

ORIGINAL

## Estudio de la ruta neurotrófica Pleiotrofina/PTPRZ en el hipocampo de ratas expuestas a consumo crónico de alcohol y/o deficiencia de tiamina

### *Study of the Pleiotrophin/PTPRZ neurotrophic pathway in the hippocampus of rats exposed to chronic alcohol consumption and/or thiamine deficiency*

ROSARIO LÓPEZ-RODRÍGUEZ\*, \*\*, \*\*\*; MARTA MOYA\*\*\*\*; ESTHER GRAMAGE\*, \*\*, \*\*\*;  
GONZALO HERRADÓN\*, \*\*, \*\*\*; LAURA ORIO\*, \*\*\*, \*\*\*\*, \*\*\*\*\*.

\*Departamento de Ciencias de la Salud y Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo-CEU, Universidades CEU, Madrid, España.

\*\*Instituto de Estudios de las Adicciones, Universidad San Pablo-CEU, Universidades CEU, Madrid, España.

\*\*\*Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones, Instituto de Salud Carlos III, MICINN y FEDER, Madrid, España.

\*\*\*\*Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias del Comportamiento, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

\*\*\*\*\*Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario 12 de Octubre (imas12), Madrid, España.

\* Ambos autores contribuyeron por igual.

#### Resumen

La encefalopatía de Wernicke (WE) es una enfermedad neurológica causada por la deficiencia de tiamina (TD) cuyo principal factor de riesgo es el trastorno por uso del alcohol. El objetivo de este estudio es explorar el perfil de expresión de genes candidatos relacionados con neuroinflamación, disfunción mitocondrial y metabolismo de la tiamina en el hipocampo de animales expuestos a consumo crónico de alcohol (CA), una dieta deficiente en tiamina (TDD) o la combinación de ambos.

Se analizaron un total de 42 ratas Wistar macho incluidas en 4 grupos experimentales: control (C) que recibieron agua o agua suplementada con tiamina (0,2 g/L), alcohol crónico (CA) durante 36 semanas, dieta TD y piritiamina durante 12 días (TDD) y un grupo que combinaba CA+TDD. La expresión relativa de factores neurotróficos (*Ptn*, *Mdk*, *Ptpz*), factores proinflamatorios (*Trh4*, *Cel2* y *Hmgb1*), proteínas implicadas en homeostasis mitocondrial (*Mfn1* y *Mfn2*) y enzimas del metabolismo de la tiamina (*Tpk1*) se determinó a partir de ARNm obtenido del hipocampo de los distintos grupos experimentales. El análisis estadístico se realizó mediante el test no paramétrico Kruskal-Wallis.

La expresión de *Ptpz* tendía a ser menor en el grupo TDD comparado con el grupo C (no significativo) mientras que la disminución de *Ptpz* observada en el grupo TDD fue estadísticamente significativa cuando se comparaba con el grupo CA+TDD ( $p<0,05$ ). Además, el grupo TDD mostró los menores niveles de expresión de *Ptn* y esta disminución fue estadísticamente significativa comparada con los grupos C y CA ( $p<0,05$ ).

Nuestros resultados indican un perfil diferencial de expresión de la ruta PTN-MDK-PTPRZ en el hipocampo de ratas con una dieta TD distinto al observado en el resto de los modelos de encefalopatía WE analizados (CA y CA+TDD).

**Palabras clave:** Wernicke, Korsakoff, deficiencia de tiamina, pleiotrofina, receptor proteína tirosina Fosfatasa Z, neuroinflamación, hipocampo

#### Abstract

Wernicke's encephalopathy (WE) is caused by thiamine deficiency (TD) whose main risk factor is alcohol use disorder. Pathogenic mechanisms associated with WE include mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neuroinflammation. This study aims to explore the gene expression signature of certain candidate genes related to neuroinflammation, mitochondrial dysfunction and thiamine metabolism in the hippocampus from animals exposed to chronic alcohol consumption, thiamine deficiency or the combination of both.

Male Wistar rats (n=42) were randomly assigned to 4 experimental groups: control (C) receiving tap water or tap water plus thiamine (0.2 g/L), chronic alcohol (CA) forced ingestion for 36 weeks, TD diet and pyritiamine for 12 days (TDD) and CA combined with TDD. The relative gene expression of neurotrophic factors (*Ptn*, *Mdk*, *Ptpz*), proinflammatory molecules (*Trh4*, *Cel2* and *Hmgb1*), mitochondrial homeostatic factors (*Mfn1* and *Mfn2*) and thiamine metabolism (*Tpk1*) was analyzed in RNA isolated from the hippocampus across all experimental groups. Differences in gene expression were assessed using non-parametric tests (Kruskal-Wallis).

*Ptpz* mRNA levels tended to be downregulated in the TDD group compared to controls ( $p=0,06$ , non-significant) and levels were significantly decreased related to the CA+TDD group ( $p<0,05$ ). TDD group showed the lowest expression levels of *Ptn* across all experimental groups, and this decrease was statistically significant compared to the control and CA groups ( $p<0,05$ ).

Our findings indicate a differential gene expression profile of the PTN-MDK-PTPRZ axis in the hippocampus of rats receiving a TD diet but not in the rest of the WE models analyzed (CA and CA+TDD).

**Keywords:** Wernicke, Korsakoff, thiamine deficiency, pleiotrophin, Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Z, neuroinflammation, hippocampus

■ Recibido: Julio 2025; Aceptado: Noviembre 2025.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

#### ■ Enviar correspondencia a:

Laura Orio. Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias del Comportamiento, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. Email: lorio@psi.ucm.es

Gonzalo Herradón. Departamento de Ciencias de la Salud y Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo-CEU, Universidades CEU, Madrid, España. Email: herradon@ceu.es

**L**a tiamina es una vitamina esencial (B1) adquirida a través de la dieta cuya forma activa, la tiamina pirofosfato, es un cofactor necesario para enzimas cruciales implicadas en el metabolismo energético (Jhala y Hazell, 2011; Zhao et al., 2014). La deficiencia de tiamina (TD) se ha asociado con disfunción mitocondrial, aumento del estrés oxidativo y nitrosativo y activación de procesos inflamatorios y de daño celular (Moya et al., 2021; Moya et al., 2022b). La desregulación de esos procesos debido a la TD se asocia con diferentes trastornos neurológicos (Abdou y Hazell, 2015; Cassiano et al., 2022; Jhala y Hazell, 2011; Martin et al., 2003; Moya et al., 2022a).

La encefalopatía de Wernicke (WE) es una afección neurológica aguda y grave causada por TD. La principal causa de WE es el trastorno por consumo de alcohol (AUD), aunque la WE también se ha descrito en pacientes con afecciones no relacionadas con el alcohol, como la enfermedad inflamatoria intestinal, la anorexia nerviosa o en pacientes tras cirugías bariátricas (Eva et al., 2023; Kohnke y Meek, 2021). El diagnóstico del trastorno se realiza con frecuencia de forma post mortem mediante estudios de neuroimagen, con estudios de autopsias que informan de una prevalencia de WE entre el 0,4–2,8% y la mayoría de los casos asociados al abuso de alcohol (Abdou y Hazell, 2015; Li y Xing, 2025). Muy pocos casos (20%) parecen identificarse antemortem, y esta tasa de diagnóstico erróneo es alarmantemente alta en la WE no alcohólica. El trastorno se diagnostica por una tríada clásica de síntomas (encefalopatía, oftalmoplejía y ataxia), pero los tres componentes se observan únicamente en un 16% de los pacientes, la mayoría mostrando solo uno o dos componentes y algunos de ellos mostrando una condición infrecuente sin síntomas clásicos, especialmente en las primeras etapas de la WE no alcohólica (Li y Xing, 2025). Otros síntomas principales de la WE incluyen alteraciones cognitivas (confusión, desinhibición) y motoras (nictagmo, pérdida de equilibrio, alteraciones de la marcha, entre otras) (Kohnke y Meek, 2021; Oscar-Berman y Maleki, 2019). Si no se trata, la WE puede progresar a una afección neurológica más grave llamada síndrome de Korsakoff (WKS), por lo que puede considerarse un continuo, denominado síndrome de Wernicke-Korsakoff (Hammond y Jimenez-Shahed, 2019), que se caracteriza por trastornos de la memoria (amnesia anterógrada y retrógrada) y síntomas psiquiátricos (confabulación y psicosis) (Arts et al., 2017; Kohnke y Meek, 2021; Oscar-Berman y Maleki, 2019). Estudios de neuroimagen en pacientes con WE y WKS identificaron daño cerebral en diferentes áreas, siendo el tálamo, los cuerpos mamilares, el hipocampo, los lóbulos frontales o el cerebelo algunas de las áreas más afectadas (Jung et al., 2012). Actualmente, la WE puede tratarse con suplementación de tiamina para evitar la progresión del trastorno, pero no existe evidencia de una

terapia farmacológica beneficiosa para tratar el daño neurológico en el WKS (Arts et al., 2017; Sahu et al., 2025).

