

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**E.A.P. DE ODONTOLOGÍA**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO COAGULANTE DE  
LA TELA DE LA ARAÑA *Scytodes longipes*  
APLICADA EN MUESTRAS DE SANGRE HUMANA”**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

**AUTOR**

Shamila Angelica del Rosario Pastor Yataco

**ASESOR**

Luis Vidal Maita Veliz

**Lima – Perú**

**2015**

## **DEDICATORIA**

A Dios por ser luz y guiar mi vida.

A mi mamá Rosario por inspirar esta  
investigación y ser mi eterna amiga.

A mi maestro César Bonilla, por depositar su  
confianza en mí y apoyarme.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi asesor Dr. C.D. Luis Vidal Maita Veliz, por su apoyo continuo y el tiempo dedicado a la realización de la tesis.

Al Mg. Biol. Cesar Bonilla, por su apoyo incondicional, sus valiosos aportes y la ayuda brindada en la ejecución de la presente investigación.

A la Ph. D Diana Silva Ávila, por su apoyo desinteresado y su aporte en la identificación de las arañas estudiadas.

A mi madre Rosario Yataco, mi tía Carmen Yataco y mi abuela Lucy Espichán, por haberme apoyado en la caza de arañas al iniciar el proyecto.

Al Mg. Pedro Dawshin, por revisar la redacción de la investigación y por donar la sangre necesaria en este proyecto.

A aquellos profesores amigos que admiro y que con su ejemplo me inspiran cada día en ser una mejor persona y profesional.

A mi familia materna Yataco Espichan, por haber inspirado esta investigación con su tradición en el uso hemostático de la tela de araña.

A mi alma mater "Universidad Nacional Mayor de San Marcos", a quien llevo en mi corazón en todo momento y lugar.

## RESUMEN

En el presente estudio se buscó evaluar el efecto coagulante de la tela de la araña *Scytodes longipes* aplicados en muestra de sangre humana. MÉTODO: Estudio experimental de controles paralelos. La muestra de sangre fue obtenida de un paciente joven sano. La tela de araña fue producida por un grupo de arañas cazadas y criadas en semicautiverio durante 1 año. La tela se repartió en los grupos: Peso 1 (3-4 mg); Peso 2 (5-6 mg) y Peso 3 (7-8 mg) que fueron desinfectados y esterilizados. Se evaluó el efecto coagulante mediante la medición del Tiempo de Coagulación y el Tiempo de Protrombina. RESULTADOS: El análisis estadístico usado fue la prueba de Bonferroni para determinar entre qué grupos de estudio había diferencias significativas. La tela de la araña *Scytodes longipes* posee efecto coagulante mostrando una reducción significativa de Tiempo de Coagulación y Tiempo de Protrombina ( $P < 0.05$ ). En cuanto a la comparación del efecto coagulante entre los grupos de peso, se encontró una diferencia que no fue estadísticamente significativa. Sin embargo en el Tiempo de Protrombina, se halló que a mayor peso, el efecto coagulante mejora significativamente ( $P < 0.05$ ).

## ABSTRACT

The present study sought to evaluate the coagulant effect of spider silk *Scytodes longipes* applied in human blood sample. METHODS: Experimental study of parallel controls. The blood sample was obtained from a healthy young patient. The silk was produced by a group of spiders hunted and bred in semi-captivity for 1 year. The fabric is partitioned into groups: Weight 1 (3-4 mg); Weight 2 (5-6 mg) and Weight 3 (7-8 mg), which were disinfected and sterilized. Coagulant effect was evaluated by measuring the Coagulation Time and Prothrombin Time. RESULTS: The statistical analysis used was the Bonferroni test to determine between study groups had significant difference. The spider silk *Scytodes longipes* has coagulating effect showing a significant reduction in Coagulation Time and Prothrombin Time ( $P < 0.05$ ). As for the comparison between groups coagulating effect weight, there is a difference that was not found statistically significant. However in the Prothrombin Time, it was found that the higher the weight, the coagulant effect is significantly improved ( $P < 0.05$ ).

## INDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	8
II.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	9
	2.1. ÁREA PROBLEMA .....	9
	2.2. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA .....	9
	2.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	10
	2.4. OBJETIVOS.....	10
	2.4.1. Objetivo general.....	10
	2.4.2. Objetivos Específicos.....	10
	2.5. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	10
	2.6. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN .....	12
III.	MARCO TEÓRICO.....	13
	3.1 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA.....	13
	3.2 BASES TEÓRICAS .....	13
	3.2.1 HEMOSTASIA.....	13
	3.2.1.1 HEMOSTASIA PRIMARIA.....	15
	3.2.1.2 HEMOSTASIA SECUNDARIA .....	16
	3.2.2 <i>Scytodes longipes</i> .....	20
	3.2.2.1 <i>GENERALIDADES Y BIOLOGÍA</i> .....	20
	3.2.3 TELA DE ARAÑA.....	22
	3.2.4 USOS MÉDICOS DE LA SEDA.....	27
	3.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	31
	3.4. HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	31
	1.1.1. HIPÓTESIS.....	31
	1.1.2. VARIABLES.....	31
	3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES .....	32

<b>IV.</b>	<b>DISEÑO METODOLÓGICO.....</b>	<b>33</b>
	<b>4.1 TIPO DE ESTUDIO.....</b>	<b>33</b>
	<b>4.2 UNIVERSO Y MUESTRA.....</b>	<b>33</b>
	<b>4.3 MÉTODO, PROCEDIMIENTO, TÉCNICAS.....</b>	<b>34</b>
	<b>4.4 PROCESAMIENTO DE DATOS.....</b>	<b>37</b>
	<b>4.5 ANÁLISIS DE DATOS .....</b>	<b>37</b>
<b>V.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>38</b>
<b>VI.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>43</b>
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>46</b>
<b>VIII.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>IX.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>48</b>
<b>X.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>52</b>

## I. INTRODUCCIÓN

Durante décadas, la tela de araña ha suscitado el interés de los investigadores por sus peculiares propiedades mecánicas y su carácter biocompatible.

Tradicionalmente se ha reportado el uso de la tela de araña como hemostático. Países como España reportan bibliográficamente los remedios caseros hechos a base de esta tela. Inclusive algunos autores <sup>14,18,35</sup>, mencionan su uso por los soldados en las batallas.

Actualmente se ha desarrollado un amplio estudio sobre la estructura molecular de la tela de araña.<sup>49</sup> La proteína base se llama espidroína. Además se están estudiando los genes responsables de la producción de tela de araña y la aplicación de ésta en la ingeniería de tejidos. Estudios en cultivos celulares corroboran la biocompatibilidad y biodegradabilidad de este biomaterial.<sup>7,10,12,13,16,17</sup>

Sin embargo, aún no se reporta un estudio que corrobore experimentalmente la actividad coagulante de la tela de araña.

Por otra parte, siendo los trastornos hemorrágicos un problema de interés odontológico, el uso de tela de araña como apósito usado tópicamente sería de gran beneficio pues no alteraría la medicación anticoagulante que reciben generalmente este grupo de pacientes.

En tal sentido, se diseñó el siguiente estudio *in vitro* aplicado en muestras de sangre humana, con el objetivo de evaluar el efecto coagulante de la tela de la araña *Scytodes longipes* mediante la medición del Tiempo de Coagulación y el Tiempo de Protrombina.



## **II. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

### **2.1. AREA PROBLEMA**

Los trastornos hemorrágicos posoperatorios de pacientes con deficiencias en los factores de coagulación, constituyen uno de los problemas de mayor interés a ser considerados por el odontólogo en su práctica diaria. La propensión al sangramiento profuso hace de ellos un grupo especial, que amerita atención cuidadosa para sortear dichas complicaciones. Muchos de los casos lo constituyen pacientes que reciben terapia antitrombótica, quienes son un grupo de riesgo importante en el manejo odontológico intraoperatorio y postoperatorio.<sup>31</sup>

La trombosis es la formación de una masa anormal en el sistema vascular a partir de los componentes de la sangre. Esto involucra la interacción de factores vasculares, celulares y humorales y la disminución del flujo sanguíneo. La excesiva activación de la coagulación o la inhibición de los mecanismos anticoagulantes dan como resultado un estado de hipercoagulabilidad generalmente relacionados con trastornos hereditarios que involucran ausencia o exceso de proteínas. La base farmacológica para el tratamiento antitrombótico incluye la utilización de fármacos trombolíticos, antiplaquetarios y anticoagulantes que generan un riesgo de hemorragia en el tratamiento de afecciones bucales como enfermedad periodontal y caries dental.<sup>31, 34,36</sup>

### **2.2. DELIMITACION DEL PROBLEMA**

Se han utilizado a través del tiempo, diversas técnicas para manejar el sangrado del paciente tales como el uso de apósitos de gasa, ácido tranexámico, concentrados plasmáticos previamente sometidos a inactivación vírica, entre otros.<sup>36</sup> Kaplan<sup>7</sup> y col describen a la tela de araña como un biomaterial en cuya estructura molecular está presente una proteína llamada espidroína.

En el presente estudio de investigación, se identificará si la tela de la araña *Scytodes longipes* posee efecto coagulante, aplicándose en muestras de sangre humana obtenidas a partir de un paciente joven sano.

### **2.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Cuál es el efecto coagulante de la tela de la araña *Scytodes longipes* aplicado en muestras de sangre humana de un paciente joven?

### **2.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **2.4.1. Objetivo General**

“Evaluar el efecto coagulante de la tela de la araña *Scytodes longipes* aplicado en muestras de sangre a partir de un paciente joven ”

#### **2.4.2. Objetivos específicos**

- Comparar el tiempo de coagulación con y sin el uso de la tela de araña *Scytodes Longipes*.
- Comparar el Tiempo de coagulación de la tela de la araña *Scytodes longipes* en 3 proporciones distintas aplicado en muestras de sangre humana.
- Comparar el Tiempo de Protrombina con y sin el uso de la tela de araña *Scytodes Longipes*.
- Comparar el Tiempo de Protrombina de la tela de la araña *Scytodes longipes* en 3 proporciones distintas aplicado en muestras de sangre humana.

### **2.5. JUSTIFICACION E IMPORTANCIA**

El presente estudio tiene como objetivo proporcionar una alternativa hemostática local en el manejo odontológico de pacientes con riesgo a hemorragia o que reciben terapia antitrombótica.

Debido a que las personas con enfermedad cardiovascular que frecuentemente reciben este tipo de terapia constituyen una importante población en Perú, y sumado a la alta prevalencia de caries dental y enfermedad periodontal, es necesario que los odontólogos puedan manejar adecuadamente

estos pacientes, ya que, el tratamiento quirúrgico y no quirúrgico de las afecciones bucales podrían desencadenar complicaciones hemorrágicas y la suspensión del medicamento puede producir la aparición de un fenómeno trombótico. Por otro lado, la terapéutica farmacológica empleada comúnmente en odontología puede interactuar con el tratamiento médico y provocar complicaciones para el manejo de estos pacientes. Por lo que, es importante utilizar los agentes hemostáticos locales para evitar y controlar el sangrado intraoperatorio y postoperatorio.

