



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

## VI. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2025eko maiatzaren 28, 29 eta 30a  
Bilbo, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 4.0

### OSASUN ZIENTZIAK

**Tentsio-menpeko potasio kanalen  
papera entzumen-galeran eta  
Alzheimer gaixotasunarekiko  
duten korrelazioa**

*Ane Arrizabalaga Iriondo,  
Janire Urrutia,  
Arantza Muruguza Montero,  
Elena Alberdi,  
Estibaliz Capetillo Zarate  
eta Miren Revuelta*

233-239 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.vi.04.28>

ANTOLATZAILEA



BABESLEAK



LAGUNTZAILEAK



## Tentsio-menpeko potasio kanalen papera entzumen-galeran eta Alzheimer gaixotasunarekiko duten korrelazioa

Ane Arrizabalaga Iriando<sup>1</sup>, Janire Urrutia<sup>1</sup>, Arantza Muruguza Montero<sup>1</sup>, Elena Alberdi<sup>2</sup>, Estibaliz Capetillo Zarate<sup>2</sup> eta Miren Revuelta<sup>1</sup>

(1) *Fisiologia Saila, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea (EHU, 48940 Leioa, Bizkaia),*

(2) *Achucarro neurozientzien ikerketarako Euskal ikerketa zentroa, EHUko Parke Zientifikoa (EHU, 48940 Leioa, Bizkaia)*

[aneiza16@gmail.com](mailto:aneiza16@gmail.com)

### **Laburpena**

Hipoakusia narriadura kognitibo eta dementzia mota ezberdinekin, Alzheimer gaitza barne, lotzen da. Entzumen-seinalearen transmisioan tentsio-menpeko potasio-kanalak ( $K_V$ ) funtsezkoak dira. Kanal horien alterazioek soinuen diskriminazioan eta entzumen-galeran eragina izan dezakete. Gainera, ikertu da  $K_V$  kanalen adierazpenean eta funtzioan alterazioak daudela Alzheimerdun pazienteetan. Ikerlan honetan, Alzheimerdun 18 hilabeteko saguen entzumen-kortexean eta beheko kolikuluetan  $K_V3.1$  eta  $K_V3.3$  kanalen adierazpenaren handipena behatu da, kontrol taldearekin alderatuta. Halaber, gehiegizko adierazpen hori neuronetan soilik gertatzen dela ikusi da. Etorkizunean,  $K_V$ -ek neuroendekapenezko gaixotasunetan duten patofisiologia ezagutzea balizko tratamenduak bilatzeko gakoia izan daiteke.

Hitz gakoak: hipoakusia, Alzheimer gaixotasuna, tentsio-menpeko potasio kanalak, entzunbidea.

### **Abstract**

*Hypoacusia is associated with different cognitive impairments and dementia, including Alzheimer's disease. In the hearing signal transmission process, voltage-gated potassium channels ( $K_V$ ) are essential. Alterations in these channels can therefore affect in sound discrimination and cause hearing loss. In addition, alterations in the expression and function of  $K_V$  channels in Alzheimer's patients have been investigated. This study has observed an increase in the expression of  $K_V3.1$  and  $K_V3.3$  channels in the hearing cortex and inferior colicles of 18-month Alzheimer's mice compared to the control group. It has also been seen that this expression only occurs in neurons. Future understanding of  $K_V$  channel pathophysiology in neurodegenerative diseases could be key to developing potential treatments.*

*Keywords: hypoacusia, Alzheimer's disease, voltage-gated potassium channels, auditory pathway.*

### **1. Sarrera eta motibazioa**

Gorrieriak, eta, batez ere, adinarekin loturiko hipoakusiak, 75 urtetik gorako pertsonen % 50i eragiten dio (Gimeno-Vilar et al., 2010). Horrek pazienteen isolamendu sozialean eragin zuzena du. Bestalde, Alzheimer gaixotasuna dementzia larriaren kausa ohikoena da, eta 20 milioi pertsonari baino gehiagori eragiten dio mundu zabalean.