La modulación de la respuesta inmunitaria en el sistema nervioso central (SNC), especialmente la respuesta innata mediada por células gliales, ayuda a restaurar y minimizar el daño causado por agresiones patógenas y tóxicas (Chew et al., 2006; Gomez-Nicola y Perry, 2015; Jung et al., 2019; Kielian, 2016; Lehnhardt, 2010). Sin embargo, las respuestas neuroinflamatorias crónicas debido a agresiones persistentes o desequilibrios en los mecanismos homeostáticos contribuyen a una variedad de afecciones neurológicas (Gomez-Nicola y Perry, 2015; Jung et al., 2019; Kielian, 2016). La neuroinflamación sostenida es también uno de los mecanismos patogénicos propuestos en la WE (Abdou y Hazell, 2015; Cassiano et al., 2022; Moya et al., 2022a; Moya et al., 2022b; Moya et al., 2021; Toledo Nunes et al., 2019; Zahr et al., 2014). En este sentido, se observó una regulación al alza de las principales citocinas proinflamatorias (como IL1 $\beta$ , IL6, TNF $\alpha$  o MCP1) y un incremento de los marcadores de activación microglial en diferentes áreas cerebrales (tálamo, colículo inferior o hipocampo, entre otras) en modelos de WE (Toledo Nunes et al., 2019; Zahr et al., 2014). De manera interesante, hallazgos previos mostraron una regulación al alza de la vía de señalización TLR4/MyD88 en el mismo modelo de WE utilizado en este estudio, específicamente en la corteza frontal y el cerebelo (Moya et al., 2022a; Moya et al., 2021). Pleiotrofina (PTN) y Midkina (MDK) son factores neurotróficos que actúan como reguladores de la neuroinflamación en diversas afecciones neurológicas (Cañeque-Rufo et al., 2025; del Campo et al., 2021; Fernández-Calle et al., 2018, 2020; Rodríguez-Zapata et al., 2024; Vicente-Rodríguez et al., 2014; Vicente-Rodríguez et al., 2016). Mientras que la expresión de PTN alcanza su pico en el nacimiento y se mantienen niveles detectables en la edad adulta, la expresión de MDK se produce principalmente durante el desarrollo embrionario y puede inducirse en adultos por diferentes formas de lesión tisular (Ross-Munro et al., 2020). PTN y MDK se unen a diferentes receptores, aunque el receptor tirosina fosfatasa tipo Z (PTPRZ, también conocido como RP-TPR $\beta/\zeta$ ) parece ser el más implicado en la regulación de la neuroinflamación debido a su expresión principal en el SNC (González-Castillo et al., 2015; Herradon et al., 2019; Ross-Munro et al., 2020). PTN y MDK inhiben la actividad tirosina fosfatasa intrínseca de PTPRZ aumentando los niveles de fosforilación de sus sustratos como  $\beta$ -catenina, Fyn o ALK (Herradon et al., 2019; Maeda et al., 1999). Se ha encontrado PTN y MDK regulados al alza en diversas patologías con un contexto neuroinflamatorio como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la lesión cerebral o tras la administración de drogas de abuso (anfetamina o cocaína) (Herradon et al., 2019). En relación con el consumo de alcohol (princi-

pal factor de riesgo de WE y WKS), PTN también se reguló al alza tras una administración aguda de etanol en la corteza prefrontal del ratón (Vicente-Rodríguez et al., 2014) y también se observó un incremento de MDK en la corteza frontal de pacientes con AUD (Flatscher-Bader y Wilce, 2008).

Estudios recientes han revelado el importante papel de la vía PTN-RPTPZ en los procesos hipocampales. De manera interesante, la pérdida de neurogénesis hipocampal inducida por la exposición al etanol durante la adolescencia se regula mediante la administración de un inhibidor selectivo de RPTPZ, MY10. La administración de MY10 en ratones previno completamente la pérdida de neurogénesis hipocampal causada por la exposición aguda al etanol durante la adolescencia (Galán-Llario et al., 2023a). Además, estudios previos han revelado evidencia de diferencias específicas por sexo en los efectos del alcohol intermitente crónico sobre las respuestas gliales y la neurogénesis hipocampal (Galán-Llario et al., 2023b). Aparte de la neuroinflamación inducida por alcohol, otros estudios sugieren que los niveles endógenos de PTN desempeñan un papel importante en la regulación de la respuesta sistémica aguda al lipopolisacárido (LPS) y los cambios microgliales hipocampales en ratones adultos jóvenes, así como en la regulación de los efectos a largo plazo del LPS sobre la respuesta astrocitaria y la neurogénesis en el hipocampo (Rodríguez-Zapata et al., 2024). Sin embargo, el papel modulador de PTN-RPTPZ en los procesos hipocampales tras el consumo crónico de alcohol y/o la deficiencia de tiamina aún no se ha estudiado.

Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo explorar la firma de expresión génica del eje PTN-MDK-PTPRZ y otros genes candidatos relacionados con la neuroinflamación, la disfunción mitocondrial y el metabolismo de la tiamina en el hipocampo en tres modelos *in vivo* diferentes que potencialmente pueden inducir WE mediante consumo crónico de alcohol (CA), dieta con déficit de tiamina y antagonismo de la tiamina (TDD) o la combinación de CA y TDD (CA+TDD).

## Material y métodos

### Animales

Ratas macho Wistar (Envigo®, Barcelona, España) con un peso de 100–125 g a la llegada fueron alimentadas con

### Figura 1

Diseño experimental y cronograma de los tratamientos



**Nota.** Un total de 42 ratas macho Wistar fueron alimentadas con pienso estándar y agua del grifo *ad libitum* durante 12 días antes de la experimentación. Después de eso, los animales fueron asignados aleatoriamente a cada grupo experimental: control [agua del grifo y pienso estándar] (C, n=14#), alcohol crónico [20% p/v durante 36 semanas] (CA, n=9), deficiencia de tiamina [dieta deficiente en tiamina y una administración diaria de piritiamina (0,25 mg/kg; i.p.) durante los últimos 12 días] (TDD, n=9) y CA combinado con TDD (CA+TDD, n=10). #Seis animales control recibieron tiamina oral (0,2 g/L) en el agua. Grupos experimentales tomados de (Moya, López-Valencia, et al., 2022). La imagen de la rata se obtuvo de BioArt Collection NIAID Visual & Medical Arts. 26/06/2025. Black Rat-Grey (BIOART-000054) NIAID BIOART Source: <https://bioart.niaid.nih.gov/bioart/54> y su color fue modificado.

comida estándar y agua del grifo disponibles *ad libitum* durante 12 días antes de la experimentación. Después de eso (alrededor del PD 40), los animales (n = 42) fueron asignados aleatoriamente a cada grupo experimental. Una descripción detallada del alojamiento de los animales puede encontrarse en una publicación previa (Moya et al., 2021).

Todos los procedimientos siguieron las directrices ARRI-VAL y se adhirieron a las directrices del Comité de Bienestar Animal de la Universidad Complutense de Madrid (referencia: PROEX 312-19) en cumplimiento del Real Decreto español 53/2013 y siguiendo la Directiva Europea 2010/63/EU sobre la protección de los animales utilizados para investigación y otros fines científicos.