Para limitar las complicaciones postquirúrgicas en pacientes tratados con anticoagulantes, diversos protocolos han sido propuestos. Algunos autores indican la combinación de terapia antifibrinolítica local (ácido tranexámico) y agentes hemostáticos locales como tratamiento efectivo en la prevención de la hemorragia postoperatoria. Otros autores<sup>31,34</sup> sugieren que muchos pacientes pueden ser sometidos a tratamiento quirúrgicos de forma segura sin alterar su régimen terapéutico de anticoagulación y sin intervención médica adicional con el uso de ácido tranexámico local como agente antifibrinolítico postoperatoriamente durante 2 días. Ciertos investigadores usan la fibrina humana como agente hemostático. Rakocs y col,<sup>50</sup> usaron gel de fibrina para prevenir la hemorragia en pacientes con desordenes hemorrágicos, ya que el gel de fibrina mimetiza la última etapa de la coagulación, pero el alto costo hace que su uso sea restrictivo. Otros autores rechazan el uso de gel de fibrina debido al riesgo de infecciones virales.<sup>51</sup> Las plaquetas son un depósito natural de factores de crecimiento como los factores de crecimiento plaquetario, factor de crecimiento de transformación beta, factor de crecimiento similar a la insulina, y factor de crecimiento epitelial. Por esta razón muchos médicos usan un concentrado plaquetario autólogo para permitir el proceso de curación en los pacientes con terapia anticoagulante que van a ser sometidos a cirugía cardiovascular ya que es alto el riesgo de hemorragia.<sup>52</sup>

La tela de araña es un biomaterial que según estudios presenta la proteína espidroína en su composición la cual, junto al cambio de pH, representan un misterio sobre su propiedad coagulante<sup>7,8,9,10,11,40</sup>. Al corroborar este efecto, su uso representaría una alternativa, que el odontólogo sólo

necesitaría esterilizar para ser usado como un hemostático. Teniendo en cuenta que su uso por ser de carácter local, no afectaría a los medicamentos que utiliza el paciente como parte de su tratamiento antitrombótico.

## **2.6. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN**

- Estudios poco cuantiosos sobre el efecto coagulante de la tela de araña.

### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

- Elices y col (2009)<sup>17</sup>; realizaron un estudio de revisión describiendo a los hilos de seda de las arañas, como biomateriales destinados a tener un gran protagonismo en medicina por sus propiedades mecánicas, poder hemostático, ansiolítico, biocompatibilidad, estabilidad térmica y facilidad de esterilización, degradabilidad, y capacidad de modificarlos genéticamente. La exploración de las posibilidades acaba de empezar y la medicina regenerativa ha puesto muchas esperanzas en estas fibras. También cita a autores que mencionan el uso de la tela de araña en Farmacia para la creación de cápsulas.
- Elices y col (2011)<sup>24</sup>; realizaron una investigación de revisión en donde menciona que en 1346, los soldados mallorquines al servicio del Rey francés Felipe VI, usaban las telas de araña "para taponar heridas". Así mismo menciona a Plinio el Viejo (Plinio Segundo, Cayo)<sup>37</sup> como el primero en describir las propiedades hemostáticas de la telaraña en su Tratado "Naturalis Historia". Además Elices describe a los hilos de seda como material idóneo para la ingeniería de tejidos pues son biocompatibles y biodegradables.

#### 3.2. BASES TEÓRICAS

##### 3.2.1. HEMOSTASIA

La hemostasia es un mecanismo de defensa que protege al organismo de las pérdidas sanguíneas que se producen tras una lesión vascular<sup>20</sup>. La hemostasia representa el cese fisiológico de la hemorragia, por medio de un mecanismo complejo que involucra un cambio de estado físico, de líquido a sólido con la formación de fibrina, y el enlace del coágulo en una malla insoluble. Las propiedades de la coagulación sanguínea requieren que los componentes de las reacciones sean de una manera localizada, amplificada

y modulada. En la actualidad las superficies celulares (plaquetas, células endoteliales, fibroblastos, monocitos) juegan un papel esencial en la coagulación sanguínea. Las células juegan dos papeles básicos en la hemostasia. Uno es proporcionar los factores esenciales para la hemostasia normal que no están presentes en el plasma normal y, el segundo es proporcionar una superficie para el ensamblaje de los complejos enzima/cofactor y su interacción con los sustratos para formar el coágulo de fibrina. El modelo actual de la coagulación inicia sobre las superficies celulares, fundamentalmente de las células endoteliales al exponer factor tisular y formar el complejo de activación con factor VIIa, lo que genera en una fase inicial microdosis de trombina que produce la amplificación de la coagulación al activar factores de la coagulación y plaquetas que sirven de superficie para el proceso de propagación de la coagulación al generarse los complejos de activación protrombinasa con un incremento en la generación de trombina en cantidad suficiente para generar el coágulo de fibrina.<sup>19</sup>

El sistema de la hemostasia se subdivide en dos sistemas fisiológicos importantes: la hemostasia primaria, donde se lleva a cabo fundamentalmente la interacción el endotelio y la plaqueta; y por otro lado, la hemostasia secundaria o coagulación donde participan los factores de coagulación que interaccionan sobre una superficie catalítica para formar una red de fibrina e integrar el coágulo sanguíneo.

La vasoconstricción inicial, la función de células endoteliales y la formación del coágulo plaquetario juegan un papel en la hemostasia temprana. Sin embargo, la formación del coágulo de fibrina a través de una serie de reacciones bioquímicas es esencial para una hemostasia adecuada. La coagulación sanguínea es un proceso que involucra múltiples enzimas, cofactores y superficies celulares para la formación del coágulo insoluble.<sup>19, 21</sup>

### 3.2.1.1. HEMOSTASIA PRIMARIA

En condiciones fisiológicas, la hemostasia primaria funciona en forma equilibrada, entre elementos celulares y proteicos, manteniendo la sangre fluida dentro de los vasos. Esto se lleva a cabo gracias a las importantes funciones que desempeñan la célula endotelial, la cual se encuentra ubicada en un sitio estratégico, con funciones específicas de tromborregulación, y las plaquetas, pequeñas células discoides, anucleadas, procedentes de la fragmentación del megacariocito, que están capacitadas para reaccionar ante una lesión del vaso sanguíneo y formar rápidamente un tapón plaquetario, mediante los procesos de adhesión y agregación plaquetaria, deteniendo así la hemorragia.<sup>19</sup>

El proceso de interacción entre la colágena expuesta y la adhesión plaquetaria es aproximadamente de dos a cuatro segundos<sup>21</sup>. En los procesos de la hemostasia primaria la interacción entre plaquetas y células endoteliales es fundamental para el adecuado y equilibrado funcionamiento de la hemostasia. Normalmente las plaquetas no se adhieren a vaso sanguíneo; esto sólo ocurre cuando existe lesión en el vaso sanguíneo y se expone la colágena del subendotelio, permitiendo así la activación de las plaquetas.<sup>20</sup>

En la hemostasia primaria existen una serie de mecanismos que se desencadenan durante una lesión vascular y que permitirán la formación del tapón hemostático plaquetario. Dichos mecanismos se ordenan en las siguientes fases<sup>19</sup>:

- 1) Adhesión plaquetaria al subendotelio expuesto por el daño vascular;
- 2) Agregación plaquetaria primaria al activarse el complejo glucorreceptor IIb/IIIa y permitir la unión entre las plaquetas; después ocurre la
- 3) Liberación de compuestos intraplaquetarios que provocan;
- 4) Agregación secundaria de nuevas plaquetas al tapón hemostático;
- 5) Consolidación y retracción del coágulo y, finalmente,
- 6) Formación del tapón hemostático definitivo con la formación del polímero de la fibrina y la detención de la hemorragia.

### 3.2.1.2. HEMOSTASIA SECUNDARIA COAGULACIÓN

#### A) Características de los factores de coagulación.

La nomenclatura internacional de los factores plasmáticos de la coagulación utilizan números romanos, el número se asignó en el orden en que fueron descubiertos, el factor VI (FVI) no ha sido asignado. Los factores que no se asignan con número romano en la nomenclatura internacional son la precalicreína y su forma activa calicreína, y el cininógeno de alto peso molecular (CAPM). Los fosfolípidos plaquetarios no están incluidos en esta clasificación.<sup>22</sup>

Todas las proteínas y componentes celulares involucrados en la coagulación sanguínea existen bajo condiciones fisiológicas normales en forma inactiva, que es la forma en que circulan en el plasma. La protrombina (FII), el FVII, FIX, y FX son proenzimas o zimógenos convertidos a enzimas por ruptura de una o dos uniones peptídicas. El sufijo “a” después del número romano indica la forma activa del factor, por ejemplo FXa. El FVIII y FV son procofactores y son convertidos a cofactores activos FVIIIa y FVa por ruptura de una unión peptídica.<sup>19,22,23</sup>

#### B) Modelos de la coagulación

##### - Modelo clásico.

La teoría clásica de la coagulación fue el esquema de Morawitz en 1904, quien admitió que los tejidos vasculares liberan una tromboplastina tisular necesaria para iniciar el proceso de coagulación, y propuso los cuatro componentes esenciales para la coagulación en plasma: protrombina, fibrinógeno, calcio y tromboplastina, y asumió la presencia de antitrombinas en circulación que modulan la trombocinasa. Estas ideas que surgieron a principios del siglo XX son las que actualmente prevalecen, la trombocinasa es mejor conocida como el FT. Morawitz es considerado como el padre de la coagulación

<sup>23</sup>.



