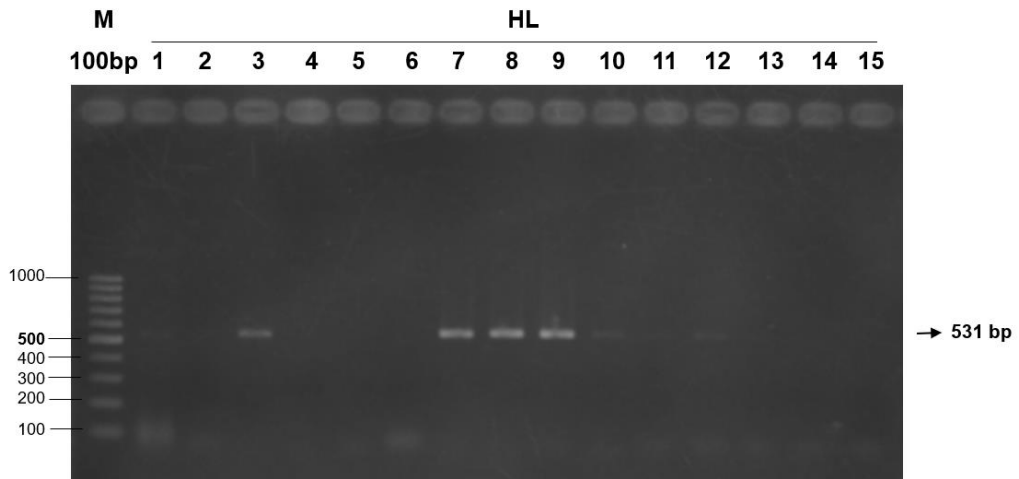


**Hình 3.5.** Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL1 đến HL15 với với cặp mồi *18S rRNA*

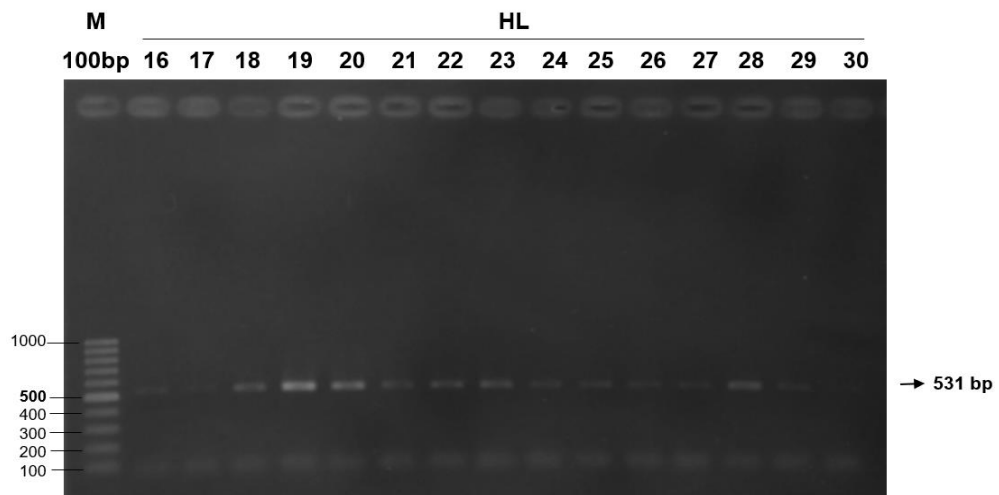


**Hình 3.6.** Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL16 đến HL30 với với cặp mồi *18S rRNA*

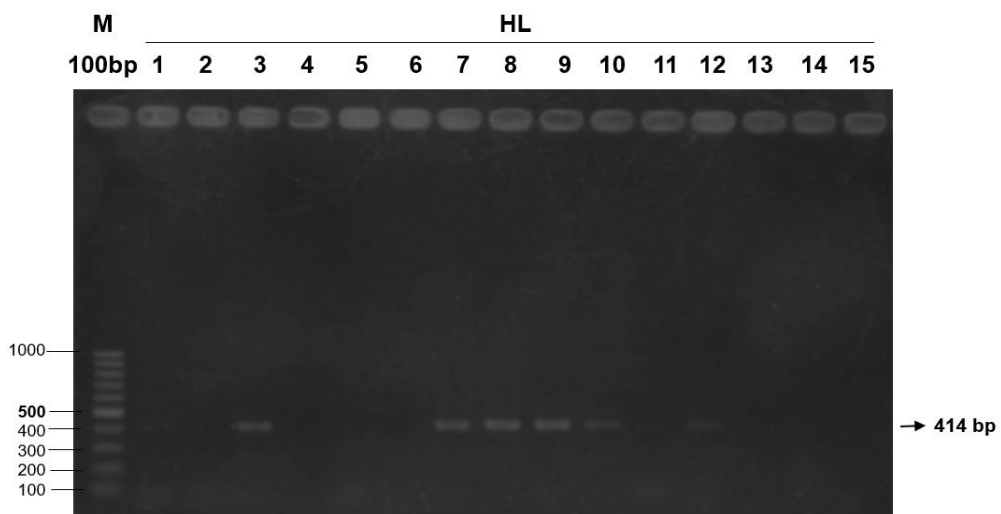




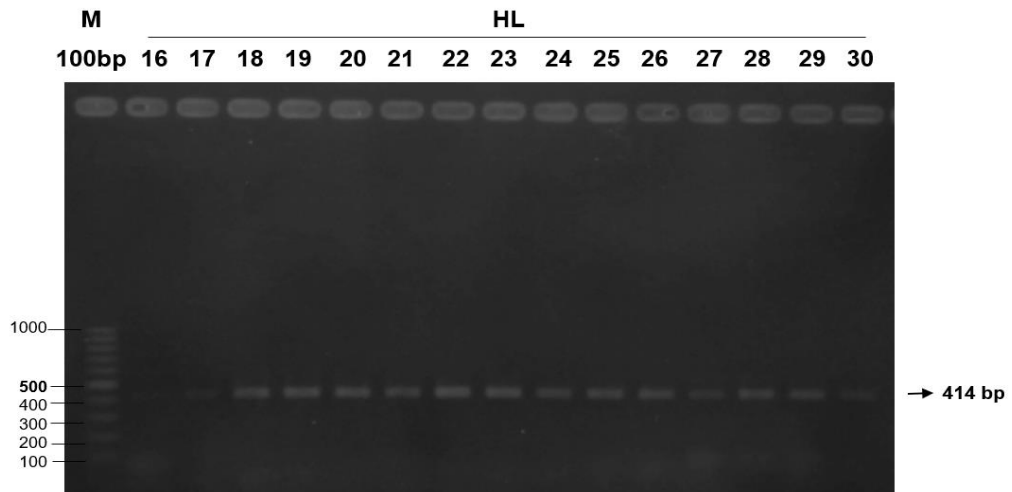
**Hình 3.7.** Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL1 đến HL15 với với cặp mồi *GJB2*



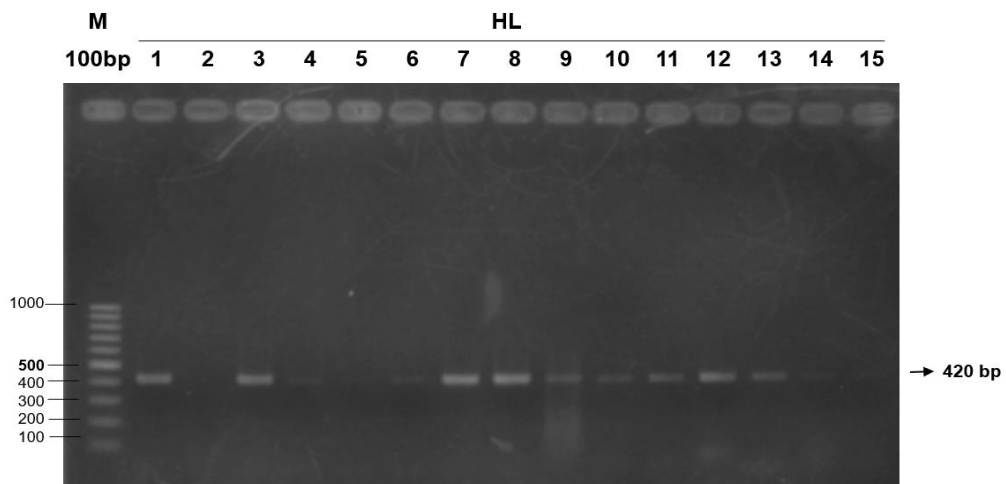
**Hình 3.8.** Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL16 đến HL30 với với cặp mồi *GJB2*



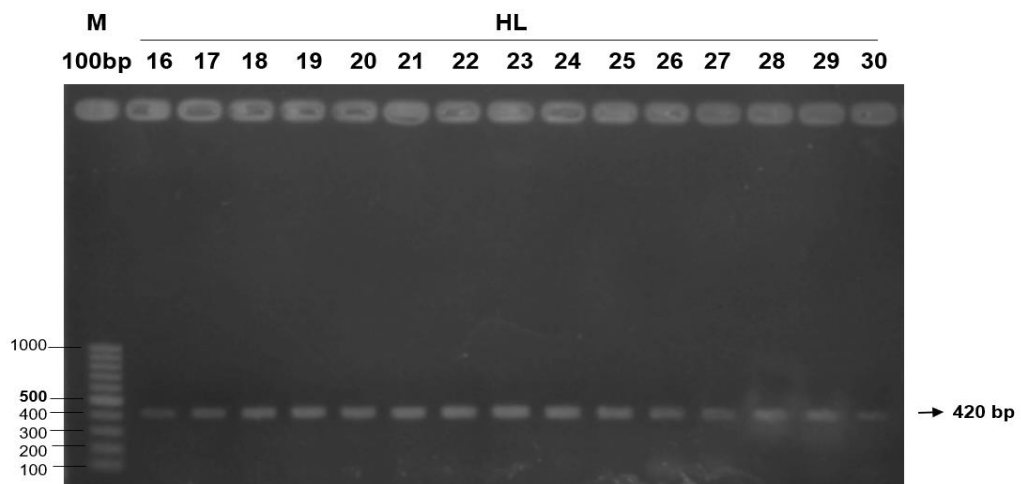
**Hình 3.9.** Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL1 đến HL15 với với cặp mồi *SLC26A4*



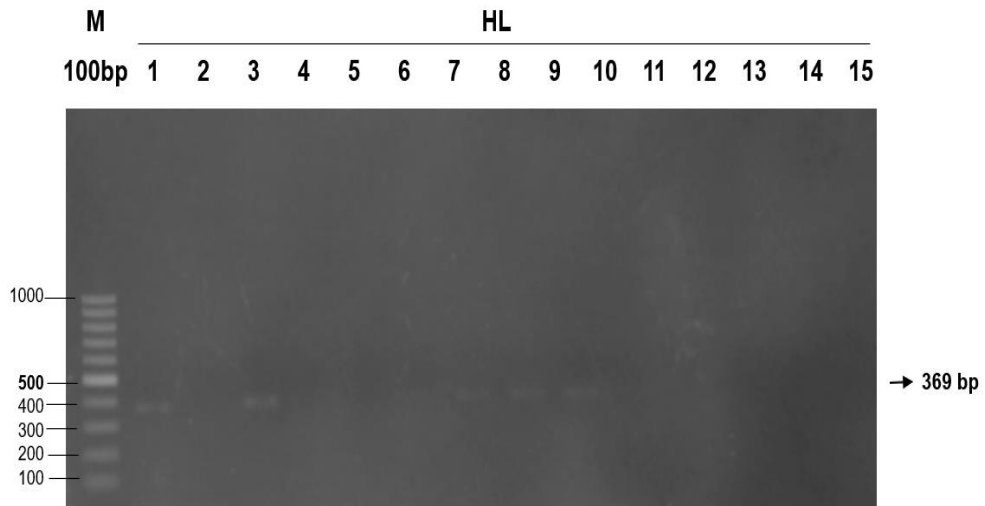
**Hình 3.10.** Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL16 đến HL30 với với cặp mồi *SLC26A4*