### Grupos experimentales

El diseño experimental se muestra en la Figura 1. En este estudio se emplearon 4 grupos experimentales: alcohol crónico (CA), dieta con déficit de tiamina + piritiamina (TDD), CA combinado con TDD (CA+TDD) y grupo control (C). Una descripción detallada de los grupos experimentales puede encontrarse en una publicación previa (Moya et al., 2022b).

El grupo CA fue expuesto a consumo forzado de una solución de etanol (acceso limitado a una única botella) basado en el protocolo descrito previamente (Fernandez et al., 2016). La solución de etanol se preparó a partir de etanol 96° (Iberalcohol S.L., Madrid, España) en agua del grifo. El alcohol se introdujo gradualmente; comenzando al 6% durante 5 días, seguido de otros 5 días al 9%, 5 días al 12%,

2 días al 16% y finalmente alcanzando el 20%, que se mantuvo durante las 36 semanas de duración del experimento. Las ratas CA ( $n = 9$ ) recibieron comida estándar *ad libitum* durante todo el experimento.

En el grupo TDD ( $n = 9$ ), los animales fueron alimentados con comida estándar y tuvieron acceso a una única botella con agua del grifo. En los últimos 12 días del experimento, el pienso fue sustituido por una dieta con déficit de tiamina (nivel residual de tiamina  $<0,5$  ppm; Teklad Custom Diet, Envigo, Madison, WI, USA), así como una administración diaria de piritiamina hidrobromuro (inhibidor de la tiamina pirofosfocinasa) (Sigma Aldrich, Madrid, España; 0,25 mg/kg; i.p.), tal como se describió previamente (Moya et al., 2021).

En el grupo CA+TDD, los animales recibieron el mismo tratamiento de alcohol que el grupo CA y en los últimos 12 días del experimento la comida estándar fue sustituida por la dieta con déficit de tiamina más una inyección diaria de piritiamina hidrobromuro, tal como se describió para el grupo TDD ( $n = 10$ ).

El grupo C tuvo acceso a una única botella con agua del grifo y comida estándar *ad libitum* durante toda la duración del estudio ( $n = 8$ ). Un grupo control adicional ( $n = 6$ ) suplementado con 0,2 g/L de tiamina en el agua durante todo el experimento (Moya et al., 2022b) se unió a este grupo dado que no se encontraron cambios significativos en ninguno de los parámetros analizados (grupo C,  $n = 14$ ).

Durante los últimos 12 días del protocolo, los grupos C y CA recibieron inyecciones diarias equivalentes de solución salina (i.p.) para reproducir las mismas condiciones de estrés en todos los animales.

### Recogida de muestras de tejido

En el día 12 del protocolo TDD, al menos 1 h después de la administración del tratamiento, los animales fueron decapitados tras la inyección letal de pentobarbital sódico (320 mg/kg, i.p., Dolethal®, Vétoquinol, España). Los cerebros fueron inmediatamente aislados del cráneo, descartando las meninges y los vasos sanguíneos. Las muestras de corteza frontal y cerebelo han sido utilizadas y publicadas en (Moya et al., 2022b). También se extrajeron los hipocampos y se congelaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis en este estudio.

### Análisis de expresión génica

El ARN total del hipocampo (hemisferio izquierdo) se aisló usando el Total RNA Isolation Kit (Nzytech, Lisboa, Portugal) siguiendo las instrucciones del fabricante. Luego, 1,5  $\mu\text{g}$  de ARN fueron retrotranscritos a ADNc de cadena sencilla (First-strand cDNA Synthesis Kit, Nzytech, Lisboa, Portugal).

La PCR cuantitativa en tiempo real se realizó por duplicado para la cuantificación relativa de *Ptpz*, *Ptn*, *Mdk*, *Tlr4*,

*Ccl2*, *Hmgb1*, *Mfn1*, *Mfn2* y *Tpk1* utilizando el kit SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) en un CFX Opus Real-Time System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). La expresión relativa de cada gen se calculó usando *Rpl13* y *β2m* como genes de referencia, según el método de Livak (Livak y Schmittgen, 2001). Las secuencias de los cebadores y las condiciones experimentales se resumen en la Tabla Suplementaria 1.

### Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software IBM-SPSS v28 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA) y los datos se representaron utilizando GraphPad Prism versión 8 (San Diego, CA, United States). Los datos se presentan como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM). Tras evaluar la no normalidad de la distribución de los datos (test de Kolmogorov-Smirnov), las diferencias en la expresión génica entre los grupos experimentales se analizaron utilizando pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) y se aplicaron comparaciones post-hoc usando la corrección de Bonferroni. Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p$  menor de 0,05.

## Resultados

### Vía PTN-MDK-PTPRZ

En primer lugar, se analizó la expresión génica relativa de *Ptpz* y de sus ligandos *Ptn* y *Mdk* en todos los grupos experimentales (C; CA; TDD; CA+TDD) (Figura 2A-C). Mientras que los niveles de expresión de *Ptpz* en el grupo expuesto a alcohol crónico con o sin dieta con déficit de tiamina (CA y CA+TDD) fueron similares al grupo control, su expresión génica tendió a disminuir en el grupo TDD en comparación con los controles ( $p = 0,06$ , no significativo) y disminuyó significativamente en el grupo TDD en comparación con el grupo CA+TDD (Figura 2A,  $p < 0,05$ ). Además, el grupo TDD mostró los niveles más bajos de expresión de *Ptn* entre todos los grupos experimentales, y esta disminución fue estadísticamente significativa en comparación con los grupos control y CA (Figura 2B,  $p < 0,05$ ). La expresión génica de *Ptn* también fue menor en el grupo que recibió CA y TDD (CA+TDD) en comparación con los grupos control y CA, aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística tras la corrección de Bonferroni. En contraste, no se observaron diferencias significativas en la expresión de *Mdk* entre los grupos analizados (Figura 2C).

### Moléculas neuroinflamatorias

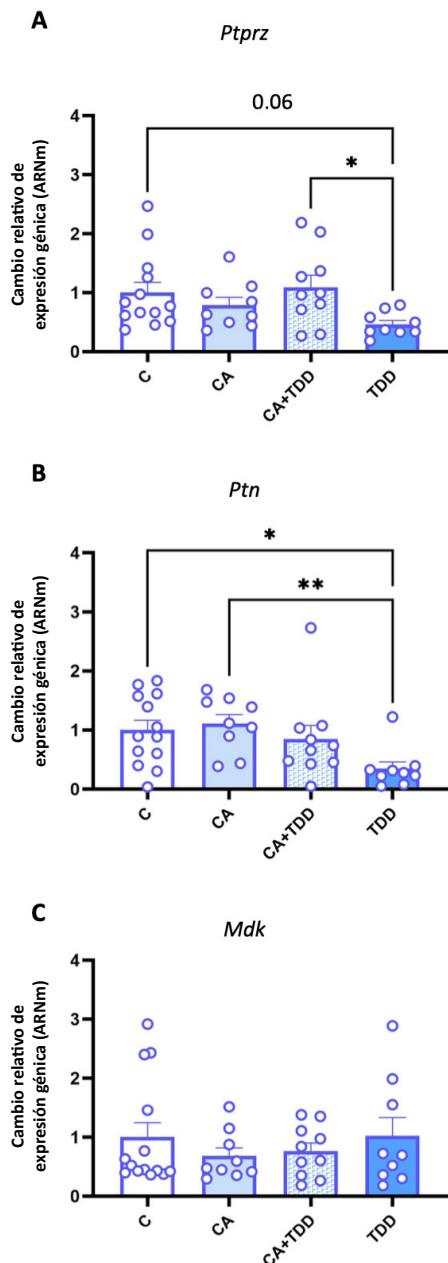
También se evaluaron los niveles de expresión de otros genes asociados con inflamación crónica (*Tlr4*, *Ccl2* y *Hmgb1*) en los tejidos de hipocampo de los diferentes grupos experimentales (Figura 3). La expresión génica de *Tlr4* fue similar en todos los grupos experimentales (Figura 3A). La ex-

presión de *Ccl2* parece ser ligeramente mayor en aquellos grupos experimentales que recibieron TDD (CA+TDD y TDD) en comparación con los grupos C y CA, a pesar de ser una tendencia no significativa (Figura 3B). En relación

con *Hmgb1*, su expresión génica relativa fue prácticamente estable en todos los grupos experimentales, independientemente del tratamiento recibido (Figura 3C).