- **Modelo de la cascada de la coagulación.**

En la década de los 60, dos grupos por separado proponen que la coagulación es un proceso enzimático en cascada. Cada factor de coagulación se convertía de proenzimas a enzimas activas, lo cual le proporciona un carácter autocatalítico del proceso de manera limitada. Los modelos originales en cascada fueron subsecuentemente modificados para incluir la observación de que algunos procoagulantes son realmente cofactores y no poseen actividad enzimática. La coagulación es descrita por dos vías diferentes: la vía intrínseca y la vía extrínseca. La vía intrínseca inicia la coagulación, con el daño vascular y la interacción de superficies cargadas negativamente con tres proteínas plasmáticas: FXII, PK y CAPM. La vía extrínseca que consiste de FVIIa y FT, el último de origen extrínseco a la circulación sanguínea. Ambas vías de la coagulación podrían activar al FX, que junto con el FVa convertirían a la protrombina en trombina. Estos conceptos fueron muy importantes; sin embargo, varios grupos han reconocido que los sistemas intrínseco y extrínseco de la coagulación no pueden funcionar de manera independiente uno del otro, ya que todos los factores de coagulación se interrelacionan entre sí; además, como se mencionó previamente, los factores conocidos como de contacto y encargados de iniciar la coagulación no tienen función en el sistema de coagulación por los estudios clínicos y es probable que su función sea en el sistema fibrinolítico y en la generación de cininas . Es importante mencionar que no debería hablarse de cascada de coagulación, sino más bien de una serie de cambios bioquímicos y enzimáticos para la formación de trombina y subsecuentemente la formación de un coágulo de fibrina.<sup>25,26,27</sup>

En los años posteriores surgieron nuevos conceptos que se integraron a este modelo de la cascada de la coagulación; sin embargo, todos estos nuevos conceptos no lograron explicar el modelo real de la coagulación *in vivo*. Las observaciones hechas por varios grupos en sus modelos de coagulación, han registrado varios conceptos importantes, de los cuales lo más trascendental de éstos es conocer

con mejor exactitud cómo se inicia la coagulación, sin dividir el sistema en vías separadas, sino en una sola que inicia y diferentes factores de coagulación que actúan entre sí para sostener de manera adecuada el sistema de coagulación.<sup>21</sup>

#### - **Modelo celular de la coagulación**

Las superficies celulares constituyen el ambiente natural donde se desarrollan las reacciones de la coagulación sanguínea. Para que se produzca una hemostasia eficaz deben cooperar diferentes tipos celulares. Las plaquetas suministran la superficie más eficiente para la generación de trombina; sin embargo, carecen de FT, y por ello no pueden iniciar la coagulación. Otras células expresan el FT en su superficie y algunas, como los monocitos, son capaces de ensamblar en su superficie al complejo activador del factor X y al complejo protrombinasa, por lo que en el plasma, formándose el complejo FT/FVII, y la autoconversión catalítica del FVII a FVIIa amplifica la respuesta hemostática para generar más complejos FT/FVIIa.<sup>21,28,29</sup>

**INICIACIÓN.** Roberts y col,<sup>25,27</sup> demostraron que el complejo factor VIIa/FT inicia la coagulación activando tanto al factor IX como al factor X en una etapa inicial o de “activación o ignición”. Los factores IXa y Xa resultantes tienen funciones muy diferentes en las próximas reacciones. El factor Xa es necesario para que tenga lugar la activación plaquetaria, mientras que el factor IXa se requiere para que tenga lugar una producción suficiente de trombina. Cuando el complejo FT/FVIIa genera factor X se activa un poderoso inhibidor de la coagulación, el inhibidor de la vía del factor tisular (IVFT) que se encarga de inhibir al FT; por lo tanto, es insuficiente sostener la hemostasia porque la amplificación y propagación de la coagulación es por control catalítico. Sin embargo, esta fase de iniciación de la coagulación permite generar factor Xa, que a su vez genera pequeñas cantidades del factor Va, formando así el complejo protrombinasa

inicial que producirá trombina en microdosis en una fase de iniciación rápida.

**AMPLIFICACIÓN.** Una vez que se genera trombina sobre la superficie celular activa otros procesos enzimáticos tales como: activación de factor V, factor VIII, factor XI y plaquetas. Esto permite integrar una fase de amplificación.<sup>25,26</sup>

**PROPAGACIÓN.** A diferencia del factor Xa, el factor IXa se encuentra mucho más capacitado para viajar a través de la fase fluida y formar complejos en la superficie plaquetaria, pues es inhibido más lentamente por la antitrombina y no es neutralizado por el IVFT. Así, el factor IXa es capaz de mantenerse a la espera por más tiempo que el factor Xa, hasta que las plaquetas sean activadas y expresen lugares de unión específicos para el factor IXa. Además, una vez que las plaquetas son activadas, los factores Va y VIIIa se unen a éstas y son responsables del anclaje y orientación de sus respectivas proteasas, lo que permite la expresión de la actividad coagulante. El complejo IXa/VIIIa en la superficie plaquetaria proporciona un suministro continuo de factor Xa asociado con esta superficie, que a su vez posibilita el ensamblaje del complejo protrombinasa, el cual fomenta una generación explosiva de trombina. De esta forma, la única fuente efectiva de factor Xa para el ensamblaje de la protrombinasa plaquetaria la constituye el complejo IXa/VIIIa plaquetario. El factor Xa unido a la plaqueta en presencia de su cofactor el FVa convierten la protrombina en trombina en cantidades suficientes para generar la formación del coágulo de fibrina<sup>25</sup>.

En la actualidad existen importantes conceptos sobre la iniciación de la coagulación *in vivo*, entre ellos:

- 1) El factor tisular (FT)-factor VIIa (VIIa) (FT/FVIIa) son los iniciadores de la coagulación;
- 2) La activación del factor IX por el complejo FT/FVIIa y
- 3) La importancia de los factores VIII (FVIII) y IX (FIX) para sostener la coagulación, produciendo grandes cantidades de trombina.<sup>25,26</sup>

**FORMACIÓN DEL COÁGULO DE FIBRINA.** La principal función hemostática de la formación del coágulo de fibrina es proveer un apoyo estructural para la formación del trombo in vivo.

El proceso inicia con la conversión de fibrinógeno a fibrina por la acción de la trombina, formándose monómeros de fibrina; el ensamblaje es en un inicio espontáneo, no enzimático, por uniones no covalentes de los monómeros de fibrina y la polimerización de ésta, y finalmente uniones intermoleculares covalentes por la presencia del FXIIIa. FPB de una manera más lenta, exponiendo sitios de polimerización. Las moléculas de fibrina, una vez formadas, tienen un dominio E central y dos dominios externos D; el ensamblaje entre ellos es no covalente. En presencia del FXIIIa, las uniones entre fibrina se convierten de no covalentes a covalentes por la formación de uniones isopeptídicas entre cadenas  $\gamma$ - $\alpha\gamma$   $\gamma$ - $\gamma$  .

Los coágulos de fibrina con uniones no covalentes, cuando son sujetos a estrés o fuerzas, presentan una deformación viscosa algunas veces irre recuperable; y con la incorporación de uniones covalentes entre las unidades de fibrina cambian radicalmente sus propiedades de viscoelasticidad, siendo más rígidos, con elasticidad perfecta, y gran resistencia a la deformación irre recuperable.<sup>29,30</sup>

### **3.2.2. *Scytodes longipes***

#### **3.2.2.1. GENERALIDADES Y BIOLOGÍA**

Las arañas son muy benéficas para el ecosistema, debido a que controlan la proliferación de insectos, sin embargo existen algunas especies que es preferible eliminarlas porque son peligrosas para el ser humano. Su veneno es uno de los más peligrosos y tóxicos, su mordedura accidental constituye una patología importante en nuestro ámbito por la magnitud de casos y su alta morbilidad.<sup>4</sup>

*Scytodes* es un género en comportamiento excepcional de arañas, sin embargo, ha habido pocos estudios detallados del comportamiento social y depredador de estas arañas.<sup>36,37</sup>

Arañas del género *Scytodes*, pueden ser llamadas "cazadoras furtivas" y comúnmente se llaman "spitting spider" y son inofensivas para los seres humanos. Estas arañas han abandonado su red sedentaria de vida y busca nocturna y activamente cazar a sus presas. Pueden ser encontradas bajo corteza, desperdicios de hojas caídas y a veces en casas. Son pequeñas arañas de alrededor de 5-9 mm de largo. Es brillante y sin pelo y la coloración base es medio marrón. Tiene una forma distintiva con un cefalotórax abovedado, de gran tamaño que contiene una glándula (delantera) anterior de veneno, que esté conectada con una sección (trasera) posterior que sintetiza una seda pegajosa usada para la captura de la presa. La seda es expulsada por las contracciones rápidas de músculos prosomales grandes, y dura cerca de 140 milisegundos. *Scytodes* son nocturnos con una visión pobre y vaga de su alrededor con patas frontales levantadas para detectar la presa usando largos pelos sensoriales sobre el metatarso (segundo segmento apical de la pata). Una vez que la presa como polillas, moscas etc. es detectada, este proceso lo hace con mucha cautela de tal forma que pasa inadvertido para su presa. Una vez dentro del rango de hasta 20 mm, expulsa 2 corrientes de seda sintetizada muy pegajosa sobre su presa, pegándolo al substrato. La víctima parece ser paralizada por un componente venenoso en la seda. La araña después avanza y muerde una pata de la presa y una vez muerta la remueve y se alimenta de ella. La captura de la presa se ha documentado bien y dos filas de oscilaciones horizontales de un zigzag de seda se han descrito. Distinto a la mayoría de arañas, *Scytodes* tiene un tiempo de vida largo y vive de 2 a 4 años. Luego ovipositan, los huevos se ligan con algunos filamentos de la seda y son llevados alrededor por la hembra en sus cheliceros (colmillos). Unas ciertas especies utilizan un cordón para cubrir los huevos. Los huevos eclosionan en 2 semanas aproximadamente después de ser depositados.<sup>37,38</sup>

**CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE  
LA ARAÑA *Scytodes longipes***

Reino: Animalia

Filum: Artrópodos

Clase: Arachnida

Orden: Araneae

Género: *Scytodes*

Especie: *Scytodes longipes*

Colecciones Biológicas. Instituto de Biología. "Scytodes longipes"<sup>41</sup>

### 3.2.3. TELA DE ARAÑA

#### a) GENERALIDADES

La seda de araña es uno de los polímeros más difíciles encontrados en la naturaleza y es adaptable a una amplia gama de funciones biológicas.<sup>40</sup>

La mayor parte de la gente cree que la única función de la tela de araña es la captura de insectos. sin embargo, los hilos de seda también son utilizados para: tapizar sus nidos, formar bolsas de esperma, cubrir y proteger las puestas de huevos, construir hilos de arrastre, tender hilos puente, extender filamentos de aviso e hilos de muda, fabricar y tejer bolsas para las crías e inmovilizar de forma segura a sus presas.<sup>17,44</sup>

Cada especie de araña tejedora posee un diseño exclusivo de su tela de araña. Tanto es así, que podemos conocer la especie de la que se trata con solo observar esta última. Algunos táxones de la familia Araneidae, como en los casos de *Argiope lobatay Argiope bruennichi*, entretejen bandas de tela opaca –llamada estabilimenta- dispuestas en zig-zag, según algunos autores para que las telarañas sean vistas por las aves y no las destruyan de forma accidental. El caso más raro lo encontramos en Brasil, donde la especie *Anelosimus eximius* constituye uno de los únicos casos que se conocen de arañas tejedoras sociales. estas pequeñas arañas forman colonias con más de un millar de individuos, y son capaces de colaborar

todas juntas para construir gigantescas telas de araña tridimensionales, que cubren por completo la vegetación, para así poder capturar grandes presas que, de otra manera, no sería posible cazar individualmente.<sup>2</sup>

