



Evaluación y desarrollo de modelos *in vitro* para la predicción de neurotoxicidad. Aproximación proteómica a la neurotoxicidad inducida por metilmercurio.

Tesis Doctoral presentada por

**Iolanda Vendrell Monell**

Barcelona, 2006



DEPARTAMENTO DE NEUROQUÍMICA  
INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES DE BARCELONA (IIBB)  
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)  
INSTITUT D'INVESTIGACIONES BIOMÈDIQUES AUGUST PI I SUNYÉ (IDIBAPS)

Memoria presentada por  
**IOLANDA VENDRELL MONELL**

Para optar al grado de  
**DOCTORA EN BIOQUÍMICA**

Visto bueno del tutor:

Dr. Jordi Alberch i Vié

Departament de Biologia Cel·lular i Anatomia Patològica

Facultat de Medicina

Universitat de Barcelona

Visto bueno de la directora:

Dra. Cristina Suñol Esquirol

Departament de Neuroquímica

Institut d'Investigacions Biomèdiques de Barcelona

CSIC-IDIBAPS



Este trabajo se ha realizado gracias a un contrato laboral financiado por el proyecto establecido entre el *European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM)* y el CSIC y a una beca post-grado I3P - CSIC para formación y especialización en líneas de investigaciones de interés para el sector industrial (2001 – 2005).

Los proyectos que han financiado este trabajo fueron:

“Database on alternative methods to animal experiments in the field of non-animal neurotoxicity testing of chemicals and/or formulations” con contrato Nr 17132-2000-11F1SC ISP ES, Comisión Europea – Joint Research Centre, *European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM)* y Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

“Desarrollo de modelos alternativos *in vitro* para la evaluación de neurotoxicidad mediada por el receptor GABA<sub>A</sub>” (SAF2003-04930).



**Als pares**  
**Al Josep Maria i al Francesc**





## Agraïments

---

Aquesta és probablement la pàgina més llegida de tota tesi en la que hom aprofita per expressar el seu agraïment. Aquesta tesi ha estat el premi d'una llarga cursa en la que he coincidit, conegut i treballat amb molta gent a qui els vull agrair la seva ajuda, paciència, suport i tot el que m'han ensenyat. No m'agradaria deixar-me a ningú, així que primer que tot *Moltes Gràcies* a tothom que, de forma directa o indirecta, ha fet possible que finalment hagi arribat a la meta i especialment,

A la Cristina Suñol, per acollir-me en el seu grup i donar-me la oportunitat de realitzar aquesta tesi, per tot el que m'ha ensenyat i per confiar amb mi.

A l'Eduard Rodríguez Farré, per les converses sobre ciència i neurotoxicologia, i a la resta dels membres del grup, la Coral Sanfeliu i la Rosa Cristófol per tot el que he après d'elles. A en Joan Serratosa per la seva ajuda, consells i per les estones dedicades a resoldre els meus dubtes sobre el món de la fluorescència i microscopia.

A en Jordi Alberch, per la tutoria exercida durant aquesta tesi i a la Núria per la seva ajuda amb la burocràcia, indirectament, lligada a la tesi.

Als senyors del departament de Neuroquímica, per saber transmetre a la resta el bon ambient que hi ha entre ells, pels seus coneixements científics, per guiar-me en el món de la ciència i escoltar-me quan ha estat necessari. A en Paco pel seu entusiasme científic, a l'Albert per la seva ajuda en les traduccions, a l'Emili pel seu suggeriment de la contra, a en Pep per les converses i tips de riure, a la Teresa per les hores passades amb els Westerns i en resum, a Tots pels bons moments viscuts durant aquests anys.  
**GRÀCIES!!!**

Al personal administratiu de l'institut per gestionar la paperassa i tràmits administratius, a l'Eduard per resoldre els innumerables problemes informàtics i en definitiva a tota la gent del IIBB.