**Figura 2**

Expresión génica relativa de *Ptprz* y de sus ligandos *Ptn* y *Mdk* en todos los grupos experimentales

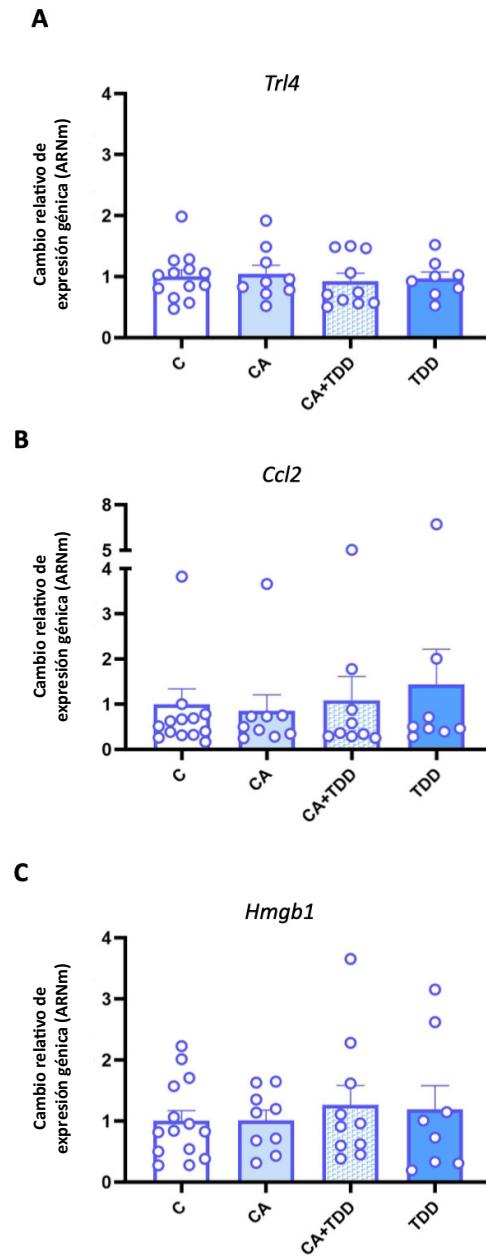


**Nota.** El gráfico representa los datos (media ± E.E.M.) de la cuantificación relativa de los niveles de ARNm de *Ptprz* (A), *Ptn* (B) y *Mdk* (C) en el hipocampo de ratas macho Wistar.

Control (C, n=14), alcohol crónico (CA, n=9), dieta deficiente en tiamina y piritiamina durante 12 días (TDD, n=9) y CA combinado con TDD (CA+TDD, n=10). \*p < 0,05 para diferencias significativas entre CA vs. TDD y \*\*p < 0,01 para diferencias significativas entre CA vs. TDD. No se observaron diferencias significativas en la expresión de *Mdk* entre los grupos analizados. La significación estadística se evaluó mediante pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) y comparaciones post-hoc (corrección de Bonferroni).

**Figura 3**

Expresión relativa de genes proinflamatorios en los modelos in vivo de WE analizados

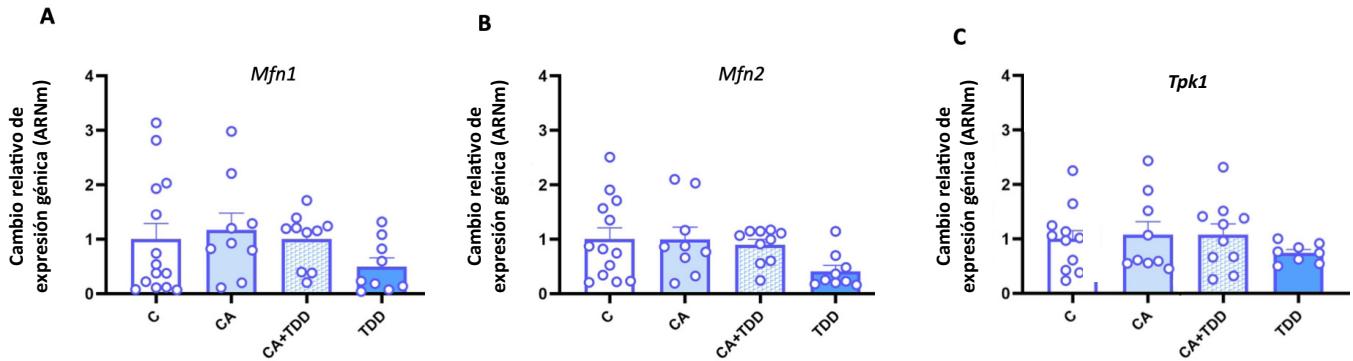


**Nota.** El gráfico representa los datos (media ± E.E.M.) de la cuantificación relativa de los niveles de ARNm de *Trl4* (A), *Ccl2* (B) y *Hmgb1* (C) en el hipocampo.

Control (C, n=14), alcohol crónico (CA, n=9), dieta deficiente en tiamina y piritiamina durante 12 días (TDD, n=9) y CA combinado con TDD (CA+TDD, n=10). La significación estadística se evaluó mediante pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) y comparaciones post-hoc (corrección de Bonferroni). No se observaron diferencias significativas en la expresión de *Trl4*, *Ccl2* y *Hmgb1* entre los grupos analizados.

Figura 4

Niveles de expresión de genes relacionados con la homeostasis mitocondrial y el metabolismo de la tiamina



**Nota.** El gráfico representa los datos (media ± E.E.M.) de la cuantificación relativa de *Mfn1* (A), *Mfn2* (B) y *Tpk1* (C). Control (C, n=14), alcohol crónico (CA, n=9), dieta deficiente en tiamina y piritiamina durante 12 días (TDD, n=9) y CA combinado con TDD (CA+TDD, n=10). La significación estadística se evaluó mediante pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) y comparaciones post-hoc (corrección de Bonferroni). No se observaron diferencias significativas en la expresión de *Mfn1*, *Mfn2* y *Tpk1* entre los grupos analizados.

## Homeostasis mitocondrial y metabolismo de la tiamina

Además, se analizaron los niveles de expresión génica de *Mfn1* y *Mfn2*, proteínas cruciales implicadas en la salud y homeostasis mitocondrial (Figura 4). De manera interesante, la expresión de *Mfn1* tendió a disminuir en el grupo TDD (efecto no significativo), mientras que su expresión en el resto de los grupos experimentales fue similar (Figura 4A). Del mismo modo, los niveles más bajos de expresión de *Mfn2* se encontraron en el grupo TDD (efecto no significativo), siendo su expresión similar en el resto de los grupos experimentales (Figura 4B).

Finalmente, se midieron los niveles de expresión génica de *Tpk1*, que codifica la enzima implicada en la conversión de la tiamina a su forma activa (Figura 4C). Sus niveles de expresión no difirieron entre los grupos experimentales, aunque los niveles más bajos de *Tpk1* (no significativos) se encontraron en el grupo TDD (Figura 4C).

## Discusión

La WE es una afección neurológica mayor causada por TD, siendo el AUD el principal factor de riesgo (Eva et al., 2023; Oscar-Berman y Maleki, 2019). Además, el WKS puede desarrollarse con frecuencia en aquellos pacientes con WE que no reciben terapia sustitutiva con tiamina. Sus efectos graves, incluida la amnesia y los trastornos psiquiátricos, impactan de manera significativa en la calidad de vida de estos pacientes (Kohnke y Meek, 2021; Oscar-Berman y Maleki, 2019). En este estudio, se analizó la firma de expresión génica de un conjunto de genes candidatos implicados en la neuroinflamación, la disfunción mitocondrial y el metabolismo de la tiamina en tres modelos animales que potencialmente inducen WE (CA, CA+TDD

y TDD) para caracterizar la contribución del alcohol y la deficiencia nutricional de tiamina a esta afección, específicamente en el hipocampo. Nuestros hallazgos indican una expresión génica diferencial del eje PTN-MDK-PTPRZ en el grupo que recibió la dieta con déficit de tiamina sin contribución significativa de los grupos con alcohol (CA y CA+TDD).