Ikertu denez, entzumen-galera narriadura kognitiboarekin eta dementzia handiagoarekin lotzen da. Dementziaren eta entzumen-galeraren arteko lotura lehen aldiz Uhlmann eta lankideek proposatu zuten 80ko hamarkadan (Uhlmann et al., 1986). Ikerketa horretan, entzumen-galera izatea nahasmendu kognitiboak garatzeko adierazleetakoko bat izan zitekeela frogatu zuten. Eraitza horiek ondorengo urteetan egindako zenbait ikerketatan berretsi ziren (Ralli et al., 2019).

Egun, oraindik ez da ezagutzen entzumen-galerak eta Alzheimerrak izan dezaketen kausazko erlazioa eta mekanismoa. Hala ere, horiek azaltzeko hainbat hipotesi garatu dira; eta, horien arabera, bi faktoreek elkarrenganako eragina izango lukete. Alde batetik, entzumen-galerak bultzatutako isolatze sozialak zein garuneko funtzio- eta egitura-mailako aldaketek dementzien garapenean eragingo lukete. Bestetik, Alzheimer gaixotasunak entzunbidean eragindako uestezko alterazioek narriadura kognitibo eta soziala eragingo lituzkete (Ralli et al., 2019).

Alzheimer gaixotasuna eragiten duten beste zenbait arrisku-faktore (adina, genetika edota familia-historia) ez bezala, hipoakusia arrisku-faktore alagarria izan daiteke. Hori dela eta, garrantzitsua litzateke entzumen-galeraren eta Alzheimerraren arteko lotura ikertzea. Izan ere,

Alzheimerraren aurkako tratamendua aurkitzeko bidea ireki dezake eta, horrela, pazienteen bizikalitatea hobetzeko eta gaixotasunaren garapena moteltzeko aukera emango luke.

## 2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Arlo honetan, hainbat dira, Uhlmann eta lankideen ikerketa abiapuntu harturik, bi gaixotasunen arteko korrelazioa aztertu duten ikerketak. Horien artean, Lin eta lankideek egindako azterketa aipa daiteke. Ikerlan horretan 12 urtez demenzia diagnostikorik gabeko 600 pertsona helduren audiometria probak egin zituzten. Aztertu zuten, demenziaren presentzia nabarmen handiagoa zen entzumen-galera zuten pertsonetan galera hori ez zuten pertsonekin alderatuz (Lin et al., 2011). Horrez gain, zenbait ikerketatan aztertu da adinarekin lotutako entzumen-galera duten helduen garunetan egitura- eta funtzio-mailan aldaketak daudela eta entzumen-kortexaren bolumena txikiagotzen dela (Golub, 2017).

Entzumen-galerari dagokionez, entzumen-seinalearen transmisioan garrantzitsuak diren tentsio-menpeko potasio-kanalak ( $K_v$ ) deskribatu dira:  $K_v3.1$ ,  $K_v3.3$ ,  $K_v7.1$  eta  $K_v7.4$ , hain zuzen ere (Peixoto Pinheiro et al., 2021). Ikertu dutenez, kanal horietan egon daitezkeen alterazioek soinuaren bereizketa zuzenari eragin diezaiokete, eta entzumen-galeraren garapena erraztu dezakete (Brown et al., 2011).  $K_v3.1$  eta  $K_v3.3$  kanalei dagokionez, Macica eta lankideek ikertu zuten kanal horien adierazpen akastuna zuten saguen neuronak ez zirela gai izan ekintza-potentzialen eroapen-abiadura altuei eusteko (Macica et al., 2003). Bestalde,  $K_v7.1$  eta  $K_v7.4$  kanalen funtzio-galera sortzetiko gorreriarekin erlazionatuta dagoela ikertu izan da (Neyroud et al., 1998; Wasano et al., 2015).