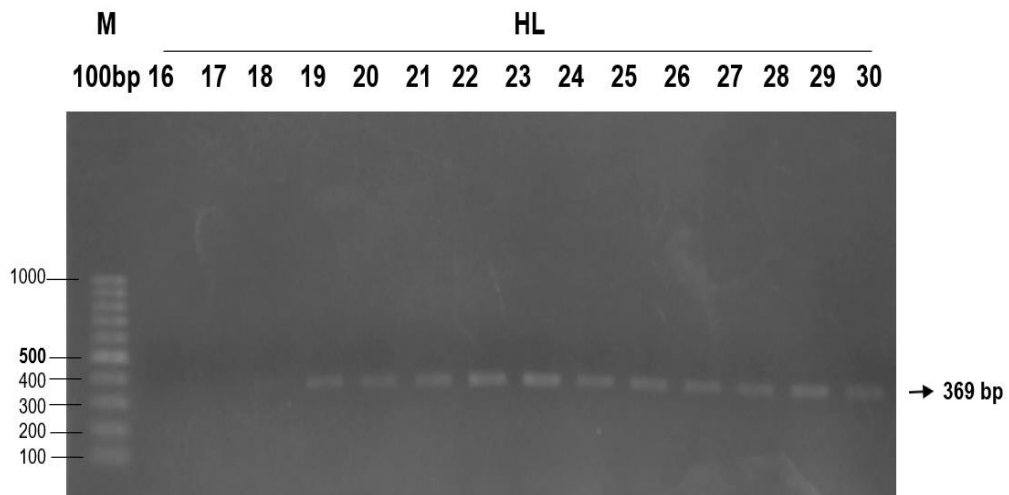
**Hình 3.11.** Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL1 đến HL15 với với cặp mồi *MT-RNR1*



**Hình 3.12.** Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL16 đến HL30 với với cặp mồi *MT-RNR1*



**Hình 3.13.** Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL1 đến HL15 với với cặp mồi *GJB3*

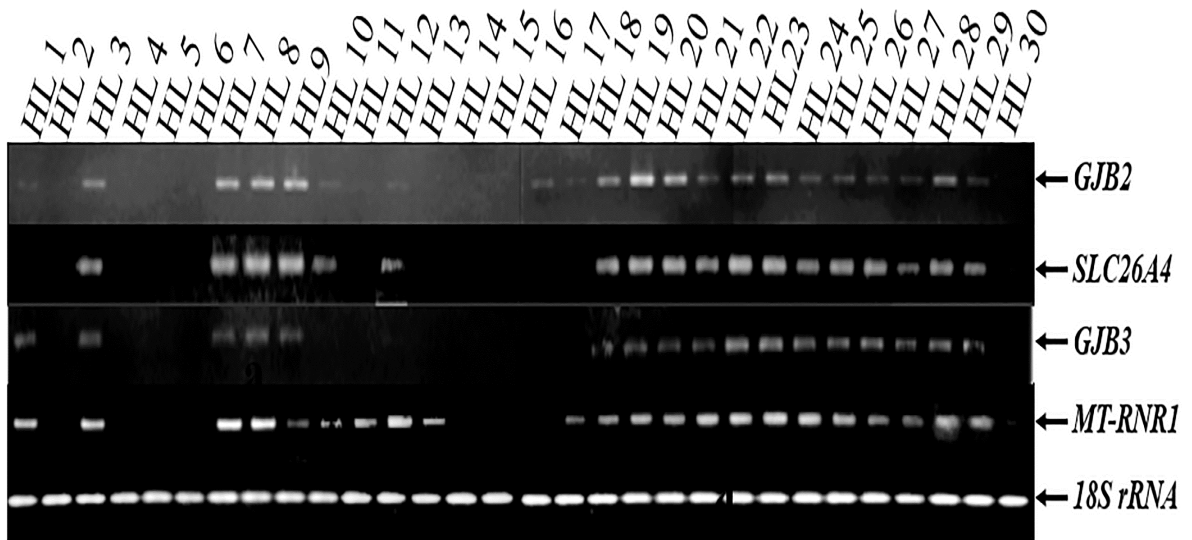


**Hình 3.14.** Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu HL16 đến HL30 với với cặp mồi *GJB3*

Kết quả trong các hình cho thấy các gen đều được nhân lên đúng kích thước theo tính toán lý thuyết.

### 3.3.3. Biểu hiện gen

Trong nghiên cứu này, sử dụng gen *18S rRNA* làm đối chứng để so sánh mức độ biểu hiện tăng hay giảm của từng gen đích. Kết quả được trình bày trong Hình 3.15 và Bảng 3.13.



**Hình 3.15.** Kết quả điện di sản phẩm PCR 30 mẫu HL với với các cặp mồi.

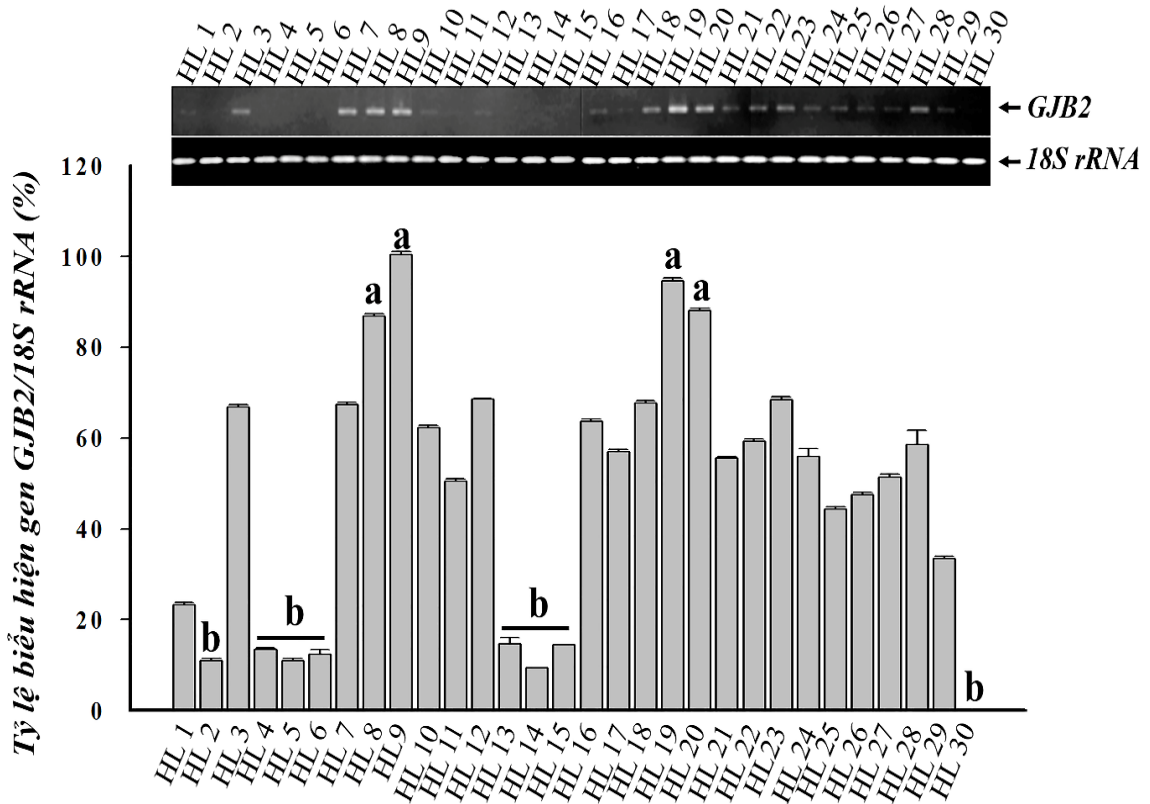
**Bảng 3.13.** Danh sách mức độ biểu hiện gen liên quan đến đên đên điếc  
(tăng hay giảm so với gen *18S rRNA*)

Mẫu	<i>GJB2/18S</i>	<i>GJB3/18S</i>	<i>MT-RNR1/18S</i>	<i>SLC26A4/18S</i>
HL 1	23.25	58.70	68.04	1.63
HL 2	10.92	3.35	0.00	0.00
HL 3	66.74	73.20	81.77	64.56
HL 4	13.32	11.37	0.00	0.00
HL 5	11.03	16.19	0.00	0.00
HL 6	12.35	3.32	0.00	1.58
HL 7	67.38	62.08	88.22	76.54
HL 8	86.83	100.00	92.15	100.60
HL 9	100.44	74.40	21.90	100.20
HL 10	62.18	28.89	25.61	42.45
HL 11	50.50	22.96	49.53	0.00
HL 12	68.55	28.61	100.08	36.63
HL 13	14.64	11.96	44.48	0.00

Mẫu	<i>GJB2/18S</i>	<i>GJB3/18S</i>	<i>MT-RNR1/18S</i>	<i>SLC26A4/18S</i>
HL 14	9.32	4.70	0.00	0.00
HL 15	14.46	2.18	0.00	0.00
HL 16	63.64	0.12	0.00	2.49
HL 17	56.89	0.14	23.29	0.00
HL 18	67.69	36.29	38.81	54.30
HL 19	94.64	50.84	55.06	71.12
HL 20	88.02	34.38	51.74	64.74
HL 21	55.68	33.69	68.52	45.39
HL 22	59.30	85.39	68.08	68.94
HL 23	68.49	91.19	90.30	70.52
HL 24	56.01	57.92	76.04	39.96
HL 25	44.38	48.93	57.73	50.91
HL 26	47.44	66.08	37.85	55.07
HL 27	51.37	48.19	36.76	27.50
HL 28	58.64	55.49	83.79	46.73
HL 29	33.40	37.92	57.71	31.56
HL 30	0.00	0.07	1.47	2.81
<b>Tổng</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>30</b>
<b>Tăng</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>2</b>
<b>Giảm</b>	<b>8</b>	<b>10</b>	<b>8</b>	<b>12</b>

Kết quả thống kê và phân tích biểu hiện cả 4 gen *GJB2*, *GJB3*, *SLC26A4* và *MT-RNR1* chia thành nhóm a là nhóm bệnh nhân có biểu hiện gen mạnh và nhóm b là nhóm bệnh nhân có biểu hiện gen yếu.