PTPRZ es el receptor principal de PTN y MDK en el SNC, donde se encuentra ampliamente expresado. PTN y MDK son dos factores neurotróficos implicados en la regulación de los mecanismos neuroinflamatorios subyacentes a distintas afecciones neurológicas (Herradon et al., 2019). *Ptpz* se encontró regulado a la baja en el hipocampo del grupo TDD; sin embargo, esta disminución no se observó en los grupos experimentales expuestos a alcohol crónico (36 semanas) sin o con dieta con déficit de tiamina (CA y CA+TDD, respectivamente). En este sentido, resultados previos de nuestro grupo mostraron ausencia de cambios en la expresión de *Ptpz* en la CPF del ratón tras una exposición aguda a etanol (Rodríguez-Zapata et al., 2023). Por lo tanto, nuestros datos sugieren que la regulación a la baja de *Ptpz* podría ser específica de la dieta con déficit de tiamina y no verse afectada por la exposición crónica al alcohol, como se observa en los grupos CA y CA+TDD. No obstante, se necesitan más estudios para confirmar que la expresión de *Ptpz* no se modifica por el consumo crónico de alcohol. De manera interesante, los ratones knockout para *Ptpz* muestran alteraciones en el comportamiento social y agresividad sugestivas de algunos síntomas positivos de la esquizofrenia (también presentes en pacientes con WKS), así como niveles elevados de dopamina en la CPF, amígdala e hipocampo (Cressant et al., 2017).

De forma llamativa, la dieta con déficit de tiamina indujo una disminución significativa en la expresión de *Ptn*,

mientras que no se observaron diferencias significativas en *Mdk* entre los grupos analizados. Esto es interesante porque PTN y MDK son los únicos miembros de esta familia de citoquinas, y se solapan ampliamente en estructura y función (Herradón et al., 2005; Herradón y Pérez-García, 2014). Sin embargo, los datos presentados aquí sugieren un papel más prominente de PTN en situaciones de deficiencia de tiamina. Además, PTN y MDK se han encontrado regulados al alza en diversas patologías con un componente neuroinflamatorio (Herradón et al., 2019). En relación con el consumo de alcohol, la expresión de *Ptn* se reguló al alza en la CPF del ratón tras una administración aguda de etanol (Vicente-Rodríguez et al., 2014); sin embargo, tras un modelo de acceso intermitente al etanol durante 4 semanas en la adolescencia, no observamos cambios significativos en la expresión de *Ptn* en el hipocampo del ratón (Galán-Llario et al., 2024). Además, PTN parece desempeñar un papel protector frente a la pérdida neuronal dopamínérgica en diferentes contextos patológicos (Gombash et al., 2012; Gramage et al., 2010). En respuesta a una agresión tóxica, como administraciones de anfetamina, los ratones knockout para *Ptn* mostraron una intensificación de la neurotoxicidad dopamínérgica en la vía nigroestriatal (Gramage et al., 2010), mientras que la sobreexpresión de *Ptn* mostró efectos neurotróficos protectores en modelos de roedores de la enfermedad de Parkinson (Gombash et al., 2012). Tomando conjuntamente la regulación a la baja de *Ptn* y *Ptpz* en ratas con dieta con déficit de tiamina, resulta tentador hipotetizar que los déficits en esta vía neurotrófica podrían estar implicados en la gravedad del daño cerebral causado por la dieta con déficit de tiamina.

La neuroinflamación es uno de los principales mecanismos patogénicos subyacentes al daño cerebral en WE (Cassiano et al., 2022; Eva et al., 2023; Toledo Nunes et al., 2019; Zahr et al., 2014; Zhao et al., 2014). Por lo tanto, se evaluó el patrón de expresión génica de *Tr4*, *Ccl2* y *Hmgb1* en los modelos animales de consumo de CA y TD analizados en este estudio. Diferentes estudios avalan el papel de la respuesta inmunitaria TLR4 en la neuroinflamación observada en WE, particularmente en las áreas corticales y cerebelosas (Moya et al., 2022a; Moya et al., 2021). Por ejemplo, tanto los niveles proteicos de TLR4 como de HMGB1 se encontraron regulados al alza en la CPF tras 12 días de TDD, mientras que las alteraciones de esta vía en el cerebro fueron más evidentes tras 16 días de TDD (Moya et al., 2021). En el presente estudio, no encontramos alteraciones significativas en la expresión de estas moléculas proinflamatorias en el hipocampo tras 12 días de TDD, lo que sugiere que el pico de neuroinflamación en esta estructura podría estar ocurriendo en un momento diferente, de acuerdo con las distintas vulnerabilidades regionales del cerebro a la deficiencia de tiamina a lo largo del tiempo (Moya et al., 2021). No obstante, el análisis transcriptómico de un modelo *ex vivo* de TD

(cultivo organotípico de rodaja hipocampal) no mostró alteraciones en *Tr4*, *Ccl2* o *Hmgb1* entre 90 genes diferencialmente expresados, incluyendo las vías de señalización TNF y FoxO (Cassiano et al., 2022), en concordancia con los datos del presente estudio.

Además, se determinó la expresión génica de *Mfn1* y *Mfn2*. La regulación de la dinámica mitocondrial es crucial para la homeostasis del calcio y la energía en las neuronas (McCoy y Cookson, 2012; van Horssen et al., 2019), siendo MFN1 y MFN2 esenciales para la fusión mitocondrial (van Horssen et al., 2019; Wai y Langer, 2016). Tanto *Mfn1* como *Mfn2* tendieron a disminuir en el grupo TDD (no significativo), mientras que su expresión en el resto de los grupos experimentales fue muy similar al grupo control. Curiosamente, se ha encontrado que los niveles de *Mfn2* disminuyen en el hipocampo de ratones sometidos al procedimiento de drinking in the dark (Mira et al., 2020). Además, los ratones knockout inducibles para *Mfn2* mostraron neurodegeneración mediada por estrés oxidativo y neuroinflamación en hipocampo y corteza (Han et al., 2020). Por tanto, se necesitan más estudios para confirmar una posible disminución en la expresión de *Mfn2* en TD y su posible valor como marcador temprano de disfunción mitocondrial.

Finalmente, analizamos *Tpk1*, una proteína crucial en el metabolismo de la tiamina que codifica la enzima implicada en la conversión de la tiamina a su forma activa (Jhala y Hazell, 2011; Zhao et al., 2014). Los bajos niveles de expresión de *Tpk1* en el cerebro, en comparación con otros tejidos, parecen contribuir a la vulnerabilidad cerebral a la deficiencia de tiamina (Xia et al., 2024). En este sentido, no encontramos diferencias en los niveles de expresión de *Tpk1*, lo que sugiere que el metabolismo de la tiamina en el hipocampo puede no ser crucial en estos modelos de WE.

Tomando todos los resultados en conjunto, este estudio muestra un papel prominente del modelo TDD frente al modelo de consumo crónico de alcohol, ya que cualquier alteración encontrada en este estudio estuvo presente en el grupo TDD. De manera similar, otros autores observaron un papel fundamental de la TD en la expresión de marcadores neuroinflamatorios en comparación con modelos de alcohol crónico, donde los marcadores inflamatorios mostraron solo modificaciones menores (Toledo Nunes et al., 2019). De forma similar, en cuanto a parámetros de daño y correlatos conductuales como la desinhibición, observamos previamente que los cambios en el grupo CA+TDD dependían en gran medida del TDD (Moya et al., 2022b), confirmando el mayor potencial de daño de este modelo.