Bestalde, entzunbidean adierazten diren tentsio-menpeko potasio kanal horien alterazioek Alzheimer gaixotasunaren garapenean ere eragina dutela aztertu dute adituek. Hortaz, horrek entzumen-galeraren eta Alzheimerraren arteko erlazioa azaltzeko bidea irekiko luke, eta, halaber, bi eritasunen garapenean inplikaturako mekanismo fisiopatologikoak ezagutzeko aukera eskainiko luke.

Gutxi dira orain arte esparru honetan egin diren ikerketak. Horien artean, aipagarria da Song eta lankideek egindako ikerketa. Izan ere,  $K_v7$  familiako kanalen modulazioak Alzheimerraren garapenean eragin positiboa izan zezaketela proposatu zuten, kanal horien blokeo edo inhibizioak neuronen plastikotasun sinaptikoa hobetzen zuela aztertu baitzuten (Song et al., 2009). Ondorioz, entzunbidean adierazten diren kanal horiek itu terapeutikotzat erabiltzea eta euren funtzioa modulatzeko interesgarria litzateke.

Arestian aipaturako ikerketak oinarritzat hartuz, gure ikerketa taldearen hipotesia ondorengoa da: Alzheimer gaixotasunak hipoakusia eragiten du, entzunbideko tentsio-menpeko potasio-kanalen adierazpenean edota funtzionamenduan alterazioak sortzearen ondorioz; eta, gainera, entzumen-galera horrek Alzheimerra larriagotzen du. Hipotesi horiek kontuan izanda, ikerlan honen helburu nagusia da Alzheimer gaixotasunarekin lotutako entzumen-galeraren mekanismo fisiopatologikoak identifikatzea.

## 3. Ikerketaren muina

### 3.1 Metodologia

Ikerlana egiteko B6129SF2/J (The Jackson Laboratory) saguak erabili dira kontrol moduan, eta 3xTgAD (The Jackson Laboratory) saguak transgeniko gisa. Azken horiek Alzheimer gaixotasunaren herentziazko hiru mutazio adierazten dituzte (PS1M146V, APPSwe eta TauP301L), eritasunaren garapenean eragiten duten hiru proteinaren (PS1 (presenilina 1), APP (proteina aitzindari amiloidea) eta Tau) gainadierazpena eragiten dutenak. PS1 eta APP proteinen mutazioak  $A\beta$  amiloideen metaketekin erlazionatzen dira, eta Tau proteinaren mutazioa proteinaren hiperfosforilazioarekin. Azterketak 6 eta 18 hilabeteko adineko saguekin egin dira, bi sexuetako animaliekin.

Animalia guztiak Euskal Herriko Unibertsitateko (UPV/EHU) animalitegian hazi dira, laborategiko baldintza estandarretan (22°C, 12h-ko argi/iluntasun zikloak) eta elikagaiak eta ura lortzeko eskuragarritasunarekin, Europako Erkidegoetako Kontseiluaren zuzentzarauen arabera. Prozedura esperimentalak UPV/EHUko Etika Batzordeak gainbegiratu eta onartuta egin dira (CEEA: M20/2023/323).

Intereseko ehunak isolatzeko kontrol-saguak eta Alzheimerdun saguak ketaminarekin (40-90 mg/kg) eta xilazinarekin (5-10 mg/kg) anesthesiatu dira. Ondoren, heriotzaren ostean erauzitako garunak paraformaldehidoan (% 3) 4 orduz finkatu eta sakarosan (% 30) mantendu dira 24 orduz. Jarraian, bibratomoaren bidez 40 mikrako kortex eta kolikulu laginak lortu dira.

Immunofluoreszentzia teknikaren bidez lagin horietan Kv3.1 eta Kv3.3 kanalen adierazpena aztertu da. Horretarako, ondorengo protokoloa jarraitu da: bibratomoan lortutako laginak 24 putzuko plaketan jarri dira, eta PBS (fosforo gatzeko tanpoia) eta Tween (% 0.1) nahasketadun garbiketa-disoluzioarekin 2 minutuko 2 garbiketa egin dira. Ondoren, laginak blokeatu dira PBS-Tween (% 0.1) eta BSA (% 10) dituen soluzioan ordubetez.