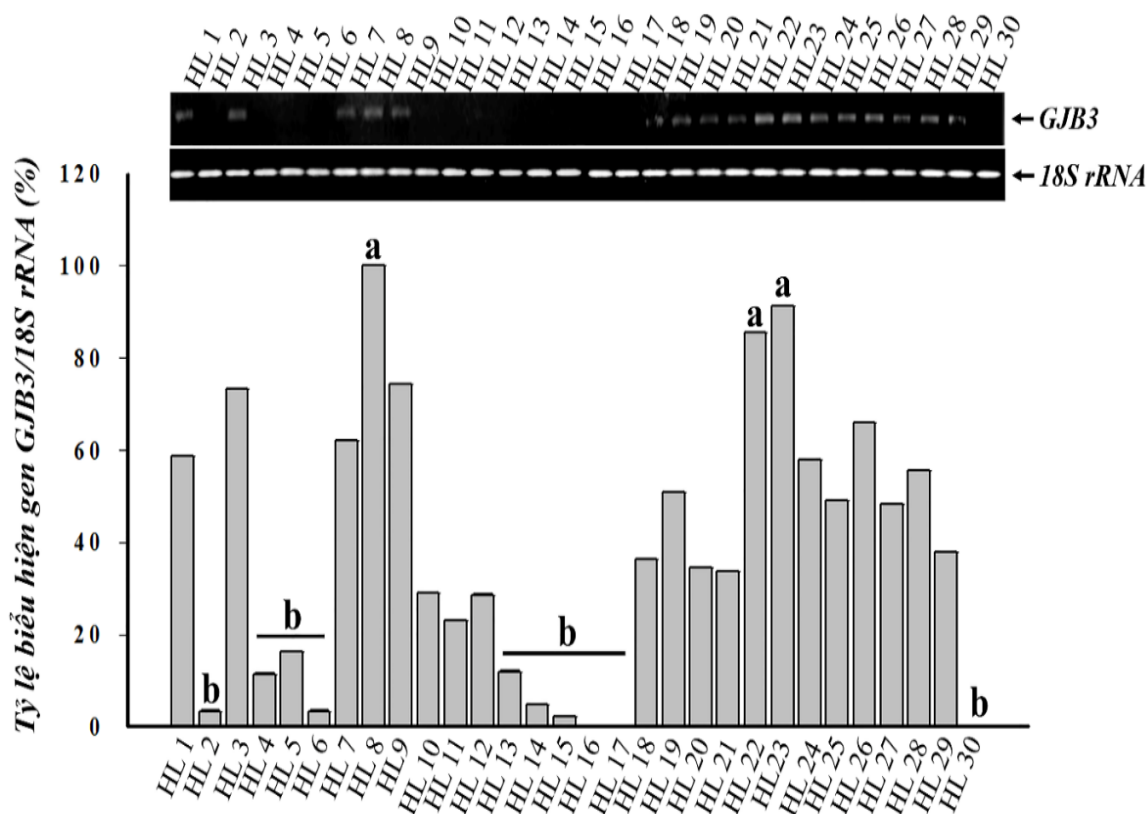
### 3.3.3.1. Kết quả biểu hiện gen *GJB2*



**Hình 3.16.** Biểu hiện của gen *GJB2* so với gen đối chứng *18S rRNA*

Đối với gen *GJB2* (bảng 3.13, hình 3.16) nhóm a gồm 4 mẫu (bảng 3.13) có biểu hiện gen tăng và nhóm b gồm 8 mẫu có biểu hiện gen giảm (bảng 3.13). Bệnh nhân có thể mắc khiếm thính bẩm sinh không triệu chứng, chủ yếu là một rối loạn mất chức năng. Các đột biến này sẽ làm dẫn đến tình trạng “mất chức năng” vì chúng làm cho protein connexin 26 bị thay đổi hoặc bất hoạt và điều này có thể làm gián đoạn quá trình lắp ráp hoặc chức năng của các mối nối khoảng cách. Ở tai trong, các khe hở bất thường hoặc thiếu hụt có thể ảnh hưởng đến chức năng và sự tồn tại của các tế bào cần thiết cho thính giác [99]. Biểu hiện gen *GJB2* tăng hay giảm ở bệnh nhân có thể do đột biến gen dẫn đến sai khác trong acid amin gây khiếm thính không hội chứng. Dường như hoạt động trong quá trình tái tạo Kali được tế bào lông sử dụng để tạo ra điện thế hoạt động đáp ứng với sóng âm thanh [100].

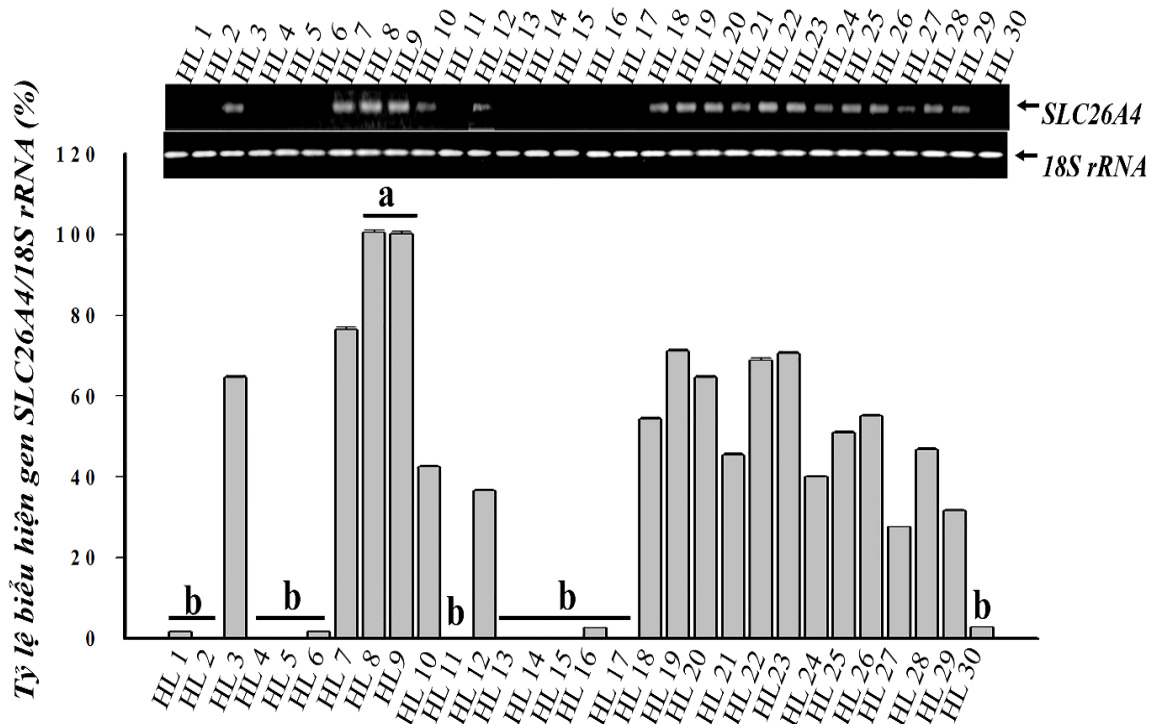
### 3.3.3.2. Biểu hiện gen *GJB3*



**Hình 3.17.** Biểu hiện của gen *GJB3* so với gen đối chứng *18S rRNA*

Kết quả biểu hiện gen *GJB3* (Bảng 3.13, Hình 3.17) nhóm a gồm 3 mẫu (Bảng 3.13) có biểu hiện gen tăng và nhóm b gồm 10 mẫu có biểu hiện gen giảm (Bảng 3.13). Các bệnh nhân có biểu hiện gen tăng hoặc giảm có thể mang đột biến trên gen *GJB3*. Các đột biến trong gen *GJB3* có thể gây ra bệnh điếc thần kinh thần kinh không do hội chứng trội trên nhiễm sắc thể thường. Khiến chức năng các mối nối khoảng cách mở và đóng để điều chỉnh dòng chất dinh dưỡng, các nguyên tử tích điện (ion) và các phân tử truyền tín hiệu khác từ tế bào này sang tế bào khác. Ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và trưởng thành của các tế bào ở biểu bì [101].

### 3.3.3.3. Biểu hiện gen *SLC26A4*

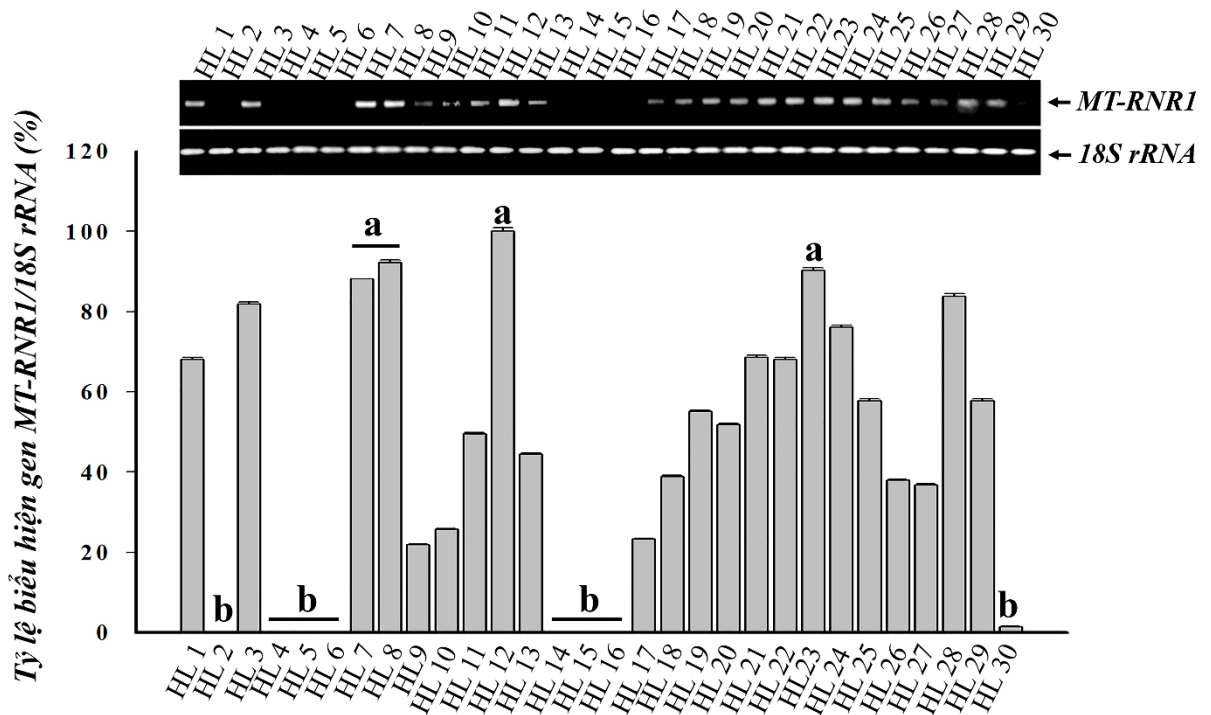


**Hình 3.18.** Biểu hiện của gen *SLC26A4* so với gen đối chứng *18S rRNA*

Kết quả biểu hiện gen *SLC26A4* (Bảng 3.13, Hình 3.18) nhóm a gồm 2 mẫu (Bảng 3.13) có biểu hiện gen tăng và nhóm b gồm 12 mẫu có biểu hiện gen giảm (Bảng 3.13). Đột biến trong gen này gây ra một dạng mất thính lực không do hội chứng liên quan đến cống tiền đình mở rộng được gọi là DFNB4. Hình thức nghe kém này có thể xuất hiện trước khi trẻ học nói (trước ngôn ngữ) hoặc bắt đầu sau khi trẻ học nói (sau ngôn ngữ). Đột biến trong gen *SLC26A4* cũng gây ra khoảng 50% trường hợp của nghe kém do hội chứng Pendred. Gen này quy định tổng hợp một loại protein là pendrin. Protein này giúp vận chuyển các anion, gồm có iodide, chloride và bicarbonate ra vào tế bào. Nhiều nghiên cứu đã cho biết protein pendrin đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì nồng độ phù hợp của các ion ở tuyến giáp và tai trong. Đột biến gen *SLC26A4* làm suy yếu hoặc loại bỏ hoạt động của pendrin, đồng thời gây ảnh hưởng việc vận chuyển anion. Sự mất cân bằng của các anion làm phá vỡ sự phát triển bình thường của tuyến giáp và các cấu trúc trong tai trong, bao gồm ốc tai và cống tiền đình [102].



### 3.3.3.4. Biểu hiện gen *MT-RNR1*



**Hình 3.19.** Biểu hiện của gen *MT-RNR1* so với gen đối chứng *18S rRNA*

Kết quả biểu hiện gen *MT-RNR1* (Bảng 3.13, Hình 3.19) nhóm a gồm 4 mẫu (Bảng 3.13) có biểu hiện gen tăng và nhóm b gồm 8 mẫu có biểu hiện gen giảm (Bảng 3.13). Phân tử này giúp lắp ráp các khối xây dựng protein được gọi là axit amin thành các protein hoạt động thực hiện quá trình phosphoryl hóa oxy hóa trong ty thể. Đột biến ở gen này làm tăng nguy cơ mất thính giác, đặc biệt ở những người dùng thuốc kháng sinh theo đơn thuốc nhóm aminoglycoside. Những kháng sinh này thường được sử dụng để điều trị các bệnh nhiễm trùng mãn tính và đe dọa tính mạng như bệnh lao. Aminoglycoside tiêu diệt vi khuẩn bằng cách liên kết với RNA ribosome của chúng và phá vỡ khả năng tạo protein của vi khuẩn. Những thay đổi di truyền phổ biến trong *MT-RNR1* có thể làm cho 12S rRNA trong tế bào người giống với ARN ribôxôm của vi khuẩn. Kết quả là, aminoglycoside có thể nhắm mục tiêu 12S rRNA đã thay đổi giống như chúng nhắm mục tiêu RNA ribosome của vi khuẩn. Loại kháng sinh này dễ dàng liên kết với 12S rRNA bất thường, làm suy yếu khả năng của ty thể để tạo ra các protein cần thiết cho quá trình phosphoryl

hóa oxy hóa. Các nhà nghiên cứu tin rằng tác dụng ngoài ý muốn này của aminoglycoside có thể làm giảm lượng ATP được tạo ra trong ty thể, tăng sản xuất các sản phẩm phụ có hại và cuối cùng khiến tế bào tự hủy (trải qua quá trình chết theo chương trình) [103].