En cuanto a los correlatos conductuales, los animales del grupo TDD no mostraron una afectación significativa de la memoria, aunque pudo observarse una tendencia en el test de reconocimiento de objetos novedosos (NOR), ya que algunos animales TDD mostraron mayores latencias para explorar el objeto novedoso y una ligera disminución

en el índice de discriminación (Moya et al., 2022b). En el presente estudio, también examinamos la posible correlación entre dos parámetros del test NOR (latencia al objeto novedoso e índice de discriminación). Nuestro análisis no encontró una asociación significativa entre los niveles de expresión de *Ptn* y *Ptpz* y estos resultados del test NOR (datos no mostrados). Por tanto, las disminuciones significativas en la expresión de *Ptn* y *Ptpz* observadas en el hipocampo del grupo TDD podrían estar relacionadas con un paso inicial del daño hipocampal, en el cual las funciones de memoria y motoras no están significativamente comprometidas.

Somos conscientes de algunas limitaciones del estudio, como la inclusión de un grupo control combinado (con y sin suplementación de tiamina) y los cambios modestos observados en la expresión de ciertos genes candidatos (*Ptn* y *Ptpz*) en el grupo TDD. Además, en los animales del presente estudio observamos una tendencia hacia la disminución de los niveles plasmáticos de tiamina en todos los animales CA (Moya et al., 2022b) aunque no se analizó la forma activa (TDP). En este sentido, otros autores han informado disminuciones significativas en los niveles de difosfato de tiamina (TDP), la forma activa de la tiamina, en glóbulos rojos de animales sometidos a protocolos similares de CA y TDD, como medida objetiva de deficiencia de tiamina (Toledo Nunes et al., 2019). Finalmente, solo incluimos machos en este estudio, lo cual es una limitación importante. Hasta donde sabemos, las hembras no se han estudiado con estos protocolos animales. Considerando la brecha actual en investigación biomédica respecto a los efectos en hembras y dado el creciente cuerpo de conocimiento sobre las diferencias sexuales en el impacto biológico del CA en parámetros cerebrales, incluida la neuroinflamación, es urgente completar estas investigaciones utilizando hembras para análisis comparativos. A pesar de estas limitaciones, estos hallazgos preliminares sobre el eje PTN/PTPRZ podrían proporcionar datos novedosos sobre los pasos iniciales del daño cerebral causado por una dieta con déficit de tiamina.

Los datos sugieren que un déficit general de la vía neurotrófica PTN/PTPRZ, junto con posibles alteraciones en la dinámica mitocondrial, podrían ser eventos que preceden la sintomatología grave de una etapa avanzada en WE. Se necesitan más experimentos para confirmar esta hipótesis, lo que podría conducir al desarrollo de nuevas terapias para prevenir afectaciones neurológicas y la progresión de la enfermedad. En este sentido, se ha desarrollado recientemente una pequeña molécula permeable a la BHE, llamada MY10, que imita muchas de las acciones de PTN en el SNC, como la reducción del consumo de alcohol en diferentes modelos de roedores (Calleja-Conde et al., 2020; Fernández-Calle et al., 2018; Galán-Llario, Rodríguez-Zapata, Fontán-Baselga, et al., 2023).

## Conclusión

Nuestros hallazgos indican un perfil diferencial de expresión génica del eje PTN-MDK-PTPRZ en el hipocampo de ratas que recibieron una dieta con déficit de tiamina y piritiamina durante 12 días, pero no en el resto de los modelos de WE analizados (CA y CA+TDD). Los datos sugieren que los déficits de la vía neurotrófica PTN/PTPRZ pueden preceder a las etapas más graves y avanzadas de la WE. Estudios adicionales que diluciden los roles de PTN y su receptor en WE podrían abrir nuevas vías terapéuticas para prevenir el desarrollo y progresión del WKS.

## Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por el Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad de España (subvenciones 2023I018 a G.H. y 2024I044 a E.G.), por el Ministerio de Ciencia e Innovación (España), cofinanciado por FEDER (Unión Europea) (subvención PID2021-127256OB-I00 a L.O.) y por ISCIII Redes de Investigación Cooperativa Orientadas a Resultados en Salud (RICORS), Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAd; subvención RD24/0003/0011 a G.H. y RD24/0003/0010 a L.O.).

## Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

## Referencias

- Abdou, E. y Hazell, A. S. (2015). Thiamine Deficiency: An Update of Pathophysiologic Mechanisms and Future Therapeutic Considerations. *Neurochemical Research*, 40(2), 353–361. <https://doi.org/10.1007/s11064-014-1430-z>
- Arts, N., Walvoort, S. y Kessels, R. (2017). Korsakoff's syndrome: A critical review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment, Volume 13*, 2875–2890. <https://doi.org/10.2147/NDT.S130078>
- Calleja-Conde, J., Fernández-Calle, R., Zapico, J. M., Ramos, A., de Pascual-Teresa, B., Bühler, K., Echaverry-Alzate, V., Giné, E., Rodríguez de Fonseca, F., López-Moreno, J. A. y Herradón, G. (2020). Inhibition of Receptor Protein Tyrosine Phosphatase  $\beta/\zeta$  Reduces Alcohol Intake in Rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 44(5), 1037–1045. <https://doi.org/10.1111/acer.14321>
- Cañeque-Rufo, H., Fontán-Baselga, T., Galán-Llario, M., Zuccaro, A., Sánchez-Alonso, M. G., Gramage, E., Ramos-Álvarez, M. del P. y Herradón, G. (2025). Pleiotrophin deletion prevents high-fat diet-induced cognitive impairment, glial responses, and alterations of the perineuronal nets in the hippocampus. *Neurobio-*