Blokeoaren ostean, rabbit anti-KCN1 eta anti-KCNC3 antigorputz primarioetan (1:500, Biorbyt) eduki dira gau osoan zehar. Hurrengo egunean, 10 minutuko 3 garbiketa egin zaizkie laginei (PBS-Tween disoluzioarekin) eta antigorputz sekundarioarekin (1:500, Alexa 488, Biorad) eta DAPI (1:1000) markatzaile nuklearrarekin inkubatu dira ordubetez ilunpetan. Azkenik, 10 minutuko 3 garbiketa egin zaizkie laginei eta muntaketa egin da portatan (Fluoromount). Irudiak fluorezsentziazko mikroskopia bidez eskuratu dira, EHUko SGIker zerbitzuaren laguntzaz.

Immunofluoreszentzia bidezko kolokalizazio azterketak egiteko, protokolo bera erabili da. Kasu honetan, neuronetan, mikroglia edo astrozitoetan KCNC3-ren adierazpena aztertzeko anti-KCNC3 (1:1000) anti-NeuN (markatzaile neuronal), anti-Iba1 (mikroglia markatzailea) eta anti-GFAP-rekin (astrozito markatzailea) batera erabili da.

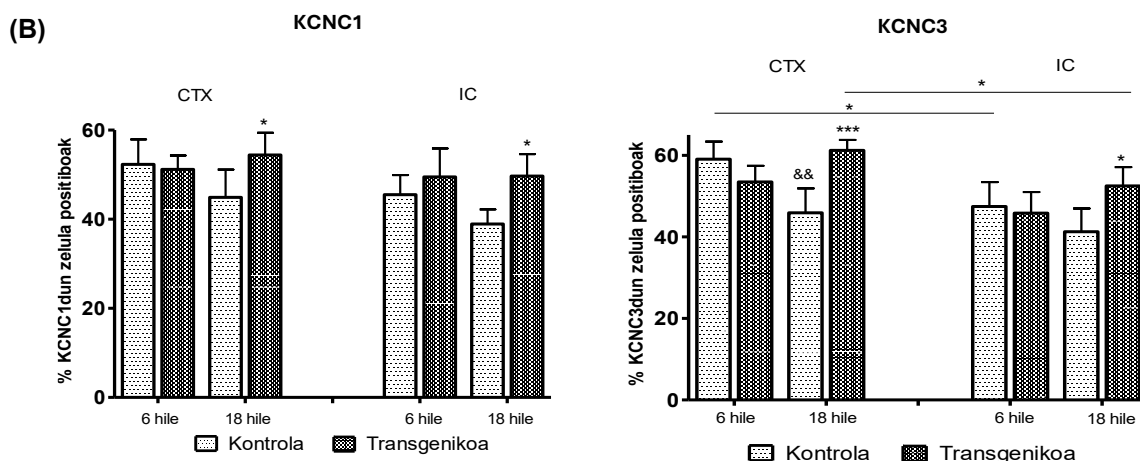
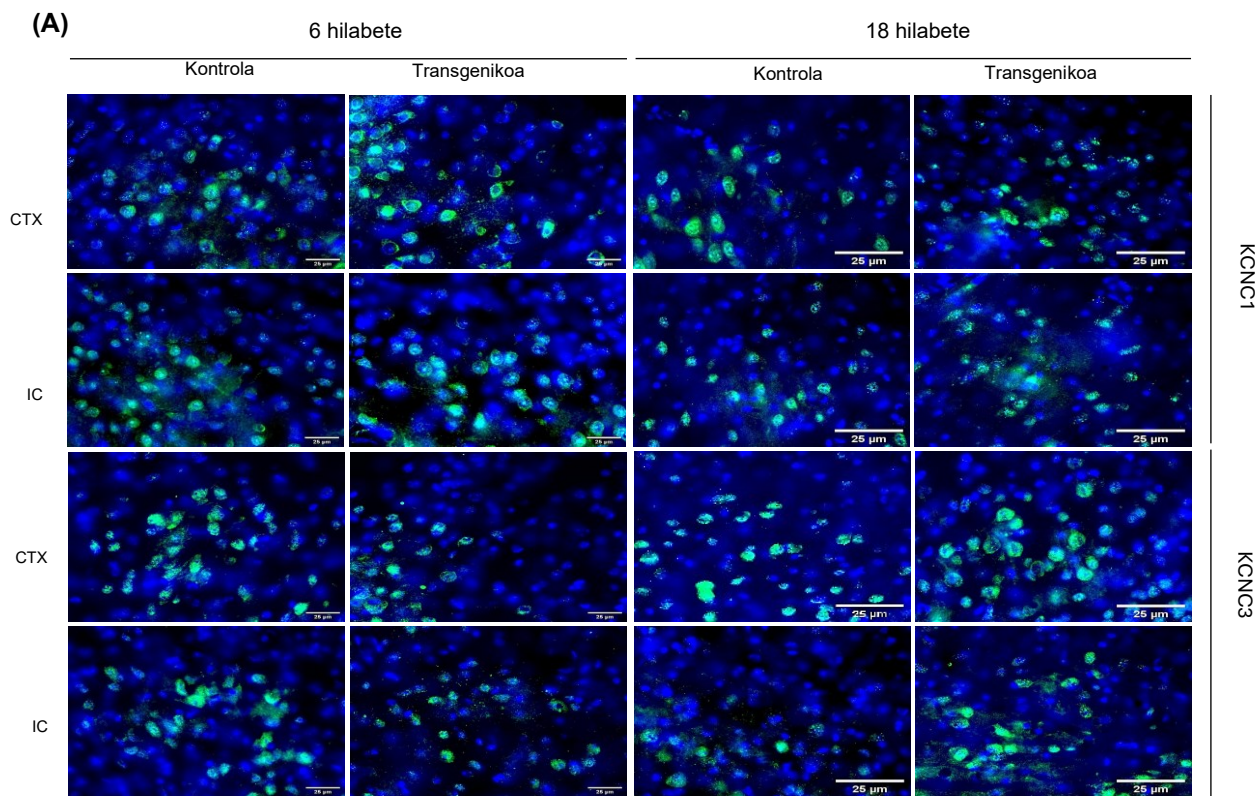
Analisi estatistikoak Graphpad Prism programaren bidez egingo dira. Taldeen arteko aldeak estatistikoki adierazgarritzat joko dira  $p < 0.05$  bada.

### 3.2 Emaitzak

Orain arte laborategian lortutako emaitzetan Kv3.1 (KCNC1) eta Kv3.3 (KCNC3) kanalak aztertu dira entzunbidean zehar immunofluoreszentziaren bitartez. Azterketa hori entzunbideko beheko kolikuluetan (IC) eta entzumen-kortexean (CTX) egin da; sagu kontrol eta Alzheimerdun sagu transgenikoetan (3xTgAD), 6 eta 18 hilabeteko saguak konparatuz (1. irudia).

Ikertutako entzumen bideko bi zonaldeetan 6 hilabeteko animalietan KCNC1 eta KCNC3 kanalen adierazpen funtzionala antzekoa dela ikusi da. Baina 18 hilabeteko saguetan bi kanalen adierazpena handitu egiten da Alzheimerdun saguetan, kontrol saguen adierazpenarekin alderatuz (1. irudia).