### 3.3.4. Giải trình tự 30 mẫu cDNA với mỗi 3SNP- MT-RNR1

Sản phẩm PCR nhân đoạn gen *MT-RNR1* bằng cặp mồi *3SNP-MT-RNR1* của 30 mẫu nghiên cứu sau khi tinh sạch được giải trình tự theo phương pháp Sanger. Kết quả đã thu được một trình tự nucleotide có chiều dài khoảng 800bp đúng với kích thước tính toán.

Kết quả so sánh trình tự 30 mẫu gen điếc với trình tự tham chiếu gen *MT-RNR1* (NC\_012920.1) (Bảng 3.17, Hình 3.16).

**Bảng 3.14.** Vị trí đột biến trên gen *MT-RNR1* trên 30 bệnh nhân

Số lượng đột biến	Trình tự tham chiếu	Trình tự thay đổi	Vị trí thay đổi	Thay đổi	Đồng hợp tử (*)
30	A	G	1438	c.1438A>G	-
2	T	C	1119	c.1119T>C	-
1	C	T	1048	c.1048C>T	-
1	T	C	1107	c.1107T>C	-
2	T	C	1541	c.1541T>C	-
1	T	C	1005	c.1005T>C	-

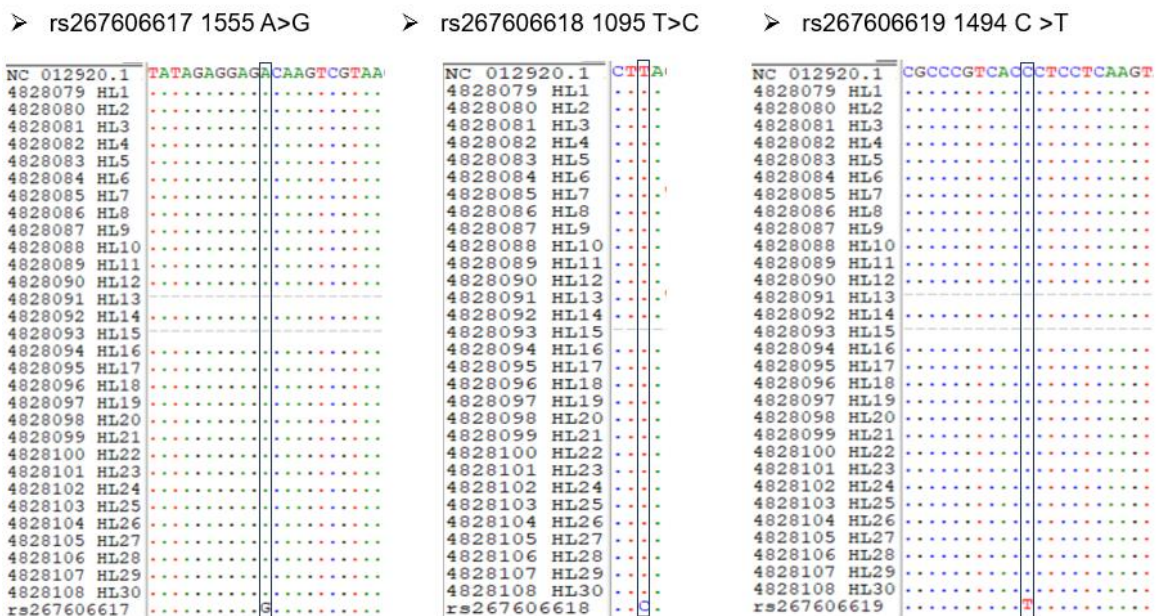
(\* Dị hợp tử: +; Đồng hợp tử: -)

Theo kết quả trong Hình 3.20 và Bảng 3.14, không thấy có xuất hiện 3 điểm đột biến rs267606617 (1555A>G), rs267606618 (1095T>C), rs267606619 (1494C>T). Cả 30 bệnh nhân đều nhận thấy không xuất hiện đột biến dị hợp tử ở 3 vị trí SNP này.

Kết quả từ một số nghiên cứu trước đây cho biết tỷ lệ hay gặp của các đột biến gen *MT-RNR1* liên quan đến điếc là không rõ ràng và thay đổi theo các nhóm dân tộc khác nhau, nhưng được ước tính là khoảng 1–2% [56], [57].

Ngoài ra, trong một nghiên cứu lẻ tẻ trên các đối tượng khiếm thính ở Tây Ban Nha, chỉ có 3 trường hợp được phát hiện có đột biến gen *MT-RNR1* trong số 1340 người [104].

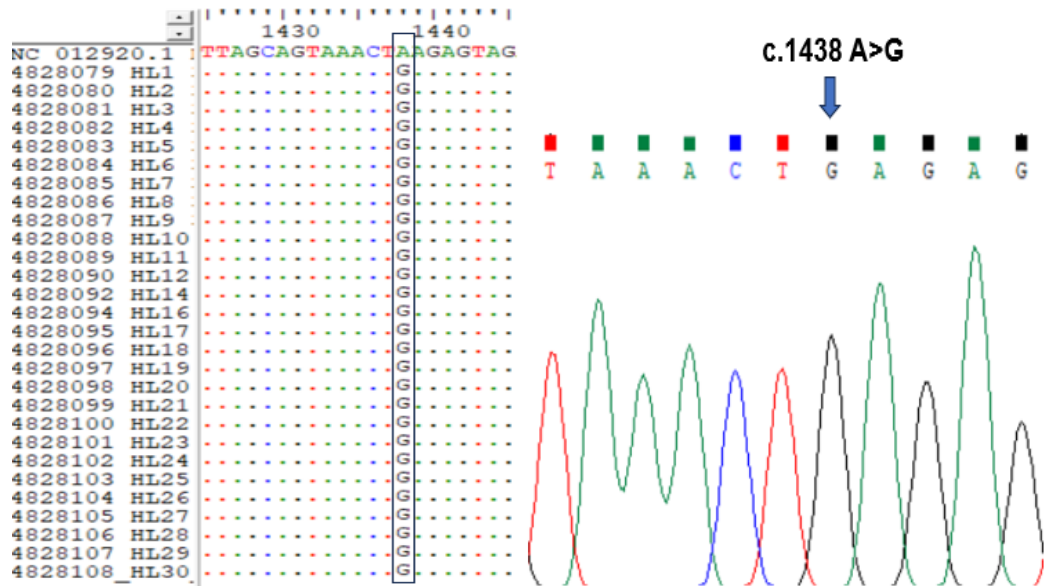
Nghiên cứu của chúng tôi không nhận thấy sự xuất hiện của 3 điểm đột biến trên có thể do số lượng mẫu chưa đủ lớn hoặc các đa hình nucleotide đơn này có liên quan đến nhiễm độc thuốc trong quá trình mang thai của mẹ, nhưng dữ liệu của mẫu là cắt ngang, việc thu thập thông tin sử dụng nhóm thuốc từ mẹ không đầy đủ, đây là hạn chế của đề tài.



**Hình 3.20.** Vị trí tham chiếu 3 SNP trên 30 mẫu bệnh nhân

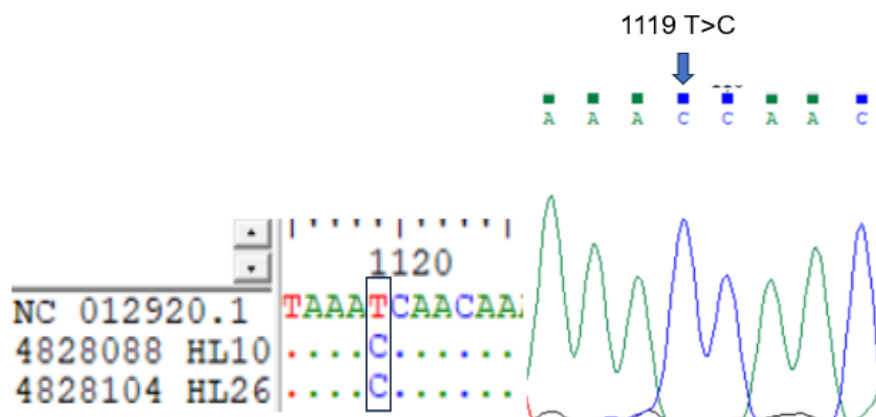
Ngoài ra, so sánh với trình tự tham chiếu, 30 mẫu đều có xuất hiện đột biến đồng hợp tử tại vị trí 1438 nucleotide A thành nucleotide G (rs2001030) trên gen *MT-RNR1* (Hình 3.17).

m.1438A>G trong *MT-RNR1*, biến thể này đã được xác định với tần suất cao (>1%) trong dân số nói chung và đã được xác định ở ít nhất 10 người có thính giác bình thường [56], [105]. Tuy nhiên, nucleotide ở vị trí này không được bảo tồn tốt.



**Hình 3.21.** Vị trí đột biến A thành G ở 30 mẫu bệnh nhân.

Tại vị trí 1119 ở mẫu HL10 và HL26 nucleotide T thành nucleotide C (rs397515724) trên gen *MT-RNR1* (Hình 3.21). m.1119T>C trong *MT-RNR1*, biến thể này không có ý nghĩa lâm sàng vì nó không liên quan đến mất thính lực mặc dù nghiên cứu sâu rộng về gen này trong các trường hợp mất thính giác trên khắp thế giới và đã được xác định với tần suất tương tự ở các bệnh nhân mất thính lực và đối chứng (~1 - 5%) [106], [107]. Ngoài ra, biến thể này là dạng polymorphism phổ biến trong các nghiên cứu phát sinh loài và thuộc về một trong những biến thể đặc trưng của nhóm đơn bội ty thể [108], [109].