- logy of Disease, 205, 106776. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2024.106776>
- Cassiano, L. M. G., Oliveira, M. S., Pioline, J., Salim, A. C. M. y Coimbra, R. S. (2022). Neuroinflammation regulates the balance between hippocampal neuron death and neurogenesis in an ex vivo model of thiamine deficiency. *Journal of Neuroinflammation*, 19(1), 272. <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02624-6>
- Chew, L., Takanohashi, A. y Bell, M. (2006). Microglia and inflammation: Impact on developmental brain injuries. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 12(2), 105–112. <https://doi.org/10.1002/mrdd.20102>
- Cressant, A., Dubreuil, V., Kong, J., Kranz, T. M., Lazarini, F., Launay, J.-M., Callebert, J., Sap, J., Malaspina, D., Granon, S. y Harroch, S. (2017). Loss-of-function of PTPR  $\gamma$  and  $\zeta$ , observed in sporadic schizophrenia, causes brain region-specific deregulation of monoamine levels and altered behavior in mice. *Psychopharmacology*, 234(4), 575–587. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4490-8>
- del Campo, M., Fernández-Calle, R., Vicente-Rodríguez, M., Martín Martínez, S., Gramage, E., Zapico, J. M., Haro, M. y Herradón, G. (2021). Role of Receptor Protein Tyrosine Phosphatase  $\beta/\zeta$  in Neuron–Microglia Communication in a Cellular Model of Parkinson’s Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6646. <https://doi.org/10.3390/ijms22136646>
- Eva, L., Brehar, F.-M., Florian, I.-A., Covache-Busuioc, R.-A., Costin, H. P., Dumitrascu, D.-I., Bratu, B.-G., Glavan, L.-A. y Ciurea, A. V. (2023). Neuropsychiatric and Neuropsychological Aspects of Alcohol-Related Cognitive Disorders: An In-Depth Review of Wernicke’s Encephalopathy and Korsakoff’s Syndrome. *Journal of Clinical Medicine*, 12(18), 6101. <https://doi.org/10.3390/jcm12186101>
- Fernandez, G. M., Stewart, W. N. y Savage, L. M. (2016). Chronic Drinking During Adolescence Predisposes the Adult Rat for Continued Heavy Drinking: Neurotrophin and Behavioral Adaptation after Long-Term, Continuous Ethanol Exposure. *PLOS ONE*, 11(3), e0149987. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149987>
- Fernández-Calle, R., Galán-Llario, M., Gramage, E., Zapatería, B., Vicente-Rodríguez, M., Zapico, J. M., de Pascual-Teresa, B., Ramos, A., Ramos-Álvarez, M. P., Uribarri, M., Ferrer-Alcón, M. y Herradón, G. (2020). Role of RPTP $\beta/\zeta$  in neuroinflammation and microglia-neuron communication. *Scientific Reports*, 10(1), 20259. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76415-5>
- Fernández-Calle, R., Vicente-Rodríguez, M., Pastor, M., Gramage, E., Di Geronimo, B., Zapico, J. M., Coderch, C., Pérez-García, C., Lasek, A. W., de Pascual-Teresa, B., Ramos, A. y Herradón, G. (2018). Pharmacological inhibition of Receptor Protein Tyrosine Phosphatase  $\beta/\zeta$  (PTPRZ1) modulates behavioral responses to ethanol. *Neuropharmacology*, 137, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.04.027>
- Flatscher-Bader, T. y Wilce, P. A. (2008). Impact of Alcohol Abuse on Protein Expression of Midkine and Excitatory Amino Acid Transporter 1 in the Human Prefrontal Cortex. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32(10), 1849–1858. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00754.x>
- Galán-Llario, M., Rodríguez-Zapata, M., Fontán-Baselga, T., Cañeque-Rufo, H., García-Guerra, A., Fernández, B., Gramage, E. y Herradón, G. (2024). Pleiotrophin Overexpression Reduces Adolescent Ethanol Consumption and Modulates Ethanol-Induced Glial Responses and Changes in the Perineuronal Nets in the Mouse Hippocampus. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 30(12). <https://doi.org/10.1111/cns.70159>
- Galán-Llario, M., Rodríguez-Zapata, M., Fontán-Baselga, T., Gramage, E., Vicente-Rodríguez, M., Zapico, J. M., de Pascual-Teresa, B., Lasek, A. W. y Herradón, G. (2023a). Inhibition of RPTP $\beta/\zeta$  reduces chronic ethanol intake in adolescent mice and modulates ethanol effects on hippocampal neurogenesis and glial responses in a sex-dependent manner. *Neuropharmacology*, 227, 109438. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2023.109438>
- Galán-Llario, M., Rodríguez-Zapata, M., Gramage, E., Vicente-Rodríguez, M., Fontán-Baselga, T., Ovejero-Benito, M.C., Pérez-García C, Carrasco J., Moreno-Herradón M, Sevillano J., Ramos-Álvarez P., Zapico, J. M., de Pascual-Teresa, B., Ramos A. y Herradón, G. (2023b). Receptor protein tyrosine phosphatase  $\beta/\zeta$  regulates loss of neurogenesis in the mouse hippocampus following adolescent acute ethanol exposure. *Neurotoxicology*, 94:98–107. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2022.11.008>
- Gombash, S. E., Lipton, J. W., Collier, T. J., Madhavan, L., Steece-Collier, K., Cole-Strauss, A., Terpstra, B. T., Spieles-Engemann, A. L., Daley, B. F., Wohlgenant, S. L., Thompson, V. B., Manfredsson, F. P., Mandel, R. J. y Sortwell, C. E. (2012). Striatal Pleiotrophin Overexpression Provides Functional and Morphological Neuroprotection in the 6-Hydroxydopamine Model. *Molecular Therapy*, 20(3), 544–554. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.216>
- Gomez-Nicola, D. y Perry, V. H. (2015). Microglial Dynamics and Role in the Healthy and Diseased Brain. *The Neuroscientist*, 21(2), 169–184. <https://doi.org/10.1177/1073858414530512>
- González-Castillo, C., Ortúñoz-Sahagún, D., Guzmán-Brambila, C., Pallàs, M. y Rojas-Mayorquín, A. E. (2015). Pleiotrophin as a central nervous system neuromodulator, evidences from the hippocampus. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00443>

- Gramage, E., Rossi, L., Granado, N., Moratalla, R. y Herradón, G. (2010). Genetic inactivation of Pleiotrophin triggers amphetamine-induced cell loss in the substantia nigra and enhances amphetamine neurotoxicity in the striatum. *Neuroscience*, 170(1), 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.06.078>
- Hammoud, N. y Jimenez-Shahed, J. (2019). Chronic Neurologic Effects of Alcohol. *Clinics in Liver Disease*, 23(1), 141–155. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2018.09.010>
- Han, S., Nandy, P., Austria, Q., Siedlak, S. L., Torres, S., Fujioka, H., Wang, W. y Zhu, X. (2020). Mfn2 Ablation in the Adult Mouse Hippocampus and Cortex Causes Neuronal Death. *Cells*, 9(1), 116. <https://doi.org/10.3390/cells9010116>
- Herradón, G., Ezquerra, L., Nguyen, T., Silos-Santiago, I. y Dueel, T. F. (2005). Midkine regulates pleiotrophin organ-specific gene expression: Evidence for transcriptional regulation and functional redundancy within the pleiotrophin/midkine developmental gene family. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 333(3), 714–721. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.05.160>
- Herradón, G. y Pérez-García, C. (2014). Targeting midkine and pleiotrophin signalling pathways in addiction and neurodegenerative disorders: Recent progress and perspectives. *British Journal of Pharmacology*, 171(4), 837–848. <https://doi.org/10.1111/bph.12312>
- Herradón, G., Ramos-Alvarez, M. P. y Gramage, E. (2019). Connecting Metainflammation and Neuroinflammation Through the PTN-MK-RPTP $\beta/\zeta$  Axis: Relevance in Therapeutic Development. *Frontiers in Pharmacology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00377>
- Jhala, S. S. y Hazell, A. S. (2011). Modeling neurodegenerative disease pathophysiology in thiamine deficiency: Consequences of impaired oxidative metabolism. *Neurochemistry International*, 58(3), 248–260. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.11.019>
- Jung, Y. J., Tweedie, D., Scerba, M. T. y Greig, N. H. (2019). Neuroinflammation as a Factor of Neurodegenerative Disease: Thalidomide Analogs as Treatments. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00313>
- Jung, Y.-C., Chanraud, S. y Sullivan, E. V. (2012). Neuroimaging of Wernicke's Encephalopathy and Korsakoff's Syndrome. *Neuropsychology Review*, 22(2), 170–180. <https://doi.org/10.1007/s11065-012-9203-4>
- Kielian, T. (2016). Multifaceted roles of neuroinflammation: The need to consider both sides of the coin. *Journal of Neurochemistry*, 136(S1), 5–9. <https://doi.org/10.1111/jnc.13530>
- Kohnke, S. y Meek, C. L. (2021). Don't seek, don't find: The diagnostic challenge of Wernicke's encephalopathy. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*, 58(1), 38–46. <https://doi.org/10.1177/0004563220939604>
- Lehnardt, S. (2010). Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: The role of microglia in Toll-like receptor-mediated neuronal injury. *Glia*, 58(3), 253–263. <https://doi.org/10.1002/glia.20928>
- Li, S. y Xing, C. (2025). Wernicke encephalopathy: A mini review of the clinical spectrum, atypical manifestations, and diagnostic challenges. *Frontiers in Neurology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fneur.2025.1566366>
- Livak, K. J. y Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2 $^{-\Delta\Delta CT}$  Method. *Methods*, 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Maeda, N., Ichihara-Tanaka, K., Kimura, T., Kadomatsu, K., Muramatsu, T. y Noda, M. (1999). A Receptor-like Protein-tyrosine Phosphatase PTP $\zeta$ /RPTP $\beta$  Binds a Heparin-binding Growth Factor Midkine. *Journal of Biological Chemistry*, 274(18), 12474–12479. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.18.12474>
- Martin, P. R., Singleton, C. K. y Hiller-Sturmhöfel, S. (2003). The role of thiamine deficiency in alcoholic brain disease. *Alcohol Research & Health: The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 27(2), 134–142.
- McCoy, M. K. y Cookson, M. R. (2012). Mitochondrial quality control and dynamics in Parkinson's disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 16(9), 869–882. <https://doi.org/10.1089/ARS.2011.4019>
- Mira, R. G., Lira, M., Quintanilla, R. A. y Cerpa, W. (2020). Alcohol consumption during adolescence alters the hippocampal response to traumatic brain injury. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 528(3), 514–519. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.05.160>
- Moya, M., Escudero, B., Gómez-Blázquez, E., Rebolledo-Poves, A. B., López-Gallardo, M., Guerrero, C., Marco, E. M. y Orio, L. (2022a). Upregulation of TLR4/MyD88 pathway in alcohol-induced Wernicke's encephalopathy: Findings in preclinical models and in a postmortem human case. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.866574>
- Moya, M., López-Valencia, L., García-Bueno, B. y Orio, L. (2022b). Disinhibition-Like Behavior Correlates with Frontal Cortex Damage in an Animal Model of Chronic Alcohol Consumption and Thiamine Deficiency. *Biomedicines*, 10(2), 260. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020260>
- Moya, M., San Felipe, D., Ballesta, A., Alén, F., Rodríguez de Fonseca, F., García-Bueno, B., Marco, E. M. y Orio, L. (2021). Cerebellar and cortical TLR4 activation and behavioral impairments in Wernicke-Korsakoff Syndrome: Pharmacological effects of oleoylethanolamide. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 108, 110190. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110190>