A la gent de proteòmica que sense la seva ajuda i coneixements, part d'aquesta tesi no hauria estat possible. Entre ells, a en Joaquín Abián per deixar-me que m'endinsés en el món de la proteòmica i molt especialment a la Montse a qui he d'agrair tot el que m'ha ensenyat, que no ha estat poc, la seva ajuda incondicional en aquells moments en que un ho veu tot negre, en l'època on Murphy semblava haver-se enganxat a l'esquena, per la

seva paciència, per les correccions “on-line” i en resum per confiar en mi, moltes gràcies. A la Carme Quero pel cop de mà en els meus inicis en el món dels bidimensionals, a l'Ignasi pels molts cops que he pujat a la setena amb dubtes i me'ls ha solucionat, a en Miguel per les hores dedicades als espectres de masses, a la Maite per la seva organització, eficàcia i rialles que varen fer més amenes les esperes entre “bidi i bidi” i a la resta de gent que ha anat passant per masses: l'Ana, la Marina, la Berta i les noves incorporacions. A en Fran i l'Anna per la seva ajuda en la determinació de la SDH i a la resta de la gent de la setena i en especial a la Susanna, la Leticia i la Txell.

Als companys de tesi. Moltes són les imatges i records que em venen a la memòria d'aquest 5 anys (sopar mil varis, calçotades, viatges, Pipper's, Pals, congressos....) i que evidentment no puc escriure aquí perquè no tindria prou espai. En aquests anys, a part de formar-me científicament, he tingut la sort de fer molt bons amics a qui he d'agrair el seu ajut i suport tan en els moments d'entusiasme i eufòria com en els moments de “desesperació”: Zoi, Mercè, Daniel, Llorenç, Analía, Noe, Leticia moltíssimes gràcies!!!!

Als companys de laboratori. A l'Elena Fonfría pels dos anys que vam compartir i per tot el que hem heretat del seu pas pel laboratori. A la niña Iraola i a l'Olga perquè “ay chica”, “ay que ver” la vitalitat, el bon ambient i els tips de riure que ens hem fet!!!! A la Zoila, que dir de tu, doncs que, un Moltes Gràcies és queda curt per agrair-te tota la teva ajuda i suport incondicional, pels molts d'ànims rebuts especialment en aquesta última etapa de la tesi, per les infinites converses i en general per ser com ets i per haver-te convertit en una amiga estupenda!!!!. A en Daniel, “el nostre post-doc” amb qui he tingut el plaer de compartir-hi dos anys, en els que he après un niu de coses tan a nivell professional com personal: “gracias por estar ahí en todo momento, por tu apoyo y sabios consejos sobre la vida aún y la distancia”. I a la resta de companys del laboratori: a la Cesca, a en Rubén per tota la seva ajuda amb el Photoshop i pels seus coneixements en biologia molecular, a la Mercedes, a en Jordi i a les estudiants en pràctiques, Lúdia i Mireia.

“Als Pacos”, moltes han estat les estones compartides amb tots vosaltres. Analía i Leticia gràcies per la vostra amabilitat, per escoltar-me, pels consells, per les tertúlies al HPLC, per les vostres opinions, pel saber fer i per tot el suport moral. A en Lorens (el xiquet valencià), la Noe (la salamantina) i la Ceci (la uruguaya) per la vostra complicitat, el vostre nervi, la calma, per les llargues xerrades al vostre laboratori, pels cafès, per les sortides nocturnes i com no per la vostra amistat. Lluri, com trobaré a faltar l'accent valencià un cop te'n vagis a NY, ara no pateixis que et vindrem a fer una visiteta!!!!. Mer,

la teva energia i vitalitat s'encomana. Moltes han estat les hores que hem compartit, Diagonal amunt - Diagonal avall, cremant adrenalina, xerrant..., gràcies per l'amistat que ha nascut durant aquests anys i per la infinitat de coses que ens uneixen. Finalment, a la Luz, a la Judith pel seu tarannà i pel cafè que encara tenim pendent, a la Lu, a en Xavi i a les noves incorporacions del grup. Als NQ2 i en especial a l'Eli, i a la gent del departament de farmacologia.

També m'agradaria mencionar de forma especial als amics de la colla de Mont-roig, per preocupar-se per mi, per haver aguantat tots els rotllos sobre la tesi (tranquils, que ja s'han acabat, oe, oe, oe!!!!!!), per les trucades, els e-mails, per les sortides amb bici i les caminades que tan bé han anat. Gràcies pel vostre suport i per tenir-vos com a amics. També m'agradaria donar les gràcies a l'Anna pel disseny de la portada.