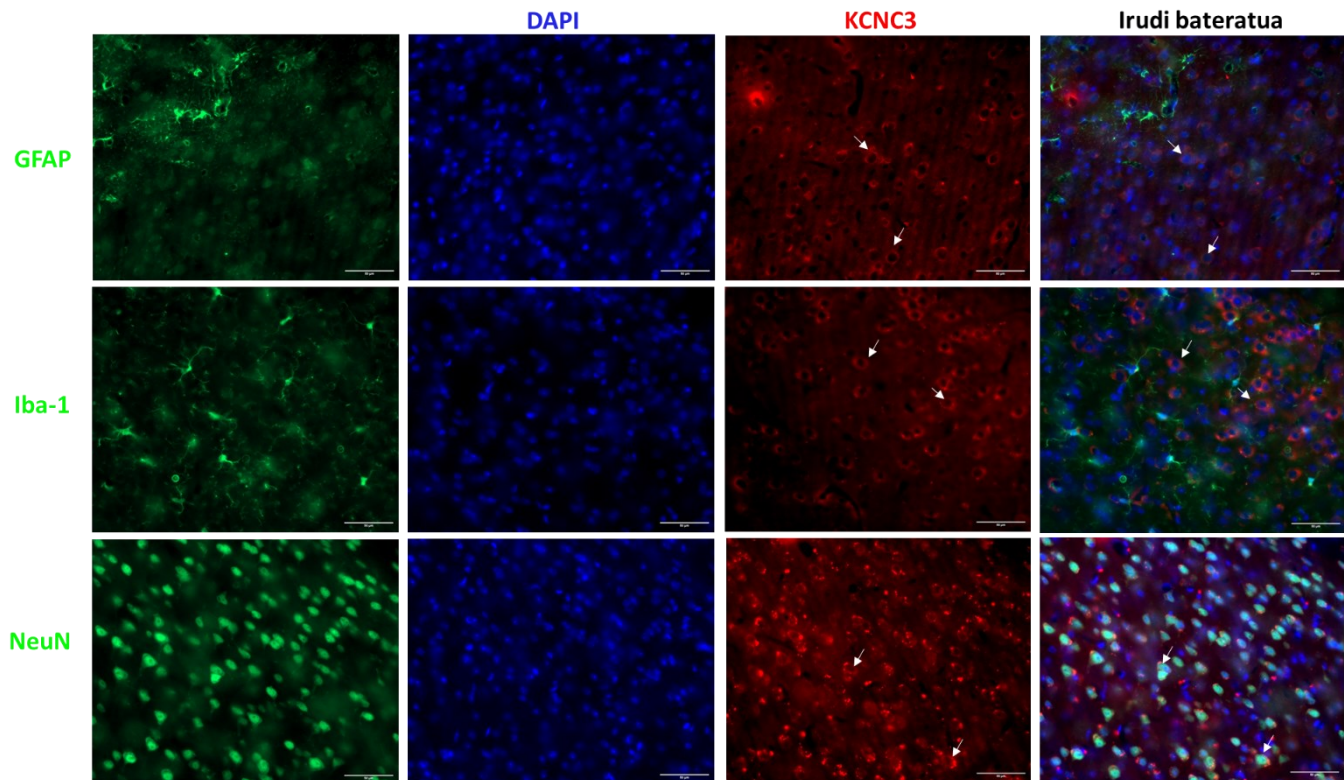
**1. irudia: KCNC1 (Kv 3.1) eta KCNC3 (Kv3.3) kanalen adierazpena. (A)** 6 eta 18 hilabeteko saguen KCNC1 eta KCNC3 kanalen adierazpenak entzumen-kortex (CTX) eta kolikuluetan (IC). Urdinez DAPI eta berdez KCNC1 eta KCNC3 kanalak adierazita. **(B)** KCNC1 eta KCNC3 kanalen adierazpenaren kuantifikazioa. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0,001$  vs. kontrola; && $p < 0.01$  18 hileko kontrola vs. 6 hileko kontrola. Eskala barra: 25  $\mu\text{m}$ .