- Oscar-Berman, M. y Maleki, N. (2019). Alcohol Dementia, Wernicke's Encephalopathy, and Korsakoff's Syndrome. En M. L. Alosco & R. A. Stern (Eds.), *The Oxford Handbook of Adult Cognitive Disorders* (pp. 742–758). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780190664121.013.33>
- Rodríguez-Zapata, M., Galán-Llario, M., Cañequero-Rufo, H., Sevillano, J., Sánchez-Alonso, M. G., Zapico, J. M., Ferrer-Alcón, M., Uribarri, M., Pascual-Teresa, B. de, Ramos-Álvarez, M. del P., Herradón, G., Pérez-García, C. y Gramage, E. (2023). Implication of the PTN/RPTP $\beta/\zeta$  Signaling Pathway in Acute Ethanol Neuroinflammation in Both Sexes: A Comparative Study with LPS. *Biomedicines*, 11(5), 1318. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11051318>
- Rodríguez-Zapata, M., López-Rodríguez, R., Ramos-Álvarez, M. del P., Herradón, G., Pérez-García, C. y Gramage, E. (2024). Pleiotrophin modulates acute and long-term LPS-induced neuroinflammatory responses and hippocampal neurogenesis. *Toxicology*, 509, 153947. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2024.153947>
- Ross-Munro, E., Kwa, F., Kreiner, J., Khore, M., Miller, S. L., Tolcos, M., Fleiss, B. y Walker, D. W. (2020). Midkine: The Who, What, Where, and When of a Promising Neurotrophic Therapy for Perinatal Brain Injury. *Frontiers in Neurology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.568814>
- Sahu, P., Verma, H. K. y Bhaskar, L. (2025). Alcohol and alcoholism associated neurological disorders: Current updates in a global perspective and recent recommendations. *World Journal of Experimental Medicine*, 15(1). <https://doi.org/10.5493/wjem.v15.i1.100402>
- Toledo Nunes, P., Vedder, L. C., Deak, T. y Savage, L. M. (2019). A Pivotal Role for Thiamine Deficiency in the Expression of Neuroinflammation Markers in Models of Alcohol-Related Brain Damage. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 43(3), 425–438. <https://doi.org/10.1111/acer.13946>
- van Horssen, J., van Schaik, P. y Witte, M. (2019). Inflammation and mitochondrial dysfunction: A vicious circle in neurodegenerative disorders? *Neuroscience Letters*, 710. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2017.06.050>
- Vicente-Rodríguez, M., Pérez-García, C., Ferrer-Alcón, M., Uribarri, M., Sánchez-Alonso, M. G., Ramos, M. P. y Herradón, G. (2014). Pleiotrophin differentially regulates the rewarding and sedative effects of ethanol. *Journal of Neurochemistry*, 131(5), 688–695. <https://doi.org/10.1111/jnc.12841>
- Vicente-Rodríguez, M., Rojo Gonzalez, L., Gramage, E., Fernández-Calle, R., Chen, Y., Pérez-García, C., Ferrer-Alcón, M., Uribarri, M., Bailey, A. y Herradón, G. (2016). Pleiotrophin overexpression regulates amphetamine-induced reward and striatal dopaminergic denervation without changing the expression of dopamine D1 and D2 receptors: Implications for neuroinflammation. *European Neuropsychopharmacology*, 26(11), 1794–1805. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.09.002>
- Wai, T. y Langer, T. (2016). Mitochondrial Dynamics and Metabolic Regulation. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 27(2), 105–117. <https://doi.org/10.1016/J.TEM.2015.12.001>
- Xia, Y., Qian, T., Fei, G., Cheng, X., Zhao, L., Sang, S. y Zhong, C. (2024). Low expression of thiamine pyrophosphokinase-1 contributes to brain susceptibility to thiamine deficiency. *NeuroReport*, 35(15), 1000–1009. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000002094>
- Zahr, N. M., Alt, C., Mayer, D., Rohlfing, T., Manning-Bog, A., Luong, R., Sullivan, E. V. y Pfefferbaum, A. (2014). Associations between in vivo neuroimaging and postmortem brain cytokine markers in a rodent model of Wernicke's encephalopathy. *Experimental Neurology*, 261, 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.06.015>
- Zhao, Y., Wu, Y., Hu, H., Cai, J., Ning, M., Ni, X. y Zhong, C. (2014). Downregulation of transketolase activity is related to inhibition of hippocampal progenitor cell proliferation induced by thiamine deficiency. *BioMed Research International*, 2014, 572915. <https://doi.org/10.1155/2014/572915>

## Información suplementaria

### Tabla suplementaria 1

*Lista de cebadores utilizados para el análisis de expresión génica mediante PCR cuantitativa en tiempo real*

Gen	Cebador directo/inverso	T <sub>a</sub> (°C)
<i>Ptn</i>	5'-TTGGGGAGAATGTGACCTCAATAC-3' 5'-TCTCCTGTTCTGCCTCCTT-3'	60
<i>Ptpz</i>	5'-ACCACCAACACCCATCTTCC-3' 5'-CAGCTCTGCACCCCTGGTAA-3'	60
<i>Mdk</i>	5'-CCCGTGAGCGAGATGCAG-3' 5'-CAGGTCCACTCCGAACACTC-3'	60
<i>Hmgb1</i>	5'-TACAGAGCGGAGAGAGTGAGG-3' 5'-GACATTTGCCTCTGGCTT-3'	60
<i>Mfn1</i>	5'-CTGGGACGGAATGAGTGACC-3' 5'-CATGTGAGGGGCCAATCTT-3'	60
<i>Mfn2</i>	5'-AGAGGCGATTGAGGAGTG-3' 5'-CGCTCTCCCGCATTCAAG-3'	60
<i>Tpk1</i>	5'-CCCGCTATGGAGCATGTCTT-3' 5'-GCTTTCTCAAAGATGCCGA-3'	60
<i>Ccl2</i>	5'-AGATCTGTGCTGACCCAAT-3' 5'-GGTGTGAAGTCCTAGGGT-3'	60
<i>Tlr4</i>	5'-GATCTGAGCTCAACCCCTG-3' 5'-GTACCAAGGTTGAGAGCTGGT-3'	60
<i>Rpl13</i>	5'-GAGGCCAAACCGTCACCT-3' 5'-GTTAGCTGCGTGGCAATT-3'	60
<i>β2m</i>	5'-GAGCCCAAACCGTCACCT-3' 5'-GAAGATGGTGTGCTATTGC-3'	60

*Nota.* *Ptn*, Pleiotrofina; *Ptpz*, Receptor de proteína tirosina fosfatasa tipo Z1; *Mdk*, Midquina; *Hmgb1*, Caja de alta movilidad grupo 1; *Mfn1*, Mitofusina 1; *Mfn2*, Mitofusina 2; *Tpk1*, Tiamina pirofosfocinasa 1; *Ccl2*, Ligando de quimiocina con motivo C-C 2; *Tlr4*, Receptor tipo Toll 4; *Rpl13*, Proteína ribosomal L13; y *β2m*, Beta-2 microglobulina. Ta, temperatura de alineamiento.

Los cebadores fueron diseñados utilizando la herramienta en línea Primer-BLAST, NIH (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>).