A les companyes de pis, la Sílvia i la Montse, per viure el dia a dia de la tesi. A la Montse per interessar-se pel tema de la tesi i fer l'esforç per entendre-ho. Sílvia, gràcies per ser tot orelles, per la teva sinceritat, pel teu recolzament, per la paciència perquè tenir-te com amiga és una sort. A la Sara, pels forats fets en la atapeïda agenda per fer un cafè i posar-nos al dia, per les trucades en els moments claus, moltes thankius!!!!!! , i a les companyes de carrera, Susanna i Mariona.

Finalment, voldria agrair de manera especial el suport de la família. Als pares per tot el que m'heu ensenyat, pels valors que m'heu inculcat que m'han permès arribar fins aquí, per fer-me costat en tot moment, per aguantar els nervis i mals humors, GRÀCIES. A en Josep Maria i en Francesc, que tot i que hem seguit camins ben diferents he tingut i tinc en tot moment el vostre recolzament incondicional. Josep Maria, gràcies per ser-hi sempre que et necessito i per fer-me veure les coses des d'altres perspectives. A les meves "kunyis", Mariola i Eva per tots els moments viscuts, pels bons i pels no tan bons, i pels que vindran.



“El meu país és tan petit  
que quan el sol se'n va a dormir  
mai no està prou segur d'haver-lo vist  
Diuen les velles sàvies  
que és per això que torna.  
Potser sí que exageren,  
tan se val!  
És així com m'agrada a mi...”



(Fragment de la cançó “El meu país” d'en Lluís Llach)



---

**ÍNDICE**





## ÍNDICE

<b>1.- INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1.- Evaluación de la neurotoxicidad inducida por compuestos químicos .....	1
1.2.- Métodos alternativos al uso de animales de experimentación .....	4
1.2.1.- Métodos alternativos en el campo de la neurotoxicología.....	6
1.3.- Aplicación de las técnicas de proteómica como herramienta para la detección de nuevos marcadores de toxicidad .....	8
1.3.1.- Separación de proteínas por electroforesis.....	10
1.3.2.- Identificación de proteínas por espectrometría de masas.....	12
1.3.2.1.- Mapeo peptídico por MALDI – TOF.....	13
1.3.2.2.- Espectrometría de masas en tándem (MS/MS) .....	14
1.4.- Neurotoxicidad del metilmercurio .....	15
1.4.1.- Origen del mercurio: fuentes naturales y antropogénicas.....	15
1.4.2.- Rutas de exposición a mercurio .....	19
1.4.3.- Biotransformación y acumulación de mercurio en el organismo.....	20
1.4.4.- Efectos tóxicos del MeHg en humanos .....	21
1.4.4.1.- Efectos del MeHg en adultos.....	22
1.4.4.2.- Efectos del MeHg en niños.....	24
1.4.5.- Evaluación del riesgo .....	28
1.4.5.1.- Regulación de los niveles tolerables de mercurio .....	28
1.4.5.2.- Datos de exposición humana .....	29
1.4.5.3.- Población de riesgo .....	30
1.4.5.4.- Regulación de los niveles de MeHg en peces. Riesgo – beneficio del consumo de pescado .....	31
1.5.- Alteraciones celulares y subcelulares inducidas por MeHg en el sistema nervioso relevantes para la evaluación del riesgo .....	34
1.5.1.- Inhibición de la síntesis de proteínas y alteración de la fosforilación de proteínas.....	34
1.5.2.- Alteraciones en la homeostasis del calcio.....	35
1.5.3.- Alteraciones en el citoesqueleto.....	35
1.5.4.- Alteraciones en la transmisión nerviosa.....	36
1.5.5.- Alteraciones en la actividad mitocondrial y en la homeostasis de oxidorreducción .....	37
1.5.6.- Muerte neuronal inducida por metilmercurio .....	41