El mundo de las arañas proporciona modelos de organismos ideales para estudiar el diseño funcional de los materiales estructurales a base de proteínas. Estas arañas tienen siete complejos de glándulas de hileras diferentes, cada uno de los cuales sintetizan una mezcla única de polímeros estructurales y produce una fibra con un conjunto único de propiedades funcionales.<sup>1,2</sup>

La síntesis y secreción de las proteínas que conforman la seda se producen en una glándula de la araña que se llama "**ampulácea mayor**", situada en el extremo posterior del cuerpo del animal. Estas proteínas se mantienen en un estado líquido y un poco antes de salir es cuando se convierten bruscamente en fibra sólida.<sup>40</sup>

## b) **ESTRUCTURA MOLECULAR**

Las sedas de las arañas son polímeros de origen natural que se componen de un núcleo de filamentos de proteínas, seda Espidroína, a diferencia de las sedas de gusano cuyo componente principal es la fibroína y se encuentra revestida por una especie de goma de pegamento. Las sedas más estudiadas son el capullo de seda del gusano y la seda o red de arrastre de la araña.<sup>10,26, 24</sup>

La proteína **espidroína** es cada vez más estudiada en aplicaciones biomédicas, dada su biocompatibilidad, biodegradabilidad y propiedades mecánicas que combinan peso ligero, alta resistencia y notable dureza y elasticidad<sup>7, 10,11,24,25,</sup> además de propiedades térmicas que les permiten ser procesadas en un amplio intervalo de temperaturas<sup>10,12,25</sup>. La espidroína en varios formatos (películas, fibras, redes, mallas, membranas, hilos, y esponjas) se utiliza para apoyar la adhesión de las células madre, la proliferación y diferenciación *in vitro* y para promover la reparación de una amplia gama de tejidos *in vivo* como cartílagos artificiales, fragmentos de tejido óseo, vasos sanguíneos, tejido epitelial y tejido nervioso óseos<sup>10,13,42,43,45,46,</sup>

La solución acuosa que dará origen a las hebras de seda tanto en el gusano de seda como en las arañas –es una solución de cadenas proteínicas de forma globular, según la información proporcionada por resonancia magnética nuclear y estudios de difracción de rayos X.

Independientemente del tipo, todas las sedas de araña están compuestas por grandes fibras de proteína. Estas proteínas pueden ser examinadas de acuerdo con la jerarquía de su estructura molecular.<sup>10</sup>

La seda de araña incluye una amplia variedad de fibras compuestas predominantemente por espidroínas, un grupo complejo de proteínas codificadas por una familia multigénica repetitiva con excepcionales características de resistencia mecánica, elástica y ligereza.<sup>44</sup>

Estas espidroínas son producidas por la principal glándula ampollácea (MA).<sup>42</sup>

El análisis de la secuencia de aminoácidos posibilita no sólo una perspectiva de evolución, sino también de la estructura y función de las espidroínas. El examen de las secuencias de aminoácidos de la espidroína revelan una alta tasa de conservación de secuencias en distintas variedades de arañas. Además de estas consideraciones, se expone una estructura de nanocomponentes en la cual los dominios ricos en alanina y glicina adoptan una estructura en hojas B, responsables de la formación de cristales y la región Gly Gly en forma de hélices conectan a los cristales para estabilizar y orientar la estructura de la fibra.<sup>44,48</sup>

En las hojas B , estos cristales de proteínas ocupan 40-50 % del volumen total de la fibra de seda<sup>9</sup>, con el resto siendo ocupado por las cadenas de proteínas que tienen una mucho menos ordenado , posiblemente amorfo.<sup>9</sup>

Según Hedhammar<sup>53</sup> las espidroínas tienen una composición tripartita; un dominio N-terminal no repetitiva, una región repetitiva central, y un dominio C-terminal no repetitiva. Las funciones precisas de los dominios terminales no han sido establecidas. Aquí, los mismos fueron estudiados, el pH, y efectos térmicos de sal sobre la estructura y la agregación y / o polimerización de N- recombinante y los dominios C-terminales, un segmento repetitivo que contiene cuatro poli-Ala y Gly coblocks ricos, y combinaciones. Los dominios N- y C-terminales tienen una estructura principalmente  $\alpha$ -



helicoidal, y de manera interesante, tanto homodímeros de formulario. La dimerización de los dominios de multimerización de gama permite a la espidroína independiente de la parte repetitiva. La reducción de un disulfuro intersubunitario en el dominio C-terminal reduce la estabilidad térmica pero no afecta a la dimerización. La región repetitiva muestra la estructura secundaria helicoidal pero parece carecer de estructura plegada estable. Una proteína compuesta de esta región repetitiva vinculado al dominio C-terminal tiene una estructura plegada principalmente  $\alpha$ -helicoidal pero muestra una transición abrupta a  $\beta$ -hoja de estructuras tras el calentamiento. A temperatura ambiente, esta proteína auto-ensambla en fibras macroscópicas en cuestión de minutos. Las estructuras secundarias de ninguno de los dominios se ven alterados por pH o sal. Sin embargo, altas concentraciones de fosfato afectan a la estructura terciaria y aceleran la propensión de agregación de la región repetitiva. Se discuten las implicaciones de estos resultados para el comportamiento de la red de arrastre de espidroína en solución y la formación de fibras de seda.

La telaraña es una sustancia que al principio de su biosíntesis es líquida (dentro de la araña) y posteriormente se coagula.<sup>7</sup>

Los hilos de seda, un reto para la bioingeniería. Las excelentes propiedades mecánicas de los hilos de seda de las arañas ha despertado el interés por fabricarlas usando las técnicas de la ingeniería genética. Si estas sedas se pueden fabricar en grandes cantidades —a un precio competitivo y en condiciones respetuosas con el medio ambiente— pueden ser una alternativa a las fibras de baja tecnología, como el nilón o el algodón (que son baratas, pero caras desde el punto de vista medioambiental), o a las fibras de más alta tecnología, como el Kevlar o el Twaron (que son caras en los dos aspectos, tanto en el costo como en su repercusión con el medio ambiente). La fabricación, en cantidades industriales, de tela de araña no es fácil. Las arañas no se han podido domesticar y criar masivamente, como los gusanos de seda, porque es muy difícil que crezcan juntas en cautividad por su naturaleza solitaria y depredadora. Además, las telas de araña no se pueden devanar como se hace con los hilos de los capullos de seda. La ruta por la que se intenta avanzar tiene dos etapas: En la primera, se pretende

identificar los genes de las arañas responsables de la fabricación de las proteínas de la seda, sintetizarlos y expresarlos en otros organismos, obteniendo, al final, una solución proteica. La segunda etapa consiste en hilar la solución proteica, y fabricar la fibra.<sup>9</sup> Al principio se pensó que la primera etapa —fabricar las proteínas de la seda de las arañas por ingeniería genética— sería la más difícil. El primer paso consistió en identificar varias secuencias de aminoácidos relacionados con la composición de los hilos de seda, y el siguiente paso fue la preparación de genes artificiales con estas secuencias de aminoácidos. Los primeros intentos de expresar estos genes en la clásica *bacteria Escherichia Coli* no fueron muy satisfactorios. Entre los distintos microorganismos candidatos, el grupo de DuPont obtuvo resultados aceptables con la levadura *Pichia pastoris* y aireó sus éxitos en la prensa y en una nota aparecida en la prestigiosa revista *Scientific American*. Poco tiempo después, Nexia anunciaba que lo había conseguido a través de la leche de cabras modificadas genéticamente; a las nuevas fibras, fruto del matrimonio genético entre una araña y una cabra, las llamó Bio-steel (acero-biológico) y pregonoó que su resistencia superaba los 2 GPa. Tres años más tarde Du Pont abandonó, aparentemente, esta línea de investigación. Nexia, junto con el ejército de EE.UU., anunció que habían fabricado fibras artificiales de seda de araña pero que su resistencia estaba bastante lejos de la pregonada anteriormente; apenas la cuarta parte. En 2005, Nexia comunicó que dejaba el campo de las fibras para dedicarse a otros productos de alto valor añadido. Es posible que el proceso de hilado a partir de la solución proteica sea el paso más difícil y en esta dirección los ingenieros están concentrando ahora sus esfuerzos.<sup>10</sup>

Esta situación es parecida a los intentos que se han hecho para fabricar hilo de seda a partir de soluciones de seda regenerada procedente de los gusanos de seda. Hasta la fecha los intentos no han sido muy satisfactorios porque la resistencia de los hilos artificiales apenas alcanzaba la mitad de la obtenida con la seda natural. Sin embargo, el grupo ha obtenido resultados muy prometedores al modificar el proceso de hilado tradicional, deformando el hilo en medio acuoso. Por este procedimiento ya se han conseguido igualar los valores de la seda natural y se espera poderlos incrementar. Estos resultados indican, como ya se ha apuntado

anteriormente, que el proceso de hilado es tan importante, o más, que la composición de la solución proteica. Si se logra implementar estas técnicas al hilado de las sedas inspiradas en las arañas quizás se consigan fabricar hilos más resistentes, flexibles y tenaces que los que diariamente producen las arañas en nuestros jardines.<sup>7, 8,9,10,11,12</sup>

### **3.2.4. USOS MÉDICOS DE LA TELA DE ARAÑA**

En la batalla de Crecy, en 1346, los soldados mallorquines al servicio del rey francés Felipe VI llevaban en su botiquín unas cajitas repletas de telarañas para taponar posibles heridas.<sup>10</sup>

Pero el uso médico de las telarañas es antiguo, especialmente por sus propiedades hemostáticas, conocidas desde la Antigüedad. Por su parte, Dioscórides escribe: “La tela de la araña, aplicada sobre una herida, detiene la sangre y mantiene sin inflamación las heridas superficiales”<sup>15</sup>. Incluso, en el Satiricón de Petronio encontramos mención al empleo de telas de araña con fines terapéuticos: “Gitón, más cariñoso que yo, restañó la herida que se había hecho en la frente, primero con telas de araña untadas en aceite;...”<sup>16</sup> Las arañas y sus telas se han utilizado externamente para aliviar muchas dolencias. La aplicación más conocida ha sido como hemostático; los comentarios de Plinio, en su Historia Natural, cita el uso médico de las telarañas en varios puntos; por ejemplo, en el Libro XXX capítulo 27 escribe: “Las grietas las curan las telas blancas de las arañas y las que tejen las crías de araña entre las vigas” habla sobre las ventajas de aplicar telarañas sobre las heridas porque facilitan su cicatrización y son bien conocidos y todavía se utilizan estos emplastos en algunos lugares. Shakespeare menciona su uso para este fin en “El sueño de una noche de verano”<sup>18</sup>, y resulta curioso conocer que su yerno, un médico llamado John Hall, usaba para las curas telarañas y otros productos poco recomendables, como excrementos de animales. Otra aplicación conocida es como antipirético; el naturalista griego Dioscórides ya indicó en su tiempo que la fiebre producida por la malaria podía desaparecer si se colgaba en la axila una bolsa repleta de telarañas.<sup>17</sup>