Emaizta horiek neurona presinaptikoez neurotransmisore askapena murriztearekin, eta, ondorioz, seinale akustikoaren gutxitzearekin erlazionatu dute autore batzuek (Kaczmarek eta Zhang, 2017). Beste batzuek, ordea, gainadierazpen hori astrozitoetan gertatzen dela diote, eta astrozitoen erreaktibazioarekin erlazionatzen dute, beste potasio kanal batzuekin azertu den moduan (Mercado et al., 2018).

Hortaz, kanalen gainadierazpena garuneko zein zelula-motatan gertatzen den zehazteko, immunofluoreszentzia bidezko kolokalizazio-probak egin dira, KCNC3 kanalarekin (2. irudia). Emaitzek erakutsi dutenez, neuronak dira kanal hori adierazten dutenak. Astrozitoetan eta mikroglia, aldiz, ez da kanalarekiko kolokalizaziorik ikusi.

**2. irudia: Neurona, mikroglia eta astrozitoen KCNC3 adierazpena.** Neuronak dira KCNC3 kanala adierazten duten zelula mota bakarrak. (NeuN neuronon markatzailea), (GFAP astrozitoen markatzailea), (Iba-1 mikroglia markatzailea), DAPI (nukleoaren markatzailea). Gezien bidez KCNC3 kanaletako batzuk daude adierazita. Eskala barra: 50  $\mu$ m.



#### 4. Ondorioak

Tentsio-menpeko potasio-kanalak zelula-mailako funtzio askotarako oso beharrezkoak izateaz gain, entzumen-seinalearen transmisioan funtsezkoak dira. Ikertu denez, Alzheimer gaixotasunaren eta entzumen-galeraren artean elkarrenganako eragina dago. Gainera, aztertu da Alzheimerraren agerpenak tentsio-menpeko potasio-kanalen adierazpen- eta funtzio-mailako aldaketak eragiten dituela. Gure ikerketan zehar lortutako emaitzak ondorio argietara iristeko urriak badira ere, arestian azaldutako bi hipotesien artean, gure emaitzek bi patologien arteko korrelazioa egon litekeela adierazten dute.

Halaber, 18 hilabeteko Alzheimerdun animalietan behatutako KCNC1 eta KCNC3 kanalen gainadierazpenak  $K_v$  kanalek gaixotasunaren fisiopatologian betebeharrak garrantzitsu bat joka dezaketela uztzen du agerian. Hori gutxi ez eta, KCNC3 kanalak neuronetan adierazten direla ikertu izanak gainadierazpena neurona presinaptikoen neurotransmisore askapena murrizteagatik gertatzen dela ondorioztatzen eraman gaitzake, eta era horretan baztertu beste autore batzuek proposatutako astrozitoen erreaktibazioaren ideia.

Hala ere, esan beharra dago oraindik azterketa gehiago egin behar direla kanal horiek bi gaixotasunetan duten ekintza-mekanismoa ezagutzeko eta korrelazioan duten zeregina determinatzeko.

## 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Etorkizunari begira, Alzheimerren eta entzumen-galeraren arteko korrelazioa ikertu eta bi eritasunen arteko mekanismo fisiopatologikoak identifikatzearen alde lan egitea planteatzen da, neuroendekapenezko gaixotasunen diagnostiko goiztiarrak bilatu eta tratamendu egokiak garatzeko aukera eskaini dezakeelakoan, tentsio-menpeko potasio-kanalak itu terapeutiko moduan erabilita.

Horretarako, hainbat esparru lantzea planteatzen da. Alde batetik, animalia modeloen karakterizazioa zein entzumen-seinalearen transmisioaren azterketa egitea aurreikusten da; eta jokabide testen (*T-maze* memoria-testa eta *Novel Object Recognition* testa) bidez egiaztatzea hipoakusia duten Alzheimerdun saguek Alzheimerren sintoma larrienak garatzen dituzten. Gainera, kanalen adierazpena eta funtzionamendua aztertzen jarraituko da, *in vitro* saioren bidez potasio-kanalen modulazioek entzumen-bidean erantzun elektrikoa hobetzen duten egiaztatzeko.