1.5.6.1.- Evidencias de la muerte apoptótica inducida por metilmercurio dependiente de la activación de la caspasa 3.....	44
1.5.6.2.- Evidencias de la existencia de otras vías de muerte apoptótica inducida por metilmercurio .....	44
1.6.- Cerebelo. Modelo de toxicidad del metilmercurio .....	46
<b>2.- OBJETIVOS.....</b>	<b>49</b>
<b>3.- MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>51</b>
3.1.- Elaboración de la base de datos de métodos no-animales en el campo de la neurotoxicología .....	51
3.1.1.- Revisión bibliográfica.....	51
3.1.2.- Clasificación de los resúmenes en función de los marcadores neurales ...	54
3.1.3.- Desarrollo de los métodos .....	56
3.2.- Cultivo primario de células granulares de cerebelo de ratón .....	56
3.2.1- Material .....	56
3.2.2.- Cultivo primario de células granulares de cerebelo .....	56
3.2.2.1.- Pretratamiento de las placas con poli-lisina .....	57
3.3.- Tratamiento de los cultivos neuronales.....	57
3.3.1.- Material .....	57
3.3.2.- Diseño experimental .....	58
3.3.3.- Exposición continua a MeHg .....	58
3.3.4.- Exposición continua a antioxidantes.....	58
3.3.5.- Exposición continua a pepstatina A.....	59
3.3.6.- Exposición continua a MK-801 .....	59
3.4.- Métodos de evaluación de la muerte neuronal .....	60
3.4.1.- Material .....	60
3.4.2.- Determinación de la viabilidad celular .....	60
3.4.2.1.- Ensayo de MTT.....	60
3.4.2.3.- Incorporación de yoduro de propidio.....	61
3.4.3.- Determinación de apoptosis.....	61
3.4.3.1.- Tinción con Hoechst 33252.....	61
3.4.3.2.- Determinación de la actividad caspasa 3.....	62
3.4.3.3.- Tinción de la catepsina D con el conjugado BODIPY-pepstatina A.....	63

3.5.- Peroxidación lipídica.....	63
3.5.1.- Material.....	63
3.5.2.- Cuantificación de los niveles de 8-isoprostano .....	64
3.6.- Cuantificación de proteínas .....	64
3.6.1.- Material.....	64
3.6.2.- Ensayo de cuantificación.....	64
3.7.- Análisis de los efectos del MeHg en neuronas granulares de cerebelo mediante técnicas de proteómica .....	65
3.7.1.- Material.....	65
3.7.1.1.- Soluciones .....	65
3.7.2.- Obtención de los extractos de proteína total.....	67
3.7.2.1.- Precipitación de las proteínas .....	68
3.7.3.- Obtención de fracciones enriquecidas con mitocondrias .....	68
3.7.3.1.- Validación de la pureza de las fracciones enriquecidas con mitocondrias .....	69
3.7.4.- Cuantificación de las proteínas .....	70
3.7.5.- Separación de las proteínas por electroforesis bidimensional (2DE).....	71
3.7.5.1.- Isoelectroenfoque (IEF) .....	71
3.7.5.2.- Segunda dimensión o electroforesis en gel en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE).....	73
3.7.6.- Tinción con nitrato de plata .....	75
3.7.7.- Análisis de imagen .....	76
3.7.8.- Determinación de las proteínas separadas en geles de poliacrilamida mediante técnicas de espectrometría de masas .....	76
3.7.8.1.- Digestión en gel.....	76
3.7.8.2.- Análisis mediante MALDI-TOF .....	77
3.7.8.3.- Análisis mediante MALDI-TOF-TOF.....	78
3.7.9.- Herramientas Bioinformáticas .....	78
3.8.- Western blot de cofilina y actina.....	79
3.8.1.- Material.....	79
3.8.1.1.- Soluciones .....	80
3.8.2.- Western blot .....	80
3.8.2.1.- Obtención de la muestra .....	80
3.8.2.2.- Electroforesis (SDS-PAGE) y transferencia .....	81
3.8.2.3.- Incubación con el anticuerpo contra la cofilina.....	81