Matthiale, en el siglo XVI, famoso por sus comentarios sobre los libros de Dioscórides, también era partidario de colgar alrededor del cuello, como si fuera un amuleto, una bolsa con telarañas para eliminar las fiebres.<sup>17</sup>

Elías Ashmole, un famoso anticuario, escribió en su diario el 11 de mayo de 1651, “Por la mañana temprano, tomé una buena dosis de elixir y colgué alrededor de mi cuello tres arañas. La fiebre desapareció, Deo gratias”. Eleazar Albin, autor del libro “Una historia natural de las arañas y otros insectos curiosos” (1736), afirma haber curado a muchas personas que padecían fiebres, debidas a la malaria, sin administrarles medicamentos, sólo colgándoles del cuello arañas vivas encerradas en cajitas. Las telarañas también se han utilizado como ansiolítico para curar la depresión; en algunas regiones de China se colgaban telarañas al cuello de los enfermos, pero para que surtieran efecto debía hacerse el séptimo día del séptimo mes. En Salem, el Dr. Webster decía que las telarañas producían un efecto sedante parecido al opio o al óxido nitroso.<sup>16</sup> La lista de aplicaciones es extensa y curiosa: Galeno proponía para aliviar los dolores de las caries que se introdujera en ellas seda de las arañas. Las verrugas, los orzuelos, incluso la tiña podían curarse con las telarañas.<sup>17</sup>

En la medicina popular española las telarañas han sido desde tiempo inmemorial parte del arsenal de remedios tradicionales. Sólo una parte de estos remedios se encuentran registrados en referencias bibliográficas; se trata de referencias dispersas y muchas de ellas en revistas o libros de difícil acceso. Este hecho, junto con la pérdida de conocimientos tradicionales transmitidos de generación en generación que caracteriza a la sociedad española, y europea en general, conduce a la necesidad de conservar esta pequeña muestra del patrimonio biocultural español.<sup>18</sup>

Las virtudes terapéuticas de las arañas y sus sedas han sido reconocidas y apreciadas desde la antigüedad. La telaraña se ha utilizado como hemostática, astringente, febrífuga e incluso como ansiolítica. En la actualidad, la seda de las arañas puede ser un componente esencial en ingeniería de tejidos y en la fabricación de microcápsulas para administrar fármacos. Las virtudes terapéuticas de las arañas y sus sedas han sido reconocidas, en Veterinaria y Farmacia son muy prometedoras.<sup>17,18</sup>

Hasta mediados del siglo XX los hilos de seda de la araña sólo se utilizaban para fabricar las retículas de los instrumentos ópticos. Los nativos de Nueva Guinea, Nuevas Hébridas y de la isla Salomón, han utilizado los hilos de seda de las arañas de la especie *Nephila* para fabricar redes y artificios para pescar, según describe el naturalista E. A. Pratt (1906) en su curioso libro *Dos años entre los caníbales de Nueva Guinea*. En 1709, Bon de Saint-Hilaire fabricó guantes y medias a partir de la seda de los sacos ovígenos, pero la Academia Francesa consideró que la industria de la seda basada en arañas nunca sería rentable. Trescientos años después, con la llegada de la biotecnología, se está reconsiderando la obtención industrial de las proteínas de la seda a partir de organismos genéticamente modificados.<sup>16,17</sup>

La seda de las arañas y de los gusanos de seda nos ofrece otro ejemplo de material biológico que puede utilizarse como biomaterial. En 1957 el Dr. Feng Youxian, cirujano del hospital Zhongshan en Shanghai, experimentó con injertos de seda. En Estados Unidos y en Europa se utilizaban implantes de Dacron para reemplazar arterias pero en China no se disponía de este biomaterial. En 1959 se fabricaron prótesis de seda y se implantaron con éxito en más de 500 pacientes. Las propiedades antisépticas, anteriormente mencionadas, de la seda de las arañas han inspirado el diseño de tejidos bacteriostáticos. Estos textiles contienen sustancias que regulan la multiplicación de las bacterias responsables de los malos olores y pueden ser de gran utilidad en la lucha contra las infecciones que se contraen en los hospitales. Los tejidos pueden actuar de dos formas: impidiendo que las bacterias proliferen, o bien protegiéndose ellos mismos de la degradación que les pueden originar las bacterias. Cuando las condiciones de temperatura y humedad son favorables, las bacterias y los hongos presentes en el aire, en el agua o en el suelo, colonizan los textiles, proliferan y son los responsables de su degradación. Algunos microorganismos liberan enzimas que degradan las fibras naturales y otros liberan pigmentos que las colorean. El olor característico a «cerrado» o a «húmedo» indica la presencia de hongos o de bacterias. El diseño de un tejido antibacteriano ideal no es fácil; si los tejidos no están en contacto con la piel se pueden impregnar con bactericidas, pero cuando pueden estar en contacto con ella hay que limitar la

proliferación de los microorganismos con bacteriostáticos que no destruyan la flora microbiana que vive naturalmente sobre la piel y la protege. Además de luchar contra las bacterias y los hongos microscópicos, el tejido ha de ser duradero y no perder sus propiedades después de numerosos lavados, tener un aspecto agradable y no ser muy caro, para ser competitivo. Tiene que ser compatible con los agentes impermeabilizantes, ignífugos y colorantes. También debe resistir la radiación ultravioleta. Hoy día no se dispone de un textil con todas estas características y los hilos de seda de las arañas nos pueden proporcionar una pista para conseguirlo.<sup>16</sup>

Si el uso externo de las arañas y sus telas resultaba beneficioso para curar ciertas dolencias, cabe esperar que la utilización interna fuera, todavía, más rentable. Como antipirético se recomendaba ingerir arañas vivas con pan. El Dr. Watson, en su disertación sobre “Fiebres intermitentes”, en 1760, fue más explícito y sugirió que se tragaran con uvas pasas o con pan y mantequilla, y comentó que en más de sesenta ocasiones había conseguido curar las fiebres cuando con el tratamiento usual —la quinina— había fracasado. Todavía en el siglo XIX, Robert Jackson, un médico militar inglés, defendía el uso de las arañas para aliviar las fiebres recurrentes frente al arsénico o la quinina. La ingestión de telarañas se ha utilizado como un remedio para multitud de dolencias; el asma o la gota eran dos enfermedades que podían curarse por este procedimiento aunque para la gota era mejor si la telaraña provenía de un ciprés. De nuevo, las arañas, con pan y mantequilla, aliviaban el estreñimiento (al menos en el estado de Kentucky) y en la Edad Media, algunos creían que la ingestión de arañas machacadas era un eficaz remedio contra la impotencia. La medicina, la farmacia y la veterinaria —las tres secciones de esta Academia vinculadas con las Ciencias de la Salud— han estado siempre muy relacionadas y no es de extrañar que los remedios basados en las arañas y sus telas también lo hayan estado.<sup>17</sup>

### 3.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

1. Hemostasia: Es el cese fisiológico del sangrado.
2. Tiempo de coagulación: Es un examen que mide la cantidad de tiempo en que la sangre demora para coagular a 37°.
3. Tiempo de Protrombina: Es un examen de sangre que mide el tiempo que tarda la porción líquida de la sangre (plasma) en coagularse.
4. Tela de araña: es una estructura construida por una araña que tiene como base la proteína espidroína.

### 3.4. HIPÓTESIS Y VARIABLES

#### 3.4.1. HIPÓTESIS

“La tela de la araña *Scytodes longipes* aplicado en muestras de sangre obtenidas a partir de un paciente joven sano disminuye el Tiempo de coagulación y el Tiempo de Protrombina fisiológico.”

#### 3.4.2. VARIABLES

- **Variable Independiente**

La tela de la araña *Scytodes longipes*

- **Variable Dependiente**

Tiempo de Coagulación de las muestras de sangre obtenidas a partir de un paciente joven.

Tiempo de Protrombina de las muestras de plasma obtenidas a partir de un paciente joven.

### 3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTUALIZACIÓN	INDICADOR	ESCALA	TIPO	CATEGORIZACION
Tiempo de Coagulación (TC)	Mide el intervalo de tiempo comprendido entre el ingreso de sangre a la jeringa y la formación de coágulo de fibrina	Minutos que transcurren durante el cambio de un estado líquido a otro coloidal	Razón	Cuantitativo	5 min
Tiempo de Protrombina (TP)	Mide el tiempo de coagulación del plasma después de adicionar una fuente de factor tisular (tromboplastina) y calcio).	Segundos que transcurren una vez que se añade el plasma hasta que se formen los filamentos de fibrina.	Razón	Cuantitativo	14 seg
La tela de la araña <i>Scytodes Longipes</i>	Es un polímero de origen natural hilado por la araña <i>Scytodes longipes</i> que se compone de un núcleo de filamentos de proteínas	Masa en miligramos	Ordinal	Cuantitativo	Peso 1: ligero (3-4 mg) Peso2: mediano (5-6mg) Peso3: pesado (7-8 mg)



## IV. DISEÑO METODOLOGICO

### 4.1. Tipo de Estudio

El Tipo de Estudio fue experimental, transversal e in vitro.

- **Experimental:** porque el investigador controla la acción de una variable sobre otra.

### 4.2. Universo y muestra

a. **Universo:** Sangre de un donante sano.

b. **Muestra:**

Probabilística de tipo aleatoria simple porque todas las muestras de sangre tienen las mismas probabilidades de ser elegidas. Se estima extraer 42 ml de sangre para ambas determinaciones (TC y TP), de un sujeto donante que cumpla con los criterios de inclusión y exclusión.

c. **Selección de la muestra:** Se establecerá criterios de inclusión y exclusión de acuerdo a las referencias teóricas.

#### **Criterios de inclusion**

- Sangre de donante joven con buen estado de salud general;
- Sangre de donante sin antecedentes de enfermedad reciente;
- El Paciente debe pesar mínimo 50 Kg.

#### **Criterios de exclusión**

- Paciente con tos, gripe, dolores de cabeza o de estómago;
- Paciente que padecen o han padecido, epilepsia, hepatitis, sífilis, paludismo, cáncer, sida o enfermedades severas del corazón;
- Paciente que han tenido algún tipo de cirugía en los últimos seis meses;
- Paciente con tatuajes, perforación o acupuntura en el último año;
- Paciente con tratamiento farmacológico reciente;
- Paciente con algún trastorno sanguíneo.