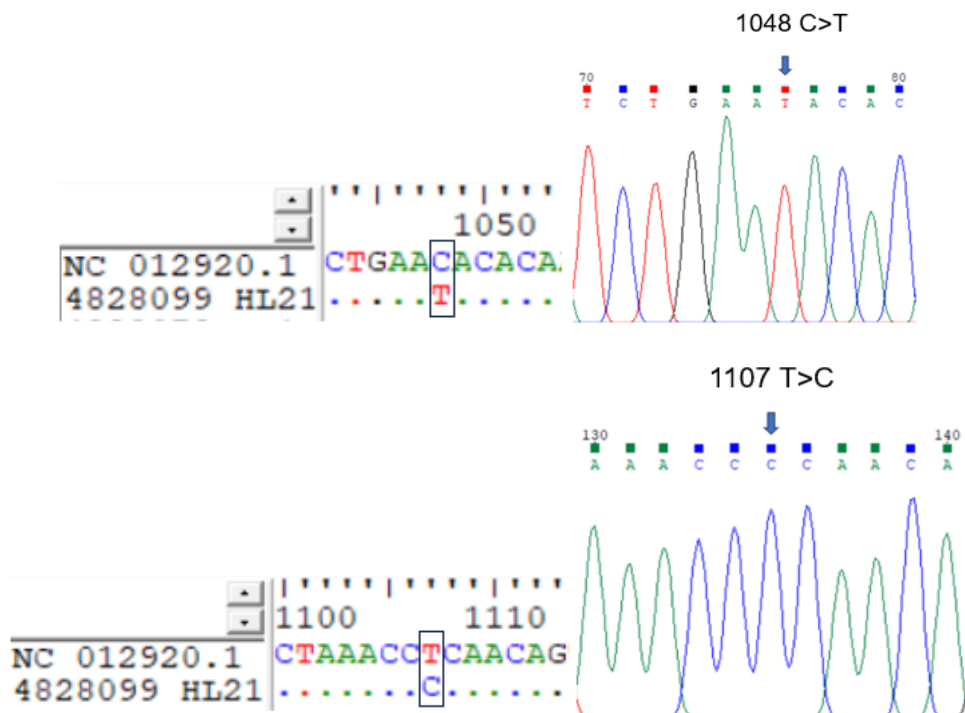


**Hình 3.22.** Vị trí đột biến của mẫu HL10 và HL26

Mẫu HL21 xuất hiện đột biến đồng hợp tử m.1048C>T trong *MT-RNR1* (Hình 3.19): Biến thể này được dự đoán không có ý nghĩa lâm sàng vì nó đã

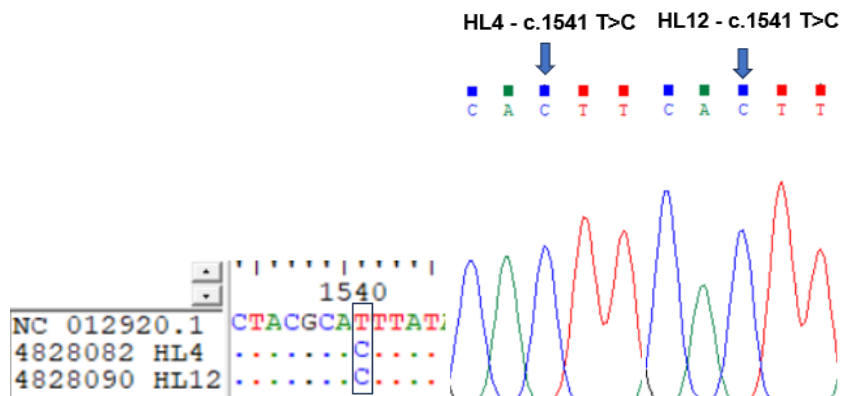
được báo cáo là một dạng đa hình phổ biến được thấy ở một số quần thể dân tộc bằng các nghiên cứu phát sinh gen tiến hóa.

m.1107T>C trong *MTRNR1*: Biến thể này được cho là không có ý nghĩa lâm sàng vì nó phổ biến và với tần suất tương tự ở những người bị mất thính lực và đối chứng [109]–[111]. Vùng DNA ty thể này không được bảo tồn về mặt tiến hóa [109], thể này là một phần của các đa hình đã biết liên quan đến các nhóm đơn bội ty thể [109], [112].



**Hình 3.23.** Vị trí đột biến của mẫu HL21

Mẫu HL4 và HL12 xuất hiện đột biến đồng hợp tử ở vị trí 1541 T>C (Hình 3.20).

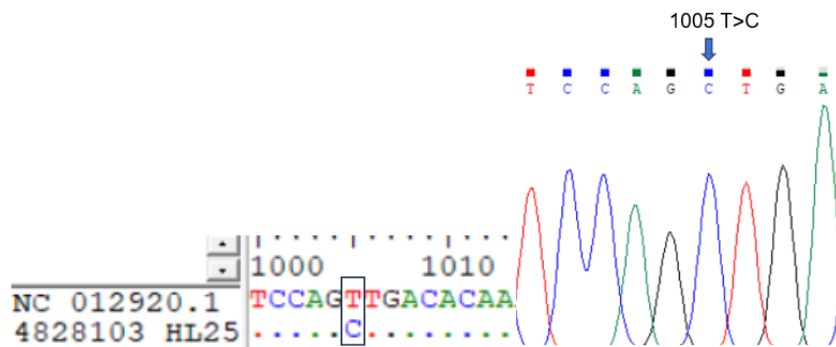


**Hình 3.24.** Vị trí đột biến trên mẫu HL4 và HL12

Mẫu HL25 xuất hiện đột biến đồng hợp tử ở vị trí 1005T>C trên gen *MT-RNR1* (Hình 3.21).

m.1005T>C trong *MT-RNR1*: Biến thể này đã được xác định ở 3/128 (2,3%) trẻ em Trung Quốc bị mất thính lực, nhưng không có bằng chứng cho thấy những bệnh nhân này có tiền sử gia đình bị mất thính lực [108]. Bệnh nhân HL25 cũng không có tiền sử sử dụng thuốc kháng sinh nhóm aminoglycoside nên điểm đột biến này không có ý nghĩa liên quan.

Ngoài ra, biến thể của nó đã được báo cáo là đa hình lành tính trên MitoMap và cũng đã được xác định ở 7/2703 cá thể trong Cơ sở dữ liệu bộ gen của ty thể người.



Hình 3.25. Vị trí đột biến trên mẫu HL25

### 3.4. ĐÁNH GIÁ LIÊN QUAN GIỮA MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG ĐIỂN HÌNH TRÊN BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU VỚI YẾU TỐ GEN

#### 3.2.1. Mối liên quan giữa tiền sử thai kỳ với kết quả biểu hiện gen

Bảng 3.15. Mối liên quan giữa tiền sử thai kỳ và kết quả biểu hiện gen *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3*, *MT-RNR1*

Tiền sử	Tiền sử mẹ thai kì	Trẻ có biểu hiện gen <i>GJB2</i>	Trẻ có biểu hiện gen <i>SLC26A4</i>	Trẻ có biểu hiện gen <i>GJB3</i>	Trẻ có biểu hiện gen <i>MT-RNR1</i>
Trường hợp					
Tiền sử bình thường	18	7 (58,33%)	10 (71,43%)	10 (76,92%)	9 (75%)
Tiền sử Rubella	3	1 (8,33%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Tiền sử bệnh lý khác	9	4 (33,33%)	4 (28,57%)	3 (23,08%)	3 (25%)
Tổng (N)	30	P = 0,99	P = 0,39	P = 0,39	P = 0,45

Kết quả trong Bảng 3.15 cho thấy, đối với kết quả biểu hiện ở mỗi gen, tỷ lệ bệnh nhân biểu hiện gen trong 3 nhóm: nhóm có tiền sử thai kỳ mẹ bị nhiễm bệnh lý nguy cơ gây khiếm thính bẩm sinh (Rubella), nhóm bệnh nhân có tiền sử thai kỳ bình thường và nhóm bệnh nhân có tiền sử thai kỳ mắc bệnh lý khác (sốt không rõ nguyên nhân, cúm) là như nhau, giá trị  $p > 0,05$ .

### 3.2.2. Mối liên quan giữa tiền sử gia đình với kết quả biểu hiện gen

**Bảng 3.16.** Mối liên quan giữa tiền sử gia đình và kết quả biểu hiện gen

*GJB2, SLC26A4, GJB3, MT-RNR1*

Tiền sử Trường hợp	Tiền sử BN	Trẻ có biểu hiện gen <i>GJB2</i>	Trẻ có biểu hiện gen <i>SLC26A4</i>	Trẻ có biểu hiện gen <i>GJB3</i>	Trẻ có biểu hiện gen <i>MT- RNR1</i>
Tiền sử bình thường	24	10 (83,33%)	12 (85,71%)	11 (84,61%)	8 (66,67%)
Tiền sử người thân nghe kém	4	2 (16,67%)	2 (14,29%)	2 (15,38%)	4 (33,33%)
<b>Tổng (N)</b>	30	P = 0,78	P = 0,93	P = 0,85	P = 0,78

Đối chiếu kết quả biểu hiện gen với tiền sử gia đình ở Bảng 3.16 chúng tôi nhận thấy, trong nhóm tiền sử gia đình: có 4 bệnh nhân có người nhà cùng bị khiếm thính bẩm sinh trong đó có 2 trường hợp có tỷ lệ biểu hiện gen là như nhau, giá trị  $p > 0,05$ .

### 3.2.3. Mối liên quan giữa tiền sử gia đình với kết quả biểu hiện gen

**Bảng 3.17.** Mối liên quan giữa tiền sử bệnh nhân và kết quả biểu hiện gen *GJB2,*

*SLC26A4, GJB3, MT-RNR1*

Tiền sử Trường hợp	Tiền sử BN	Trẻ có biểu hiện gen <i>GJB2</i>	Trẻ có biểu hiện gen <i>SLC26A4</i>	Trẻ có biểu hiện gen <i>GJB3</i>	Trẻ có biểu hiện gen <i>MT- RNR1</i>
Bình thường	21	9 (75%)	11 (78,57%)	10 (76,92%)	8 (66,67%)
Đẻ non, thiếu tháng	9	3 (25%)	3 (21,43%)	3 (21,43%)	4 (33,33%)
<b>Tổng (N)</b>	30	P = 0,74	P = 0,55	P = 0,64	P = 0,83

Tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện gen ở nhóm trẻ có tiền sử sơ sinh bình thường và nhóm trẻ đẻ non thiếu tháng là như nhau đối với kết quả biểu hiện ở mỗi gen,  $p > 0,05$  (Bảng 3.17).

Mức độ biểu hiện gen của một mẫu duy nhất là mẫu HL8 đều tăng ở cả bốn gen *GJB2* (86,83%), *GJB3* (100%), *MT-RNR1* (92,15%), *SLC26A4* (100,6%). Mức độ biểu hiện gen giảm đồng đều trên 4 gen có 8 mẫu là HL2, HL4, HL5, HL6, HL14, HL15 và HL30 (Bảng 3.13). Đặc điểm lâm sàng của mẫu HL6 và HL8 không nhận thấy điểm bất thường hay tác động từ yếu tố môi trường như mẹ mắc bệnh, sử dụng thuốc hay bệnh nhân có tiền sử bệnh khác, dị dạng tai. Ở những bệnh nhân có biểu hiện gen tăng hay giảm có khả năng mang đột biến trên bốn gen này.

Những bệnh nhân tăng hoặc giảm ở bốn gen có khả năng khiếm thính không do hội chứng, không liên quan đến những bất thường có thể nhìn thấy ở ngoài tai hoặc các phát hiện lâm sàng liên quan. Tuy nhiên, nó có thể liên quan đến những bất thường của tai giữa hoặc tai trong. Những trẻ mang đột biến trên bốn gen sẽ mất thính giác ngay từ khi sinh ra hoặc phát sinh sau sinh một vài năm, hoặc sẽ bị mất thính giác khi sử dụng một số loại dược phẩm đặc biệt.

Các mẫu còn lại có biểu hiện không thay đổi bất thường có khả năng nguyên nhân khiếm thính bẩm sinh do yếu tố môi trường như mẹ có bệnh thai kỳ, tiền sử bệnh lí phối hợp khác,... Các bệnh nhiễm trùng mẹ mắc phải khi mang thai như bệnh Rubella, Cytomegalovirus (CMV), Toxoplasmosis và Herpes hoặc mẹ dùng thuốc kháng sinh nhóm Aminoglycoside trong thai kì có thể khiến trẻ bị điếc bẩm sinh. Sinh non cũng là một trong những nguyên nhân gây điếc ở trẻ, bởi trong các trường hợp này, một số cơ quan ở trẻ chưa được phát triển toàn diện.