3.8.2.4.- Incubación con el anticuerpo contra la actina .....	81
3.9.- Análisis de los datos .....	82
<b>4.- RESULTADOS .....</b>	<b>83</b>
4.1.- Métodos alternativos al uso de animales de experimentación para la evaluación de neurotoxicidad.....	83
4.1.1.- Ensayo de esterasas neuronales para la evaluación de neurotoxicidad de compuestos organofosforados.....	85
4.1.1.1.- Marco toxicológico de los compuesto organofosforados .....	85
4.1.1.2.- Bases del método .....	86
4.1.1.3.- Resultados .....	87
4.1.1.4.- Modelo de predicción .....	90
4.1.1.5.- Ventajas e inconvenientes del Diseño <i>in vitro</i> . Status .....	92
4.1.2.- Determinación del crecimiento de neuritas para la evaluación de compuestos que producen axonopatías .....	93
4.1.2.1.- Axonopatías. Marco toxicológico .....	93
4.1.2.2.- Bases del método .....	94
4.1.2.3.- Resultados .....	95
4.1.2.4.- Modelo de predicción .....	96
4.1.2.5.- Ventajas e inconvenientes del Diseño <i>in vitro</i> . Status .....	98
4.1.3.- Evaluación de la neurotoxicidad mediada por el receptor GABA <sub>A</sub> .....	98
4.1.3.1.- La transmisión nerviosa inhibitoria: receptor GABA <sub>A</sub> .....	98
4.1.3.2.- Bases del método .....	99
4.1.3.3.- Resultados .....	101
4.1.3.4.- Modelo de predicción .....	102
4.1.3.5.- Ventajas e inconvenientes del Diseño <i>in vitro</i> . Status .....	103
4.1.4.- Evaluación de neurotoxicidad mediada por canales de Na <sup>+</sup> dependientes de voltaje .....	104
4.1.4.1.- Características de los canales de sodio dependientes de voltaje. Posibles moduladores .....	104
4.1.4.2.- Bases del método .....	106
4.1.4.3.- Resultados .....	108
4.1.4.4.- Modelo de predicción .....	109
4.1.4.5.- Ventajas e inconvenientes. Status .....	109

4.1.5.- Evaluación de neurotoxicidad mediada por receptores ionotrópicos de glutamato.....	110
4.1.5.1.- Transmisión nerviosa excitadora. Sistema glutamatérgico .....	110
4.1.5.2.- Bases del método.....	113
4.1.5.3.- Resultados.....	115
4.1.5.4.- Modelo de predicción.....	116
4.1.5.5.- Ventajas e inconvenientes. Status.....	116
4.1.6.- Cultivos reagregados de células cerebrales para la evaluación de compuestos neurotóxicos.....	117
4.1.6.1.- Antecedentes del sistema experimental: cultivos reagregados de cerebro.....	117
4.1.6.2.- Bases del método .....	118
4.1.6.3.- Resultados.....	119
4.1.6.4.- Modelo de predicción.....	121
4.1.6.5.- Ventajas e inconvenientes del Diseño <i>in vitro</i> . Status .....	121
4.2.- Aplicación de técnicas proteómicas para el estudio de la neurotoxicidad inducida por metilmercurio.....	123
4.2.1.- Caracterización proteómica de los cultivos primarios de células granulares de cerebelo de ratón. Creación de una base de datos de referencia.....	125
4.2.1.1.- Clasificación de las proteínas .....	131
4.2.1.1.1.- Clasificación según su función molecular .....	131
4.2.1.1.2.- Clasificación según el proceso biológico.....	135
4.2.2.- Estudio de expresión diferencial de cultivos primarios de células granulares de cerebelo expuestos a concentraciones subcitotóxicas de metilmercurio .....	137
4.2.2.1.- Cuantificación del error asociado a los geles 2DE .....	138
4.2.2.2.- Proteínas con expresión diferencial.....	140
4.2.2.2.1.- Subexpresión de la succinilCoA:3-cetoácido-CoA transferasa I (SCOT; mancha 1553) .....	140
4.2.2.2.2.- Sobreexpresión de la cofilina (mancha 1182) .....	141
4.2.2.3.- Expresión diferencial de las proteínas de la base de datos de referencia de células granulares de cerebelo. Identificación de marcadores neuronales .....	145

4.3.2.4.- Expresión diferencial de la cofilina en fracciones enriquecidas con mitocondrias .....	148
4.3.- Mecanismos de muerte y neuroprotección en cultivos de células granulares de cerebelo expuestos a metilmercurio.....	151
4.3.1.- Mecanismos de muerte inducidos por MeHg.....	155
4.3.1.1.- Actividad caspasa 3.....	156
4.3.1.2.- Efectos del MeHg sobre la catepsina D.....	157
4.3.2.- Efectos de la exposición continua a MeHg sobre la peroxidación lipídica .....	159
4.3.3.- Neuroprotección frente la toxicidad inducida por metilmercurio en células granulares de cerebelo .....	160
4.3.3.1.- Efectos de los antioxidantes ácido ascórbico, trolox y probucol sobre la peroxidación lipídica.....	162
<b>5.- DISCUSIÓN .....</b>	<b>165</b>
<b>6.- CONCLUSIONES .....</b>	<b>189</b>
<b>7.- ANEXO I .....</b>	<b>191</b>
<b>8.- BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>195</b>