### **4.3. Método, procedimiento, técnicas**

#### **4.3.1. Obtención de la tela de la araña *Scytodes Longipes***

Se cazó 8 arañas *Scytodes Longipes* que fueron trasladadas a una habitación semidesocupada (solo con muebles de madera apolillados), deshabitada y limpia, las cuales fueron colocadas detrás de los muebles de madera y se inspeccionaron cada 10 días para controlar la producción de tela de araña.

Aproximadamente en 8 meses se obtuvo una cantidad moderada de tela.

#### **- Protocolo de desinfección y esterilización de la telaraña**

La telaraña obtenida tuvo cierta cantidad de polvo adherida y en algunos casos restos alimenticios de la araña, por lo que se sometió a una desinfección y posteriormente esterilización siguiendo los siguientes pasos:

- Limpieza mecánica con la ayuda de un estereoscopio.
- Lavado con hipoclorito de sodio diluido en suero en una proporción de 1:10.
- Secado a 37° C en incubadora.
- Empaquetado y esterilización por calor húmedo.
- Se repartió la tela de araña en pesos crecientes en tubos de ensayo según el esquema que se muestra en anexos (3-4mg; 5-6 mg; 7-8 mg)

#### **4.3.2. Método de recolección de datos**

Luego de la selección del paciente muestra (teniendo en cuenta criterios de inclusión y exclusión), se procedió a recolectar datos:

Instrumentos de recolección de datos:

**Ficha clínica:** Que constó de las siguientes partes: Datos de filiación y antecedentes de salud

**Ficha de registro de datos y control:** Que constó de 2 cuadros; uno para registrar el Tiempo de Coagulación y otro para el Tiempo de protrombina.

#### **4.3.3. Evaluación del TIEMPO DE COAGULACIÓN de la tela de la araña frente a las muestras de sangre.**

Se empleó una muestra: 12mL de sangre humana fresca de un paciente cuyo Tiempo de protrombina (TP) y tromboplastina parcial (TPT) se encuentre en un rango normal.

##### **A) OBTENCION DE LA SANGRE:**

- Se colocó el torniquete en el brazo. Para producir la ingurgitación de la vena.
- Una vez seleccionada la vena mediana cubital se procedió a limpiar el sitio de la punción.
- Se pinchó la piel y posteriormente la vena en dirección contraria al flujo sanguíneo. Con un ángulo de 15° respecto al brazo y con el bisel de la aguja hacia arriba.
- Se utilizó el sistema Vacutainer utilizando 4 tubos al vacío, el 1er tubo para el control y los otros 3 experimentales con pesos crecientes de telaraña previamente colocada.
- Todas las muestras fueron tomadas por triplicado y extraídas en el mismo momento.

##### **b) MEDICIÓN DEL TIEMPO DE COAGULACIÓN**

Se realizó de la siguiente manera:

- a. Inmediatamente ingresada la sangre al tubo de ensayo se procedió a moverlo para homogeneizar la muestra y se colocó en baño María de 37°C.
- b. Cada tubo se inclinó 45 ° aproximadamente cada 15 segundos, para comprobar que la sangre ha coagulado.

c. El intervalo de tiempo comprendido entre el ingreso de sangre a la jeringa y el cambio de un estado fluido a otro coloidal se ha interpretado como el “Tiempo de coagulación”.

d. El mismo método se aplicó en la medición del tiempo de coagulación en todos tubos.

#### **4.3.4. Evaluación del TIEMPO DE PROTROMBINA de la tela de la araña frente a las muestras de plasma.**

Se empleó una muestra 30 mL de sangre humana.

##### **A) OBTENCION DEL PLASMA:**

- Se colocó el torniquete en el brazo para producir la ingurgitación de la vena.
- Una vez seleccionada la vena mediana cubital se procedió a limpiar el sitio de la punción.
- Se pinchó la piel y posteriormente la vena en dirección contraria al flujo sanguíneo. Con un ángulo de 15º respecto al brazo y con el bisel de la aguja hacia arriba.
- Se utilizó el sistema Vacutainer utilizando 6 tubos al vacío con citrato de sodio, el 1er tubo para el control, otros 3 experimentales (tela de araña en pesos crecientes).
- Después se llevó a centrifugar la sangre y se separó el plasma que fue alicuotado y mantenido en congelación para su posterior uso.
- Todas las muestras fueron tomadas por triplicado y extraídas en el mismo momento.

##### **B) MEDICIÓN DEL TIEMPO DE PROTROMBINA**

- Como el reactivo de TP viene liofilizado, es decir en polvo, para utilizarlo se colocó 2 mL de agua destilada, se agitó suavemente hasta que se disolvió completamente y se lo dejó incubar por 15 minutos.
- Se colocó en un tubo de ensayo el plasma ya separado.
- En otro tubo se colocó el reactivo de TP.
- Estos tubos se los lleva a baño María a 37 C de 3 a 5 minutos

- Transcurrido este tiempo, en los tubos rotulados previamente ,se añadió el plasma (200uL) y luego el reactivo (200  $\mu$ L), se activó el cronometro y se procedió a mezclar sin sacar del baño María.
- Pasado unos segundos aproximadamente luego de ver activado el cronómetro se sacó el tubo hasta observar que se forme la red de fibrina.
- El intervalo de tiempo transcurrido desde que se añade el plasma hasta que se formen los filamentos de fibrina, será interpretado como el "Tiempo de Protrombina".
- El mismo método se aplicó en todos los tubos.

#### **4.4. PROCESAMIENTO DE DATOS**

Una vez recolectado los datos se revisaron y verificaron que estén consignados todos los datos. Luego, los datos que se obtengan serán clasificados según el indicador. El recuento de datos obtenidos se realizó manual y electrónicamente; mediante los programas Microsoft Office Excel y el paquete estadístico Stata v12 para finalmente presentar esta información por medio de tablas y gráficas.

#### **4.5. ANÁLISIS DE RESULTADOS**

Se utilizó la prueba de Shapiro Wilk para evaluar la distribución de los datos respecto a su normalidad.

Se utilizó la técnica del análisis de varianza para comparar los tiempos de coagulación entre los grupos de estudio tanto para las muestras de sangre como en plasma. Al encontrar diferencias entre dos o más grupos se utilizó la prueba de Bonferroni (prueba *post-hoc*) para determinar entre qué grupos de estudio había diferencias significativas. El nivel de significancia con el que se trabajó fue de 0.05.

El procesamiento y análisis de los datos se realizó con el programa estadístico Stata v12.

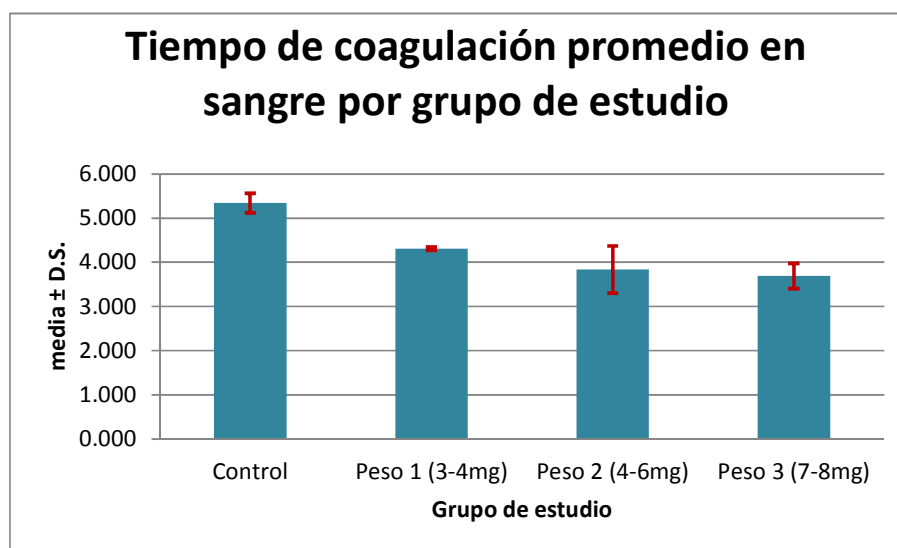
## V. RESULTADOS

Se observa diferencias significativas al comparar el Tiempo de Coagulación con y sin el uso de la Tela de la araña *Scytodes longipes*.

**TABLA 1: TIEMPO DE COAGULACIÓN PROMEDIO EN SANGRE POR GRUPO DE ESTUDIO**

Grupo de estudio	N°	media	D.S.	Mediana	min	max
Control	3	5.343	0.221	5.40	5.10	5.53
Peso 1 (3-4mg)	3	4.307	0.040	4.30	4.27	4.35
Peso 2 (4-6mg)	3	3.837	0.535	4.12	3.22	4.17
Peso 3 (7-8mg)	3	3.690	0.287	3.55	3.50	4.02
Total	12	4.294	0.730	4.22	3.22	5.53

**GRÁFICO 1: TIEMPO DE COAGULACIÓN PROMEDIO EN SANGRE POR GRUPO DE ESTUDIO**



**TABLA 2 : COMPARACIÓN DEL TIEMPO DE COAGULACIÓN EN SANGRE CON Y SIN EL USO DE LA TELA DE LA ARAÑA *Scytodes longipes***

Grupos	Diferencia de medias	P
Control y peso 1	1.037	0.026
Control y peso 2	1.507	0.003
Control y peso 3	1.653	0.001

Se utiliza la técnica del análisis de varianza y la prueba de Bonferroni posterior para comparar entre pares de grupos. Siendo  $P < 0.05$  demuestra que Sí hay diferencia en al menos dos grupos en el tiempo de coagulación promedio en muestra de sangre.

Al utilizar la prueba de Bonferroni, se encuentra diferencias significativas entre:

- Control y Peso 1
- Control y Peso 2
- Control y Peso 3

El  $P < 0.05$  indica que Sí hay diferencias significativas entre el grupo control y cada grupo de peso.