## Chương 4 : KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### 4.1. KẾT LUẬN

1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu: Độ tuổi chẩn đoán nghe kém đều dưới 36 tháng tuổi. Độ tuổi được cấy ĐCÔT từ 12-36 tháng tuổi chiếm 76,67%. Không có sự khác biệt về giới. Tiền sử mẹ mang thai có bệnh lý nguy cơ cao gây điếc bẩm sinh chiếm 43,33%. Có 4 trẻ có tiền sử gia đình có người bị điếc bẩm sinh chiếm 13,32%. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của nhóm nghiên cứu: Có 2 trẻ (6,66%) bị viêm tai giữa còn lại 28 trẻ (93,34%) trẻ có kết quả nội soi tai mũi họng bình thường. Có 6 trẻ có vấn đề về tâm lý, trí tuệ chiếm 19,98%, 24 trẻ bình thường chiếm 80,02%. 100% trẻ có kết quả đo OAE Refer và không có PXGCBD. Có 29 trẻ chiếm 96,97% trẻ điếc bẩm sinh có ABR không xuất hiện sóng V ở 90dB (nghe kém sâu). Có 6 trẻ chiếm tỷ lệ 19,98 % có hình ảnh cắt lớp vi tính xương bất thường và 1 trẻ chiếm 3,33% có hình ảnh dây thần kinh VIII trên phim MRI bất thường.

2. Kết quả xét nghiệm gen gây ĐBS: Biểu hiện gen *GJB2*: có 4 mẫu biểu hiện gen tăng và 8 mẫu biểu hiện gen giảm. Biểu hiện gen *GJB3*: có 3 mẫu biểu hiện gen tăng và 10 mẫu biểu hiện gen giảm. Biểu hiện gen *SLC26A4*: có 2 mẫu biểu hiện gen tăng và 12 mẫu biểu hiện gen giảm. Biểu hiện gen *MT-RNR1*: có 4 mẫu biểu hiện gen tăng và 8 mẫu biểu hiện gen giảm. Có 1 mẫu duy nhất có biểu hiện gen tăng đồng đều ở cả 4 gen, có 4 mẫu có biểu hiện gen giảm đồng đều trên cả 4 gen. Cả 30 mẫu đều không thấy có xuất hiện 2 điểm đột biến rs267606617 (1555A>G), rs267606618 (1095T>C).

### 4.2. KIẾN NGHỊ

1. Do còn nhiều khó khăn về kinh phí, thời gian và kỹ thuật, vì vậy cỡ mẫu của đề tài nghiên cứu vẫn còn hạn chế. Các nghiên cứu tiếp theo cần có cỡ mẫu lớn hơn, phân tích trên nhiều gen hơn thậm chí trên toàn bộ hệ gen biểu hiện của trẻ điếc bẩm sinh. Khảo sát thêm yếu tố gia đình trên nhóm bệnh nhân để đánh giá tính di truyền của các đột biến gen. Từ đó tạo cơ sở xác định một số chỉ thị phân tử gen gây điếc bẩm sinh đặc trưng ở người Việt Nam.

2. Cần nghiên cứu sâu hơn các mối liên quan giữa đặc điểm phân tử và các yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng. Nên có sự phối hợp chặt chẽ giữa các chuyên ngành, đơn vị nghiên cứu với các cơ sở chuyên khoa có dữ liệu về lâm sàng nhằm phục vụ phát hiện và chẩn đoán sớm di chứng bẩm sinh ở trẻ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Deafness and hearing loss, 2023, *who.int*, [https://www.who.int/health-topics/hearing-loss#tab=tab\\_2](https://www.who.int/health-topics/hearing-loss#tab=tab_2), accessed Jul. 14, 2023.
2. Mehra S., Eavey R.D., Keamy D.G., 2009, The epidemiology of hearing impairment in the United States: Newborns, children, and adolescents, *Otolaryngol Neck Surg*, 140(4), pp. 461–472.
3. Sự khẩn cấp trong điều trị khiếm thính cho trẻ, 2022, *thanhvien.vn*, <https://thanhvien.vn/su-khan-cap-trong-dieu-tri-khiem-thinh-cho-tre-em-1851498820.htm>, accessed Jul. 14, 2023.
4. WHO, M., 2012, Global estimates on prevalence of hearing loss, *WHO Geneva*, pp.11-12.
5. Rennels M., Pickering L.K., 2005, Sensorineural hearing loss in children, *Lancet*, 365(9477), pp. 2085–2086.
6. White K.R., 2004, Early hearing detection and intervention programs: Opportunities for genetic services, *Am Journal Med Gene*, 130A(1), pp. 29–36.
7. Wu C.-C., Lee Y.-C., Chen P.-J., Hsu C.-J., 2008, Predominance of Genetic Diagnosis and Imaging Results as Predictors in Determining the Speech Perception Performance Outcome After Cochlear Implantation in Children, *Arch Pediatr Adolesc Med*, 162(3), pp. 269.
8. Brown K.K., Rehm H. L., 2012, Molecular diagnosis of hearing loss, *Curr Protoc Hum Genet*, 72(SUPPL.72).
9. Melidis D.P, et al., 2022, GenOtoScope: Towards automating ACMG classification of variants associated with congenital hearing loss, *PLOS Comput Biol*, 18(9), pp. e1009785.
10. Yu H., Liu D., Yang J., Wu Z., 2018, Prevalence of Mutations in the *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3* , and *MT-RNR1* Genes in 103 Children with Sensorineural Hearing Loss in Shaoxing, China, *Ear, Nose Throat J.*, 97(6), pp. E33–E38.

11. Barbarino J.M., McGregor T.L., Altman R.B., Klein T.E., 2016, PharmGKB summary, *Pharmacogenet. Genomics*, 26(12), pp. 558–567.
12. Clark J.G, 1981, Users and abuses of hearing loss classification, *ASHA*, pp. 493–500.
13. Lin X., et al., 2012, Applications of targeted gene capture and next-generation sequencing technologies in studies of human deafness and other genetic disabilities, *Hear Res*, 288(1-2), pp. 67–76.
14. Geden H., Seneldir L., 2023, Connexin 26 (GJB2) Mutations Associated with Congenital Hearing Loss in a Country of Different Migration Routes: Turkey, *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, 75(S1), pp. 628–634.
15. Gao Z., Chen Y., Guan M.X., 2017, Mitochondrial DNA mutations associated with aminoglycoside induced ototoxicity, *Journal of Otology*, 12(1), pp. 1–8.
16. Võ Tấn, 1992, *Tai Mũi Họng thực hành*.
17. Nguyễn Văn Huy, 2011, *Giải phẫu người*, Nhà xuất bản Y học.
18. Đặng Xuân Hùng, 2010, *Thính học lâm sàng chẩn đoán*, Nhà xuất bản Y học.
19. Park E., et al., 2015, Predictors of round window accessibility for adult cochlear implantation based on pre-operative CT scan: A prospective observational study, *J Otolaryngol - Head Neck Surg*, 44(1).
20. Witte R.J., Lane J.I., Driscoll C.L., Lundy L.B., Bernstein M. A., Kotsenas A. L., 2003, Pediatric and adult cochlear implantation. Radiographics., *Pediatr adult cochlear Implant Radiogr*, 23(5), pp. 1185–200.
21. Hand G.M., Müller D.J., Nicholson B.J., Engel A., Sosinsky G.E., 2002, Isolation and characterization of gap junctions from tissue culture cells, *J Mol Biol*, 315(4), pp. 587–600.
22. Richard G., et al., 1998, Functional defects of Cx26 resulting from a

- heterozygous missense mutation in a family with dominant deaf-mutism and palmoplantar keratoderma, *Hum Genet*, 103(4), pp. 393–399.
23. Liu X.W., et al., 2020, The mutation frequencies of GJB2, GJB3, SLC26A4 and MT-RNR1 of patients with severe to profound sensorineural hearing loss in northwest China, *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 136.
  24. Green G.E., Scott DA., McDonald J. M., Woodworth G.G., Sheffield V.C., Smith R. J. H., 1999, Carrier rates in the midwestern United States for GJB2 mutations causing inherited deafness, *JAMA*, 281(23), pp. 2211–2216.
  25. Minárik G., Ferák V., Feráková E., Ficek A., Poláková H., Kádasi L., 2003, High frequency of GJB2 mutation W24X among Slovak Romany (Gypsy) patients with non-syndromic hearing loss (NSHL), *Gen Physiol Biophys*, 22(4), pp. 549–556.
  26. Abe S., Usami S. I., Shinkawa H., Kelley P. M., Kimberling W. J., 2000, Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese, *J Med Genet*, 37(1), pp. 41–43.
  27. Du W., Wang Q., Zhu Y., Wang Y., Guo Y., 2014, Associations between GJB2, mitochondrial 12S rRNA, SLC26A4 mutations, and hearing loss among three ethnicities, *Biomed Res Int*, 2014.
  28. Santos R. L. P., et al., 2005, Novel sequence variants in the TMC1 gene in Pakistani families with autosomal recessive hearing impairment., *Hum Mutat*, 26(4), pp. 396.
  29. Wei Q., et al., 2013, Genetic mutations of GJB2 and mitochondrial 12S rRNA in nonsyndromic hearing loss in Jiangsu Province of China, *J Transl Med*, 11(1).
  30. Xuong N.T., Tran V.D., 2019, Prevalence of hearing loss among preschool children in Hanoi, Vietnam, *Int J Contemp Pediatr*, 6(4), pp. 1501.

31. Nguyễn Tuyết Xương, Nguyễn Anh Dũng, Khu Thị Khánh Dung, 2012, Kết quả sàng lọc khiếm thính trẻ em tại Hà Nội năm 2011, *Hội tai mũi họng Việt Nam – Nội san hội nghị khoa học kỹ thuật toàn quốc*, pp.277-285.
32. Nguyen Thuy Duong, Nguyen Thi Xuan, Nguyen Hai Ha, *et al.*, 2015, Mutational analysis of GJB2, GJB6 and 12S rRNA genes in Vietnamese non-syndromic deaf children, *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 5(46), pp. 01-06.
33. Thanh C.M., *et al.*, (2021), Early Detection of Common Deafness Gene Mutations Associated with Diagnosis and Treatment, *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 25(1), pp. 3173–3179.
34. Thuy. T.P.C. *et al.*, 2023, Prevalence of GJB2 and TECTA gene mutations in children with non-syndromic hearing loss visiting an Otorhinolaryngology Hospital in Ho Chi Minh City, *Vietnamese Journal for Medical Biotechnology and Medicine Incorporating Advances in Regenerative Medicine*, 10(1), pp. 5523-5529.
35. Chang M.Y., Choi B.Y., 2014, Strategy for the customized mass screening of genetic sensorineural hearing loss in Koreans, *Korean J Audiol*, 18(2), pp. 45–49.
36. Green G.E., *et al.*, 2002, Performance of cochlear implant recipients with GJB2-related deafness, *Am J Med Genet*, 109(3), pp. 167–170.
37. Lustig L. R., *et al.*, 2004, GJB2 Gene Mutations in Cochlear Implant Recipients: Prevalence and Impact on Outcome, *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, pp. 541–546.
38. Tono T., *et al.*, 2001, Different clinical characteristics of aminoglycoside-induced profound deafness with and without the 1555 A→G mitochondrial mutation, *ORL*, 63(1), pp. 25–30.
39. Fischel-Ghodsian N. *et al.*, 1997, Mitochondrial gene mutation is a significant predisposing factor in aminoglycoside ototoxicity, *Am J*