---

**ABREVIATURAS**





## ABREVIATURAS

---

2DE: Electroforesis en gel bidimensional

AA: Ácido ascórbico

AChE: Acetilcolinesterasa

AIF: Factor inductor de apoptosis

AOAC: Asociación Oficial de Química Analítica

ATSDR: Agencia para el registro de enfermedades provocadas por sustancias tóxicas (*Agency for Toxic Substances & Disease Registry*)

BHE: Barrera hematoencefálica

CHAPS: Sulfonato de 3-[(3-cholamidopropil) dimetilamonio]-1-propano.

ChAT: Acetil colina transferasa

CV: Coeficiente de variación

DAVID: *Database for Annotation, Visualization and Integrates Discovery*

DF: Deferoxamina

DFP: Diisopropil fosfofluoridato

div: Días *in vitro*

DMSO: Dimetilsulfóxido

DRf: Dosis de referencia

DTT: Ditioteitrol

ECVAM: *European Centre for the Validation of Alternative Methods*

EPN: O-etil-o-4-nitrofenil fosfonotioato

FDA: *Food and Drug Administration*

GABA: Ácido gamma amino butírico

GAD: Descarboxilasa del ácido glutámico

GOA: *Gene Ontology Annotation*

GS: Glutamato sintetasa

HBSS: solución salina tamponada con

HEPES

IAA: Iodoacetamida

IEF: isoelectroenfoco

IP: Ioduro de propidio

IR: Infrarojo

JRC: *Joint Research Center*

LD<sub>50</sub>: Dosis letal 50

LDH: Lactato deshidrogenasa

MALDI: Ionización/desorpción por láser asistida por matriz (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization*)

MDLC: Cromatografía líquida multidimensional (*MultiDimensional Liquid Chromatography*)

MeHg: Metilmercurio

MEIC: Programa de evaluación de citotoxicidad *in vitro* (*Multicentre Evaluation of in vitro cytotoxicity*)

MS/MS: Espectrometría de masas en tándem

MTP: Poro de permeabilidad transitoria (*Mitochondrial Transition Pore*)

MTT: 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio

NAC: N-acetil-cisteína

NF-H: Neurofilamento H

NHAMES: *National Health and Nutrition Examination Survey*

NMDA: N-metil-D-aspartato

NRC: *National Research Council*

NSP: Toxina neurotóxica de molusco (*Neurotoxic Shellfish Poisoning*)

NTE: Esterasa diana de neuropatía

OECD: Organización Económica de Cooperación y Desarrollo (*Organization*)

*for Economic co-operation and development)*

OMS: Organización Mundial de la Salud

OP: Compuesto organofosforado

OPIDN: Polineuropatía retardada inducida por organofosforados

*(Organophosphorus Induced Delayed Neuropathy)*

PB: Probucof

PbTx: Brevetoxina

PCB: Policlorobifenilos

PG: Propil gallato

pl: Punto isoeléctrico

PM: peso molecular

PMF: Mapeo de masas peptídicas *(PeptideMass Fingerprinting)*

PSP: Toxina paralizante

PUFA: Ácidos grasos poliinsaturados

RE: retículo endoplasmático

ROS: Especies reactivas de oxígeno

SCOT: Succinil CoA: 3-cetoácido –CoA-transferasa I

SDH: succinato deshidrogenasa

SDS: Dodecilo sulfato sodio

SDS-PAGE: Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilo sulfato sódico

*(Sodium-Dodecyl-Sulphate PolyAcrylamide Gel Electrophoresis)*

SEM: Error estándar de la media

SIS: Scientific Information Service

SN: Sistema nervioso

SNC: Sistema nervioso central

SNP: Sistema nervios periférico

SOD: Superóxido dismutasa

STX: Saxitoxina

TCA: Ácido tricloro acético

ToCP: Trio-o-cresil-fosfato

TOF: Tiempo de vuelo *(Time of Flight)*

TPM: Toxina paralizante de marisco

TR: Trolox

TTX: Tetrodoxina

US EPA: *United States Environmental Protection Agency*

UV: Ultravioleta

VDAC: Canal aniónico dependiente de voltaje

Vit E: Vitamina E

WHO: Organización Mundial de la Salud *(World Health Organization)*