**TABLA 3: COMPARACIÓN DEL TIEMPO DE COAGULACIÓN EN SANGRE EN TRES PROPORCIONES DISTINTAS DE LA TELA DE LA ARAÑA *Scytodes longipes***

Grupos	Diferencia de medias	P
Peso 1 y Peso 2	0.47	0.678
Peso1 y Peso 3	0.616667	0.287
Peso 2 y Peso 3	0.146667	1.000

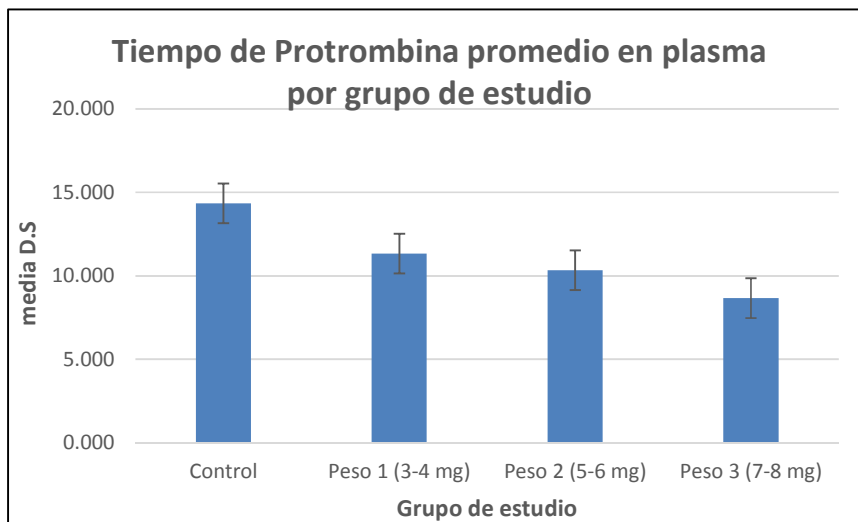
Siendo el valor de P mayor que 0.04 NO se encontró diferencias significativas entre los grupos de peso.

**TABLA 4: TIEMPO DE PROTROMBINA PROMEDIO EN PLASMA POR GRUPO DE ESTUDIO**

Grupo de estudio	N°	media	D.S.	min	max
Control	3	14,333	0,577	14	15
Peso 1 (3-4mg)	3	11,333	0,577	11	12
Peso 2 (4-6mg)	3	10,333	0,577	10	11
Peso 3 (7-8mg)	3	8,667	0,577	8	9
Total	12	11,167	2,209	8	9



**GRÁFICO 2: TIEMPO DE PROTROMBINA PROMEDIO EN PLASMA POR GRUPO DE ESTUDIO**



**TABLA 5: COMPARACIÓN DEL TIEMPO DE PROTROMBINA EN PLASMA CON Y SIN EL USO DE LA TELA DE LA ARAÑA *Scytodes longipes***

Grupos	Diferencia de medias	P
Control y peso 1	3.000	0.001
Control y peso 2	4.000	0.000
Control y peso 3	5.667	0.000

Comparación del tiempo de Protrombina en plasma entre el grupo control con cada grupo de peso utilizando la técnica del análisis de varianza y la prueba de bonferroni posterior para comparar entre pares de grupos. Siendo  $P < 0.05$ , indica que SI hay diferencia en al menos dos grupos en el tiempo de Protrombina promedio en muestra de plasma.

Al utilizar la prueba de Bonferroni, se encuentra diferencias significativas entre:

- Control y Peso 1
- Control y Peso 2
- Control y Peso 3

El  $P < 0.05$  indica que SI hay diferencias significativas entre el grupo control y cada grupo de peso.

**TABLA 3: COMPARACIÓN DEL TIEMPO DE PROTROMBINA EN PLASMA EN TRES PROPORCIONES DISTINTAS DE LA TELA DE LA ARAÑA *Scytodes longipes***

Grupos	Diferencia de medias	P
Peso 1 y Peso 2	1	0.4
Peso 1 y Peso 3	2.66667	0.003
Peso 2 y Peso 3	1.66667	0.046

Comparación del tiempo de Protrombina en plasma entre los grupos Peso 1 (3-4 mg), Peso 2 (5 - 6 mg) y Peso 3 (7 – 8 mg) utilizando la técnica del análisis de varianza y la prueba de bonferroni posterior para comparar entre pares de grupos. Siendo  $P < 0.05$ , indica que SI hay diferencia en al menos dos grupos en el tiempo de Protrombina promedio en muestra de plasma.

Al utilizar la prueba de Bonferroni, se encuentra diferencias significativas entre:

- Peso 1 y Peso 3
- Peso 2 y Peso 3

El  $P < 0.05$  indica que SI hay diferencias significativas entre los Pesos 1 y 2; 2 y 3. Siendo el valor de P mayor que 0.04 NO se encontró diferencias significativas entre los grupos de Peso 1 y 2.

## VI. DISCUSIÓN

Gonzales,<sup>35</sup> reúne en su investigación remedios tradicionales basados en el uso de telarañas para tratamiento de hemorragias accidentales y heridas fortuitas. Algunas tribus de América del Sur emplearon también las telas de araña como hemostático en heridas según Rivelino.<sup>48</sup>

Debido a las características de la telaraña como biomaterial y su dificultad de domesticación, la biotecnología sugiere la posibilidad de producir materiales con base en los polímeros de la seda de araña<sup>16,17, 35</sup>. En este estudio se usaron arañas de la especie *Scytodes longipes* que fueron criadas en semicautiverio. En el momento final de la recolección se halló 8 arañas que fueron identificadas para corroborar que todas pertenezcan al género y especie inicial. Elices Calafat<sup>17</sup>(2009), para la producción masiva de tela de araña sugiere dos caminos: Identificar los genes de las arañas responsables de la fabricación de la proteína de la seda, sintetizarlos y expresarlos en otros organismos; o, producir la solución proteica, hilarlo y fabricar la seda. Florence y col<sup>49</sup> (2012) realizan un estudio para crear gusanos de seda transgénicos que codifican proteínas de la seda del gusano de seda / araña quiméricos. Estas fibras incluyeron proteínas de ambas especies, siendo en promedio mejores que las fibras de gusano de seda de los padres, y casi tan buena como las fibras de seda de la araña dragline nativa.

Según Granados<sup>2</sup>, todas las arañas poseen glándulas venenosas pero no todas representan un peligro para el hombre. Se eligió para el presente estudio la araña de especie *Scytodes longipes*, también conocida como la "araña de jardín". Esta posee quelíceros pequeños y gracias a esta característica anatómica no representan una amenaza para el ser humano pues no pueden traspasar el epitelio e inocular su veneno.<sup>37</sup>

No se reporta un estudio experimental que demuestre el poder hemostático de la tela de araña, sin embargo esta característica se describe en estudios sobre sus propiedades como lo señala Elices<sup>17,24</sup> en sus investigaciones de revisión, además de otras propiedades terapéuticas de la tela. En la actualidad, la seda de las arañas puede ser un componente esencial en ingeniería de tejidos y en la fabricación de microcápsulas para administrar fármacos. Las aplicaciones de las sedas en *Medicina, Veterinaria y Farmacia* son muy prometedoras. No se reporta un estudio

experimental que demuestre el poder hemostático de la tela de araña, sin embargo esta característica se describe en estudios sobre propiedades de la tela de araña.

La seda de gusano y la de araña tienen una composición molecular parecida, lo que las asemeja en ciertas propiedades. Pese a esto, las propiedades mecánicas de la seda de araña superan a la de gusano, comparándose en resistencia al acero, y superándolo en ciertos aspectos de deformación.<sup>42</sup> Según Altman y col (2003) Los hilos de seda procedentes del gusano de seda tienen el inconveniente de que pueden provocar reacciones alérgicas<sup>45</sup> y de que al ser porosas (por la forma en que están tejidas) no deben utilizarse en heridas donde exista un gran riesgo de infección.<sup>17</sup> Elices (2009) describe como causa de la reacción alérgica de la seda de gusano a la goma de sericina que recubre los dos filamentos de fibroína que conforman esta seda. A diferencia de lo mencionado anteriormente, la seda de araña se compone principalmente de una proteína llamada espidroína y no posee sericina lo cual lo convierte en un mejor biomaterial. En la actualidad, los hilos de seda de las arañas empiezan a considerarse seriamente como candidatos para suturas, por sus superiores propiedades mecánicas y menos riesgos de reacciones alérgicas (al no estar recubiertos de sericina).<sup>17,18</sup>

El propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto coagulante de la tela de araña, para de esta forma ampliar la investigación y poder usarlo como biomaterial en cirugías diversas entre ellas las odontológicas. Teniendo esto en cuenta, se necesitaba esterilizar la tela de araña recolectada, además para evitar que algún otro agente pueda interferir con la propiedad coagulante. Según autores<sup>17</sup>, se han probado las propiedades a distintas temperaturas y se ha observado que las conservan hasta los 150 °C, lo que sugiere que las fibras se pueden esterilizar por calor antes de usarlas en cirugías. En tal sentido, se eligió como protocolo de esterilización, una limpieza previa mecánica / química (usando hipoclorito de sodio) y una esterilización por calor húmedo.

Muchos autores<sup>35,16,17,45,46,47</sup> describen a la seda de araña como un biomaterial biocompatible con el ser humano; en el año 2006,<sup>45</sup> Allmeling realiza un estudio experimental *in vitro* cultivando células de Schwan en las fibras de seda de araña obteniendo como resultado células que proliferaron y se adhirieron exitosamente

envainando las fibras de seda. <sup>46</sup>G Yong, por su parte, describe las diversas aplicaciones de la seda como biomaterial y en la ingeniería tisular en varios formatos (películas, fibras, redes mallas, membranas, hilos) para la elaboración de tejido óseo, ligamentos y cartílago.

Además de una buena biocompatibilidad, <sup>47</sup>Wang (2008) destaca la biodegradabilidad de la tela de araña. La tela de araña se halla recubierta por hongos que contienen antibióticos para evitar que otros microorganismos se alimenten de la tela de araña rica en proteínas, lo cual puede justificar un poder antibiótico de tela aunque no se conoce la efectividad de la misma. <sup>17,24</sup> En el presente estudio se evaluó la actividad pro coagulante de la tela de araña *in vitro* obteniendo resultados positivos, pues se halló diferencias significativas entre el tiempo de coagulación / tiempo de protrombina con y sin el uso de tela de araña; siendo menor el tiempo de coagulación con el uso de tela de araña. Sin embargo, no se encontró diferencias significativas usando distintas proporciones de tela. La tela de araña, dentro del organismo de la araña se halla en estado líquido, y cambia de estado a sólido por acción de la espidroína frente al cambio de pH.<sup>40</sup>

## VII. CONCLUSIONES

1. El presente estudio determinó que la tela de la araña *Scytodes longipes* Sí posee efecto coagulante aplicada en muestras de sangre humana, ya que se presentó una reducción significativa en el tiempo de coagulación ( $P < 0.05$ ).
2. El Tiempo de Coagulación con el uso de tela de la araña *Scytodes longipes* redujo significativamente ( $P < 0.05$ ) encontrándose diferencia entre el grupo control y el grupo de peso (3-8 mg).
3. Al comparar el Tiempo de Coagulación de la tela de la araña *Scytodes longipes* en 3 proporciones distintas (3-4 mg ; 5-6 mg; 7-8mg), NO se encontró diferencia significativa entre los grupos de peso 1, 2 y 3.
4. El Tiempo de Protrombina en plasma con el uso de tela de la araña *Scytodes longipes* redujo significativamente ( $P < 0.05$ ) encontrándose diferencia entre el grupo control y el grupo de peso (3-8 mg).
5. Al comparar el Tiempo de Protrombina de la tela de la araña *Scytodes longipes*, Sí se encontró diferencias significativas entre el grupo de peso 1 (3-4mg) con el grupo de peso 3 (7-8 mg).
6. Al comparar el Tiempo de Protrombina de la tela de la araña *Scytodes longipes*, Sí se encontró diferencias significativas entre el grupo de peso 2 (5-6mg) con el grupo de peso 3 (7-8 mg).
7. Al comparar el Tiempo de Protrombina de la tela de la araña *Scytodes longipes*, NO se encontró diferencias significativas entre el grupo de peso 1(3-4mg) con el grupo de peso 2 (5-6 mg).