- Otolaryngol - Head Neck Med Surg*, 18(3), pp. 173–178.
40. McFadden S.L., 2001, Genetics and Age-Related Hearing Loss, *Functional Neurobiology of Aging*, Elsevier, pp. 597- 603.
  41. Variation\_Gene, *ensemble.org*, [http://www.ensemble.org/Homo\\_sapiens/Gen/Variation\\_Gene/Table?g=ENSG00000165474;r=13:20187463-20192938](http://www.ensemble.org/Homo_sapiens/Gen/Variation_Gene/Table?g=ENSG00000165474;r=13:20187463-20192938).
  42. Janecke A.R., et al., 2002, Progressive hearing loss, and recurrent sudden sensorineural hearing loss associated with GJB2 mutations - Phenotypic spectrum and frequencies of GJB2 mutations in Austria, *Hum Genet*, 111(2), pp. 145–153.
  43. Shen J., et al., 2019, Consensus interpretation of the p.Met34Thr and p.Val37Ile variants in GJB2 by the ClinGen Hearing Loss Expert Panel, *Genet Med*, 21(11), pp. 2442–2452.
  44. Adhikary B., et al., 2015, Spectrum and frequency of GJB2, GJB6 and SLC26A4 gene mutations among nonsyndromic hearing loss patients in eastern part of India, *Gene*, 573(2), pp. 239–245.
  45. Yang X.L., et al., 2013, Common molecular etiology of patients with nonsyndromic hearing loss in Tibetan, Tu nationality, and Mongolian patients in the northwest of China, *Acta Otolaryngol*, 133(9), pp. 930–934.
  46. Gardner P., Oitmaa E., Messner A., Hoefsloot L., Metspalu A., Schrijver I., 2006, Simultaneous multigene mutation detection in patients with sensorineural hearing loss through a novel diagnostic microarray: A new approach for newborn screening follow-up, *Pediatrics*, 118(3), pp. 985–994.
  47. Roesch S., Rasp G., Sarikas A., Dossena S., 2021, Genetic Determinants of Non-Syndromic Enlarged Vestibular Aqueduct: A Review, *Audiol Res*, 11(3), pp. 423–442.
  48. Yuan. Y., et al., 2009, Comprehensive molecular etiology analysis of nonsyndromic hearing impairment from typical areas in China, *J Transl*

- Med*, 7, pp. 1–12.
49. Aimoni C., Ciorba A., Cerritelli L., Ceruti S., Skarżyński P.H., Hatzopoulos S., 2017, Enlarged vestibular aqueduct: Audiological and genetical features in children and adolescents, *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 101(Elsevier Ireland Ltd), pp. 254–258.
  50. Mey K., et al., 2019, Association of SLC26A4 mutations, morphology, and hearing in pendred syndrome and NSEVA, *Laryngoscope*, 129(11), pp. 2574–2579.
  51. Xia J.H., et al., 1998, Mutations in the gene encoding gap junction protein associated with autosomal dominant hearing impairment, *Nat Genet*, 20(4), pp. 370–373.
  52. Liu X.Z., et al., 2000, Mutations in connexin31 underlie recessive as well as dominant non-syndromic hearing loss, *Hum Mol Genet*, 9(1), pp. 63–67.
  53. Del Castillo F.J., et al., 2003, Heteroplasmy for the 1555A>G mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in six Spanish families with non-syndromic hearing loss, *J Med Genet*, 40(8), pp. 632–636.
  54. Kokotas H., Petersen M.B., Willems P.J., 2007, Mitochondrial deafness, *Clinical Genetics*, 71(5), pp. 379–391.
  55. Chen J., et al., 2007, Maternally inherited aminoglycoside-induced and nonsyndromic hearing loss is associated with the 12S rRNA C1494T mutation in three Han Chinese pedigrees, *Gene*, 401(1-2), pp. 4–11.
  56. Conrad D.J., Stenbit A.E., Zettner E.M., Wick I., Eckhardt C., Hardiman G., 2008, Frequency of mitochondrial 12S ribosomal RNA variants in an adult cystic fibrosis population, *Pharmacogenet Genomics*, 18(12), pp. 1095–1102.
  57. Rydzanicz M., et al., 2009, Screening of the general Polish population for deafness-associated mutations in mitochondrial 12S rRNA and tRNA Ser(UCN) genes., *Genet Test Mol Biomarkers*, 13(2), pp. 167–172.



58. Document Connect, *thermofisher.com*, [https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets%2FMSG%2Fmanuals%2FMAN0012662\\_GeneJET\\_PCR\\_Purification\\_UG.pdf](https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets%2FMSG%2Fmanuals%2FMAN0012662_GeneJET_PCR_Purification_UG.pdf), accessed Jul. 30, 2023.
59. Nguyễn Thu Thủy, 2005, Nghiên cứu giảm thính lực ở trẻ sơ sinh bằng đo âm ốc tai sàng lọc, bước đầu thiết lập chương trình can thiệp sớm, phục hồi chức năng cho trẻ khiếm thính, *Luận văn Thạc sỹ Y học*, Đại học Y Hà Nội.
60. Nguyễn Tuyết Xương, Nguyễn Anh Dũng, Khu Thị Khánh Dung, 2014, Tỷ lệ nghe kém và một số đặc điểm nghe kém ở trẻ từ 2 - 5 tuổi tại các trường mẫu giáo công lập nội thành Hà Nội, *Tạp chí Y học Việt Nam*, 1 (414), pp. 15-19.
61. Grosse S.D., Mason C.A., Gaffney M., Thomson V., White K.R., 2018, What contribution did economic evidence make to the adoption of universal newborn hearing screening policies in the United States?, *International Journal of Neonatal Screening*, 4(3).
62. Archbold S., O'Donoghue G., Nikolopoulos T., 1998, Cochlear implants in children: An analysis of use over a three-year period, *Am J Otol*, 19(3), pp. 328–331.
63. Cao Minh Thành, 2012, Bước đầu nghiên cứu kết quả cấy ốc tai điện tử, *Y học Việt Nam*, 6(2), 127-130.
64. Nguyễn Thị Ngọc Dung, Lê Trần Quang Minh, 2012, Tổng kết phẫu thuật cấy ốc tai điện tử tại bệnh viện TMH TP Hồ Chí Minh từ 1998-2011, *Tạp chí TMH Việt Nam*, 57(8), 9-14.
65. Brand Y., Senn P., Kompis M., Dillier N., Allum J. H.J., 2014, Cochlear implantation in children and adults in Switzerland, *Swiss Medical Weekly*, 144. SMW supporting association.
66. Leigh J., Dettman S., Dowell R., Briggs R., 2013, Communication

- development in children who receive a cochlear implant by 12 months of age, *Otol Neurotol*, 34(3), pp. 443–450.
67. Zwolan T.A., et al., 2004, Pediatric cochlear implant patient performance as a function of age at implantation, *Otol Neurotol*, 25(2), pp. 112–120.
  68. Gifford R.H., et al., 2013, Cochlear implantation with hearing preservation yields significant benefit for speech recognition in complex listening environments, *Ear Hear*, 34(4), pp. 413–425.
  69. Nikolopoulos T.P., Dyar D., Archbold S., O'Donoghue G.M., 2004, Development of spoken language grammar following cochlear implantation in prelingually deaf children, *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 130(5), pp.629-33.
  70. James A.L., Papsin B.C., 2004, Cochlear implant surgery at 12 months of age or younger, *Laryngoscope*, 114(12), pp. 2191–2195.
  71. Colletti V., Carner M., Miorelli V., Guida M., Colletti L., Fiorino F. G., 2005, Cochlear implantation at under 12 months: Report on 10 patients, *Laryngoscope*, 115(3), pp. 445–449.
  72. Miyamoto R.T., Houston D.M., Bergeson T., 2005, Cochlear implantation in deaf infants, *Laryngoscope*, 115(8), pp. 1376–1380.
  73. Waltzman S.B., Roland J.T., 2005, Cochlear implantation in children younger than 12 months, *Pediatrics*, 116(4).
  74. Phạm Tiến Dũng, 2014, Bước đầu đánh giá khả năng nghe nói của trẻ sau cấy điện cực ốc tai, Luận văn bác sĩ chuyên khoa cấp 2, Trường Đại học Y Hà Nội, CK.62725301.
  75. Nikolopoulos T.P., Dyar D., Archbold S., O'Donoghue G.M., 2004, Development of Spoken Language Grammar Following Cochlear Implantation in Prelingually Deaf Children, *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, pp. 629–633.
  76. Declau F., Boudewyns A., Den Van Ende J., Peeters A., Den Van Heyning P., 2008, Etiologic and audiologic evaluations after universal

- neonatal hearing screening: Analysis of 170 referred neonates, *Pediatrics*, 121(6), pp. 1119–1126.
77. Corvino V., Apisa P., Malesci R., Laria C., Auletta G., Franze A., 2017, X-Linked Sensorineural Hearing Loss: A Literature Review, *Curr Genomics*, 19(5), pp. 327–338.
  78. Lương Hồng Châu, 2013, Đánh giá kết quả cây ốc tai điện tử tại Bệnh viện Tai mũi họng trung ương từ tháng 8/2012-8/2013, *Kỷ yếu hội nghị Tai mũi họng toàn quốc lần thứ XVI*, 430-436.
  79. Nguyễn Xuân Nam, 2017, Nghiên cứu thăm dò chức năng nghe, chẩn đoán hình ảnh và đánh giá kết quả thính lực của trẻ cấy điện cực ốc tai, *Luận văn Tiến sĩ Y học*, Đại học Y Hà Nội.
  80. Caroça C., et al., 2017, Rubella in Sub-Saharan Africa and sensorineural hearing loss: a case control study, *BMC Public Health*, 17(1), pp. 1–7.
  81. Rosalina E., N. Purnami, 2020, Congenital Rubella Syndrome profile of audiology outpatient clinic in Surabaya, Indonesia, *Infect Dis Rep*, 12.
  82. Phạm Tiến Dũng (2015), ‘Đánh giá khả năng nghe, nói của bệnh nhi sau cấy điện cực ốc tai, *Hội nghị Tai mũi họng toàn quốc XVIII*, 152-157.
  83. Vos B., Noll D., Whittingham J., Pigeon M., Bagatto M., Fitzpatrick EM., 2021, Cytomegalovirus-A Risk Factor for Childhood Hearing Loss: A Systematic Review. *Ear Hear*, 42(6), pp. 1447-1461.
  84. Satterfield-Nash A., Umrigar A., Lanzieri T.M., 2020, Etiology of Prelingual Hearing Loss in the Universal Newborn Hearing Screening Era: A Scoping Review, *Otolaryngol Head Neck Surg*, 163(4), pp. 662-670.
  85. Aldè M., Binda S., Primache V., Pellegrinelli L., Pariani E., Pregliasco F., Di Bernardino F., Cantarella G., Ambrosetti U., 2023, Congenital Cytomegalovirus and Hearing Loss: The State of the Art, *J Clin Med*, 12(13), pp. 4465.
  86. Dietrich M.L., Schieffelin J.S., 2019, Congenital Cytomegalovirus

- Infection. *Ochsner J*, 19(2), pp. 123-130.
87. Hirvonen M., Ojala R., Korhonen P., Haataja P., Eriksson K., Gissler M., Luukkaala T., Tammela O., 2018, Visual and Hearing Impairments After Preterm Birth, *Pediatrics*, 142(2), pp. e20173888.
  88. Hajare P., Mudhol R., 2022, A Study of JCIH (Joint Commission on Infant Hearing) Risk Factors for Hearing Loss in Babies of NICU and Well Baby Nursery at a Tertiary Care Center, *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* 74(Suppl 3), pp. 6483-6490.
  89. Gohari N., Farahani F., Gharebaghy S., 2020, The prevalence of hearing loss in infants hospitalized in the neonatal intensive care units, *Auditory and Vestibular Research*, 29(4), pp.197-203.
  90. Selvarajan H.G., Arunachalam R.K., Bellur R., Mandke K., Nagarajan R., 2013, Association of family history and consanguinity with permanent hearing impairment, *Indian J Otol*, 19(2), pp. 62–65.
  91. Edwards L.C., 2007, Children with cochlear implants and complex needs: A review of outcome research and psychological practice, *Journal of Deaf Studies and Deaf Education*, pp. 258–268.
  92. Alonso-Luján L.R., Gutiérrez-Farfán L., Luna-Reyes F.A., Chamlati-Aguirre L.E., Rivera A.D., 2014, Audiometric evaluation short and medium term in cochlear implants, *Rev Investig Clin*, 66(5), pp. 415–421.
  93. Boerrigter M.S., et al., 2023, Cochlear Implants or Hearing Aids: Speech Perception, Language, and Executive Function Outcomes, *Ear Hear*, 44(2), pp. 411-422.
  94. Daneshi A., et al., 2020, Cochlear implantation in children with inner ear malformation: A multicenter study on auditory performance and speech production outcomes, *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 132.
  95. Buchman C.A., Copeland B.J., Yu K.K., Brown C.J., Carrasco V.N., Pillsbury H.C., 2004, Cochlear Implantation in Children with Congenital Inner Ear Malformations, *Laryngoscope*, 114(2), pp. 309–316.