## 6. Erreferentziak

- Brown, M. R., & Kaczmarek, L. K. (2011). Potassium channel modulation and auditory processing. *Hearing Research*, 279(1-2), 32-42. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2011.03.004>
- Gimeno-Vilar, C., & Cervera-Paz, F. J. (2010). Enfermedad de Alzheimer y pérdida auditiva. *Revista de Neurología*, 50(02), 65-71.
- Golub, J. S. (2017). Brain changes associated with age-related hearing loss. *Current Opinion in Otolaryngology & Head & Neck Surgery*, 25(5), 347-352.
- Kaczmarek, L. K., & Zhang, Y. (2017). Kv3 Channels: Enablers of Rapid Firing, Neurotransmitter Release, and Neuronal Endurance. *Physiological reviews*, 97(4), 1431-1468. <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2017>
- Lin, F. R., Metter, E. J., O'Brien, R. J., Resnick, S. M., Zonderman, A. B., & Ferrucci, L. (2011). Hearing loss and incident dementia. *Archives of Neurology*, 68(2), 214-220. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.362>
- Macica, C. M., Von Hehn, C. A. A., Wang, L., Ho, C., Yokoyama, S., Joho, R. H., & Kaczmarek, L. K. (2003). Modulation of the Kv3.1b potassium channel isoform adjusts the fidelity of the firing pattern of auditory neurons. *Journal of Neuroscience*, 23(4), 1133-1141. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-04-01133.2003>
- Mercado, F., Almanza, A., Rubio, N. & Soto, E. (2018). Kir 4.1 inward rectifier potassium channel is upregulated in astrocytes in a murine multiple sclerosis model. *Neuroscience Letters*, 677, 88-93.
- Neyroud, N., Tesson, F., Denjoy, I., Leibovici, M., Donger, C., Barhanin, J., Fauré, S., Gary, F., Coumel, P., Petit, C., Schwartz, K., & Guicheney, P. (1997). A novel mutation in the potassium channel gene KVLQT1 causes the Jervell and Lange-Nielsen cardioauditory syndrome. *Nature Genetics*, 15(2), 186-189. <https://doi.org/10.1038/ng0297-186>
- Peixoto-Pinheiro, B., Vona, B., Lowenheim, H., Ruttiger, L., Knipper, M., & Adel, Y. (2020). Age-related hearing loss pertaining to potassium ion channels in the cochlea and auditory pathway. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 473(5), 823-840. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02496-w>

- Ralli, M., Gilardi, A., Di Stadio, A., Severini, C., Salzano, F. A., Greco, A., & De Vicentiis, M. (2019). Hearing loss and Alzheimer's disease: A review. *The International Tinnitus Journal*, 23(2), 79-85. <https://doi.org/10.5935/0946-5448.20190014>
- Song, M.-K., Cui, Y.-Y., Zhang, W.-W., Zhu, L., Lu, Y., & Chen, H.-Z. (2009). The facilitating effect of systemic administration of Kv7/M channel blocker XE991 on LTP induction in the hippocampal CA1 area independent of muscarinic activation. *Neuroscience Letters*, 461(1), 25-29. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.05.042>
- Uhlmann, R. F., Larson, E. B., & Koepsell, T. D. (1986). Hearing impairment and cognitive decline in senile dementia of the Alzheimer's type. *Journal of the American Geriatrics Society*, 34(3), 207-210. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1986.tb04204.x>
- Wasano, K., Mutai, H., Obuchi, C., Masuda, S., & Matsunaga, T. (2015). A novel frameshift mutation in KCNQ4 in a family with autosomal recessive non-syndromic hearing loss. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 463(4), 582-586. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.05.099>

## 7. Eskerrak eta oharrak

Proiektu honen finantzaketa UPV/EHUko ikerketa-taldeentzako 2022ko deialdian aurkeztu eta onartutako GIU22/015 proiektutik etorriko da. Ikertzaile nagusia: Miren Revuelta. Datak: 2023/01/01 – 2025/12/31.