96. Gray R.F., Ray J., Baguley D.M., Vanat Z., Begg J., Phelps P.D., 1998, Cochlear implant failure due to unexpected absence of the eighth nerve - A cautionary tale, *J Laryngol Otol*, 112(7), pp. 646–649.
97. Adunka O.F., Buchman C.A., 2009, Medical and Surgical Evaluation Prior to Pediatric Cochlear Implantation, *Perspect Hear Hear Disord Child*, 19(1), pp. 22–31.
98. Mohamed A., A. Kheshen El, Aun A., 2023, Role of preoperative Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging in pediatric cochlear implantation, *Al-Azhar International Medical Journal*, 4(1).
99. GJB2 gene: MedlinePlus Genetics, *medlineplus.gov*, <https://medlineplus.gov/genetics/gene/gjb2/#conditions>, accessed Aug. 03, 2023.
100. Yang Y., Wang Y., Zhou L., Long W., Yu B., Wang H., 2022, Molecular Genetic Screening of Neonatal Intensive Care Units: Hyperbilirubinemia as an Example, *Appl Clin Genet*, 15, pp. 39–48.
101. GJB3 gene: MedlinePlus Genetics, *medlineplus.gov*, <https://medlineplus.gov/genetics/gene/gjb3/>, accessed Aug. 03, 2023.
102. SLC26A4 gene: MedlinePlus Genetics, *medlineplus.gov*, <https://medlineplus.gov/genetics/gene/slc26a4/>, accessed Aug. 07, 2023.
103. Mitochondrial DNA: MedlinePlus Genetics, *medlineplus.gov*, <https://medlineplus.gov/genetics/chromosome/mitochondrial-dna/#resources>, accessed Aug. 07, 2023.
104. Rodríguez-Ballesteros M., et al., 2006, Molecular and clinical characterisation of three Spanish families with maternally inherited non-syndromic hearing loss caused by the 1494C->T mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene, *J Met Genet*, 11.
105. Tawata M., Ohtaka M., Iwase E., Ikegishi Y., Aida K., Onaya T., 1998, New mitochondrial DNA homoplasmic mutations associated with Japanese patients with type 2 diabetes, *Diabetes*, 47(2), pp. 276–277.

106. Shen Z., et al., 2011, Frequency and spectrum of mitochondrial 12S rRNA variants in 440 Han Chinese hearing impaired pediatric subjects from two otology clinics, *J Transl Med*, 9.
107. Mutai H., et al., 2011, Systematic analysis of mitochondrial genes associated with hearing loss in the Japanese population: dHPLC reveals a new candidate mutation, *BMC Med Genet*, 12.
108. Kong Q. P., et al., 2006, Updating the East Asian mtDNA phylogeny: A prerequisite for the identification of pathogenic mutations, *Hum Mol Genet*, 15(13), pp. 2076–2086.
109. Li Z., et al., 2005, Mutational analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene in Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss, *Hum Genet*, 117(1), pp. 9–15.
110. Tang X., et al., 2007, Very low penetrance of hearing loss in seven Han Chinese pedigrees carrying the deafness-associated 12S rRNA A1555G mutation, *Gene*, 393 (1-2), pp. 11–19.
111. Lu J., et al., 2010, Mitochondrial 12S rRNA variants in 1642 Han Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and nonsyndromic hearing loss, *Mitochondrion*, 10 (4), pp. 380–390.
112. Tanaka M., et al., 2004, Mitochondrial genome variation in Eastern Asia and the peopling of Japan, *Genome Res*, 14(10A), pp. 1832–1850.

## PHỤ LỤC 1

### BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

STT:

#### I. HÀNH CHÍNH

1. Họ và tên:.....Ngày sinh.../.../.....,Giới: Nam , Nữ
2. Địa chỉ: .....
3. Họ tên bố hoặc mẹ: .....
4. Số điện thoại: .....

#### II. TIỀN SỬ, BỆNH SỬ

##### 1. Tiền sử mẹ (bệnh lý trong quá trình mang thai):

\* Không mắc bệnh gì trong quá trình

\* Trong quá trình mang thai mẹ có mắc bệnh:

- Nhiễm Rubella

- Sốt phát ban chưa rõ nguyên nhân

- Nhiễm khuẩn virút khác:

Nhiễm Cytomagalovirus

Nhiễm Toxoplasma

Giang mai bẩm sinh

Herpes Simplex

Quai bị

Cúm

HIV

- Mắc bệnh nội khoa (đái đường, suy giáp, bệnh lý khác)

- Bệnh lý khác:  Tên bệnh...

\* Sử dụng thuốc có thể gây nhiễm độc thính giác: Có  Không

Tiền sử sử dụng thuốc kháng sinh Aminoglycoside (Gentamycin, Kanamycin, Streptomycin, Neomycin, Tobramycin...) từ nhỏ không?

Tên thuốc.....

**2. Trong và ngay sau khi sinh:**

- Tiền sử lúc sinh:
- + Sinh thường
- + Sinh mổ
- + Đủ tháng
- + Thiếu tháng  < 28 tuần  28 - 32 tuần  32 - 38 tuần
- Cân nặng (gram):
- Trẻ đẻ ra bị ngạt, tím: Có  Không
- Có dị tật vùng đầu mặt: Có  Không
- Vàng da tăng bilirubin: Có  Không 
  - + Phải thay máu
  - + Phải chiếu đèn
- Suy hô hấp phải thở máy > 5 ngày: Có  Không

**3. Tiền sử gia đình:**

- Có người nghe kém bẩm sinh: Có  Không
- Có người đã xác định gen có liên quan nghe kém: Có  Không

**1.1. Tiền sử bệnh của trẻ:**

- Viêm màng não: Có  Không
- Viêm tai giữa: Có  Không
- Viêm tai thanh dịch: Có  Không
- Bệnh lý viêm tai khác: Có  Không

**\* Bệnh lý phối hợp:**

- Mắt: Có  Không
- Tim mạch: Có  Không
- Bệnh lý khác: Có  Không

Tên bệnh....

**\* Tiền sử bệnh lý nghe kém:**

- Thời điểm xác định nghe kém.....tháng
- Máy trợ thính:



- + Đã đeo máy trợ thính: Có  Chưa
- + Tai đeo máy trợ thính: Tai trái ; Tai phải ; Hai tai .
- + Thời gian đeo máy trợ thính:.....tháng

\* *Bệnh lý thần kinh*: Không

Có  Tên bệnh.....

\* *Bệnh lý khác kèm theo*.....

\* *Kết quả đánh giá tâm lý và ngôn ngữ*

- Test tâm lý:

- Ngôn ngữ:

#### 4. Khám lâm sàng trước mổ

\* *Soi tai*:

		Tai trái	Tai phải
- Màng nhĩ:	Bóng sáng bình thường	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Viêm nề	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Thủng	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Co lõm	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Tình trạng tai giữa:			
	Không viêm	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Ứ dịch	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Ứ mủ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

\* *Khám mũi họng*:

Bình thường	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Viêm cấp	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vấn đề khác	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

### III. THĂM DÒ CHỨC NĂNG NGHE, CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH

#### 1. Thăm dò chức năng nghe

##### 1.1. Kết quả nhĩ lượng, OAE, PXCBD, ABR, ASSR

Nhĩ lượng		OAE		ABR	
Phải	Trái	Pass	Refer	Có sóng V	Không có sóng V

## 1.2 Kết quả đo ASSR

Ngưỡng nghe (dB) Tần số (Hz)	Tai trái	Tai phải
500		
1000		
2000		
4000		

## 2. Chẩn đoán hình ảnh

### 2.1. Hình ảnh CT scanner

Hình ảnh CT xương thái dương	Tai trái	Tai phải
Xương chũm		
Ống Tai trong		
Vị trí dây VII		
Cấu trúc ốc tai		
Bất thường khác		

### 2.2. Hình ảnh MRI

Hình ảnh MRI xương thái dương	Tai trái	Tai phải
Dây thần kinh VIII		
Cấu trúc ốc tai		
Bất thường khác		

**PHỤ LỤC 2**  
**DANH SÁCH BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU**

<b>STT</b>	<b>Họ và tên</b>	<b>Ngày sinh</b>	<b>Giới</b>	<b>Địa chỉ</b>
1	Trần Đoàn Hoàng H	05/05/2018	Nam	Mỹ Tiến, Mỹ Lộc, Nam Định
2	Nguyễn Duy A	28/06/2017	Nam	Tân Quang, Văn Lâm, Hưng Yên
3	Ngô K	21/03/2020	Nam	Phúc Lợi, Long Biên, Hà Nội
4	Nguyễn Gia H	24/03/2018	Nam	Xa La, Hà Đông, Hà Nội
5	Nguyễn Đình Đăng K	12/02/2020	Nam	An Khánh, Hoài Đức, Hà Nội
6	Bì Bảo B	10/11/2019	Nam	Quỳnh Châu, Quỳnh Lưu, Nghệ An
7	Phạm Thị Diệu H	13/08/2017	Nữ	An Thanh, Tứ Kỳ, Hải Dương
8	Nguyễn Gia K	13/09/2018	Nam	Ngọc Sơn, Kim Bảng, Hà Nam
9	Lý Trà M	15/07/2020	Nữ	Thanh Cao, Thanh Oai, Hà Nội
10	Nguyễn Linh C	25/03/2018	Nữ	Trần Quang Diệu, Hà Nội
11	Bùi Anh T	09/05/2019	Nữ	Chu Phan, Mê Linh, Hà Nội
12	Phạm Nguyễn Quang H	28/06/2019	Nam	Phù Đổng, Gia Lâm, Hà Nội
13	Đỗ Đăng K	12/11/2019	Nam	Hùng An, Bắc Quang, Hà Giang
14	Nguyễn Ngọc Bích L	13/07/2015	Nữ	Mạn Lúa, Thanh Ba, Phú Thọ
15	Nguyễn Thị Kim L	09/09/2019	Nữ	Cẩm Khê, Cẩm Khê, Phú Thọ
16	Dương Quỳnh C	01/07/2019	Nữ	Thịnh Sơn, Đô Lương, Nghệ An
17	Ngô Minh H	03/12/2018	Nữ	Bắc Lý, Hiệp Hòa, Bắc Giang

18	Nguyễn Tuệ M	01/12/2011	Nữ	Mạo Khê, Đông Triều, Quảng Ninh
19	Đào Trọng N	14/01/2011	Nam	Quang Trung, Sơn Tây, Hà Nội
20	Nguyễn Thạc K	27/09/2010	Nam	Đường Láng, Đống Đa, Hà Nội
21	Ngô Bảo L	20/11/2010	Nam	Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
22	Nguyễn Ngọc Hồng A	11/02/2015	Nữ	Mê Linh, Hà Nội
23	Nguyễn Ngọc Trà M	18/07/2017	Nữ	Lê Đức Thọ, Hà Nội
24	Phạm Tú A	13/02/2021	Nữ	Điện Biên, Điện Biên
25	Nguyễn Hoàng Kim N	05/09/2020	Nữ	Hương Mạc, Từ Sơn, Bắc Ninh
26	Đặng Lê Kim N	25/07/2019	Nữ	Quang Minh, Mê Linh, Hà Nội
27	Nguyễn Phước L	10/07/2011	Nam	Tân Yên, Hàm Yên, Tuyên Quang
28	Nguyễn Trần Quỳnh C	30/07/2019	Nữ	Việt Trung, Bồ Trách, Quảng Bình
29	Mai Tuấn K	09/07/2018	Nam	Đông Yên, Quốc Oai, Hà Nội
30	Hoàng Anh T	26/12/2008	Nam	Quán Thánh, Hà Nội