## VIII. RECOMENDACIONES

- Sería recomendable comparar el efecto coagulante *in vitro* de la tela de la araña *Scytodes longipes* con otras especies.
- Para futuras investigaciones se debe considerar evaluar el efecto coagulante de la tela de la araña *Scytodes longipes in vivo*, como apósito post exodoncia.
- En otros estudios se puede considerar evaluar el efecto antibiótico de la tela de la araña *Scytodes longipes in vitro*.
- Este estudio puede ser desarrollado aplicando la tela de la araña *Scytodes longipes* en muestras de sangre de un paciente con alteraciones de coagulación.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

1. J. M. GOSLINE\*. The mechanical design of spider silks: from fibroin sequence to mechanical function. *The Journal of Experimental Biology* 202, 3295–3303 (1999)
2. GRANADOS, José. Arañas: "Arañas: Devoradoras de insectos mediante ingenios de seda." *Foresta* 46 (2009): 94-107.
3. GETSCH W J.. The spider genus *Loxosceles* in South America (Araneae, Scytodide). *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* (1983): 136 (3): 121-170
4. <http://www.saludarequipa.gob.pe/epidemiologia/Vigilancia/tipos%20de%20aranas%20venenosas%20pueden%20vivir%20en%20casa%20o%20cerca%20de%20ella.pdf>
5. [http://www.minsa.gob.pe/portada/prensa/mas\\_notas.asp?nota=11497](http://www.minsa.gob.pe/portada/prensa/mas_notas.asp?nota=11497)
6. VOLLRATH, F. Spider webs and silks. *Scient. Am.* . (1992); 266, 70–76.
7. KAPLAN, D., ADAMS. *Silk Polymers*. Washington, DC: American Chemical Society. (1994). 370pp.
8. WAINWRIGHT, S. A. *Mechanical Design in Organisms*. Princeton, NJ: Princeton University Press. (1982); 423pp.
9. IIZUKA, E.. Degree of crystallinity and modulus relationships of silk threads from *Bombyx mori*. *Biorheology* 3, (1965); 1–8.
10. COLORADO, A.C.. Análisis de biomateriales para uso en ingeniería de tejido de piel: *Revista Ingeniería Biomédica* ISSN 1909-9762 / Volumen 7 / Número 14 / Julio-Diciembre de 2013 / pp.11-23
11. RISING A.. Spider Silk Proteins – Mechanical Property and Gene Sequence, *Zoological Science*, 2005; 22(3), 273–281
12. WONG PO FOO. Genetic engineering of fibrous proteins: spider dragline silk and collagen. *Advanced drug delivery reviews*, (2002); 54(8), 1131–43
13. KON'KOV A. S. Biocompatible materials from regenerated silk for tissue engineering and medicinal therapy. *Applied Biochemistry and Microbiology* (2010);46(8), 739–744,
14. CANTÓ, J. Plinio, *Historia Natural* (2ª edición). Ediciones Cátedra, Madrid. 2007
15. LÓPEZ EIRE, A.. *Dioscórides Interactivo: sobre los remedios medicinales* – manuscrito de Salamanca. Ediciones Universidad de Salamanca,



- Salamanca. (2006) Disponible en: <http://dioscorides.usal.es/p2.php?numero=251> [última visita 11/09/2012].
16. ELICES CALAFAT, M. "Materiales biológicos y biomateriales" II Programa de Promoción de la Cultura Científica y Tecnológica. Horizontes Culturales. Las Fronteras de la Ciencia, pp. (1999) 113-125. Real Academia de Ciencias-Espasa
  17. ELICES CALAFAT, M. "Las arañas y sus telas. Un paradigma multidisciplinar" Discurso de ingreso pronunciado en acto de su toma de posesión como Académico de Número de la Real Academia de Doctores de España. Contestación del Excmo. Sr. Doctor D. Pedro García Barreno (2009)
  18. HAMB DEN C.T.. Shakespeare's son-in-law John Hall, man and physician. Archon Books, 1964.
  19. MARTÍNEZ-MURILLO. Mecanismos de activación de la coagulación. MG Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2006; 44 (Supl 2): 51-58
  20. J.A. PÁRAMO. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. REV MED UNIV NAVARRA/VOL 53, Nº 1, 2009, 19-23
  21. SAMAMA M. Coagulation. En: Physiologie et exploration de L'hémostase. Paris: Doin Editors; 1990. p. 79.
  22. FURIE B, FURIE BC. Molecular and cellular biology of blood coagulation. N Engl J Med 1992; 326: 800.
  23. MURANO G. Plasma protein function. En: Basic concepts of hemostasis and thrombosis. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1980. p. 43.
  24. ELICES CALAFAT, M. y col. (2011). Usos Médicos de la Seda. Investigación y Ciencia. 2011; 28-35.
  25. ROBERTS HR. Current Concepts of Hemostasis. Implications for Therapy. Anesthesiology 2004; 100: 722-730.
  26. MONROE DM. Transmission of a procoagulant signal from tissue factor-bearing cells to platelets. Blood Coagul Fibrinolysis 1996; 7: 459.
  27. ROBERTS HR. Newer concepts of blood coagulation. Haemophilia 1998; 4: 331-224.
  28. BAGLIA FA. The apple 1 and apple 4 domains of factor XI act synergistically to promote the surface mediated activation of factor XI by factor XIIa. Blood 1995; 85: 2078.

29. HENSCHEN A. Covalent structure of fibrinogen. Ann NY Acad Sci 1983; 408; 28-43.
30. HUBER P. Human  $\beta$ - fibrinogen gene expression. Upstream sequences involved in its tissue specific expression and its dexamethasone and interleukin-6 stimulation. J Biol Chem 1990; 265: 5695
31. BENITO y col. Manejo odontológico de pacientes con enfermedades hemorrágicas y terapia anticoagulante. Servicio de Odontología. "Área de Atención a Pacientes con Enfermedades Sistémicas". VOLUMEN 42 N° 2 / 2004.
32. DIAZ y col. Efecto coagulante de dos variedades de hoja de coca en muestras de sangre de ratas albinas. Odontol. Sanmarquina 2007; 10(1): 7-9
33. [www.actaodontologica.com/ediciones/2008/1/manejo\\_odontologico\\_paciente\\_terapia\\_antitrombotica.asp](http://www.actaodontologica.com/ediciones/2008/1/manejo_odontologico_paciente_terapia_antitrombotica.asp) Fundación Acta Odontológica Venezolana RIF: J-30675328-1 - ISSN: 0001-6365 - Caracas – Venezuela.
34. BAQUERO y col. Hemorragia en odontología. Salud dental, Medicina y Humanismo para el Odontólogo moderno. Año 5. Número 50. España. 2008
35. GONZALES y col. Las telarañas en la medicina popular española: historia reciente, vigencia y distribución geográfica de un recurso terapéutico. *Revista Ibérica de Aracnología*, nº 21 (31/12/2012): 169–174.
36. QUINTERO Parada E, Sabater Reolons MM, Chimenos Kustner E, López López J Hemostasia y tratamiento odontológico. Av Odontoestomatol v.20 n.5 Madrid set.-oct. 2004
37. PLINIO SEGUNDO, CAYO. Historia natural. Obra completa. Madrid: editorial gredos. ISBN 978-84-249-1684-8
38. WOLFGANG NENTWIG. Feeding ecology of the tropical spitting spider *Scytodes longipes* (Araneae, Scytodidae). Oecologia .January 1985, Volume 65, Issue 2, pp 284-288
39. [http://rockbugdesign.com/invert\\_ref/es/species/show/9/](http://rockbugdesign.com/invert_ref/es/species/show/9/)
40. LANDREH, ASKARIEH et al. A pH dependient dimer lock in Spider Silk Protein. Journal of Molecular Biology. Volume 404, Issue 2, November 2010. Pages 328 – 336

41. Instituto de Biologia. "Scytodes longipes " IBUNAM: CNAM; CNAN SIN 00168. UNIBIO: Colecciones Biológicas, 2010
42. ALTMAN, DIAZ et al. Silk based biomaterials. Biomateriales. Volume 24, Issue 3, February 2001, pages 401 -418
43. TABATAI, KAPLAN, et al. Rheology of reconstituted silk fibroin protein gels: the epitome of extreme mechanics. Soft Matter. Volume 1. Issue 4, 28 January 2015. Pages 756 – 761.
44. MATIAS. Caracterização molecular de proteínas de sedas de aranhas de biodiversidade brasileira. Universidade de Brasília. Dep. de Biologia celular. Prog. De Tese de Pós graduação em Biologia molecular.
45. ALLMELING. Use of spider silk fibres as an innovative material in a biocompatible artificial nerve conduit. J Cell Mol Med (2006);10 (3): 770
46. YONGZHONG. Stem cell – based tissue engineering with silk biomaterials. Biomaterials. (2006) VoL. 27, Issue 36: 6064 - 6082
47. WANG. Recent progres son silk fibroin as tissue engineering biomaterials. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wain Ke Za Zhi. (2008); 22(2) 192
48. RIVELINO. A teia de aranha. Ciencias das origens. (2003) 6:1 – 8
49. FLORENCE et al. Silkworms transformed with chimeria silkworm/spider silk genes spin composite silk fibers with improved mechanical properties. PNAS. (2012); 109 (3): 923 – 928.
50. RAKOCZ M. Dental extractions in patients with bleeding disorders. The use of fibrin glue. Oral Surg Oral Med oral Pathol. (1993); 75:280.
51. ZANON E. Proposal of a standart approach to dental extraction in haemophilia patients. A case control study with good results. Haemophilia. (2000); 6:533.
52. TENGBORN L. Inhibidores fibrinolíticos en el control de trastornos de la coagulación. Tratamiento de la Hemofilia. Federación Mundial de la Hemofilia. (2007) Abril 42:1-11
53. My Hedhammar. Structural Properties of Recombinant Nonrepetitive and Repetitive Parts of Major Ampullate Spidroin 1 from *Euprosthenois australis*: Implications for Fiber Formation. *Biochemistry*, 2008, 47 (11), pp 3407–3417

# **ANEXOS**

## ANEXO 01. FICHA DE REGISTRO DE DATOS Y CONTROL

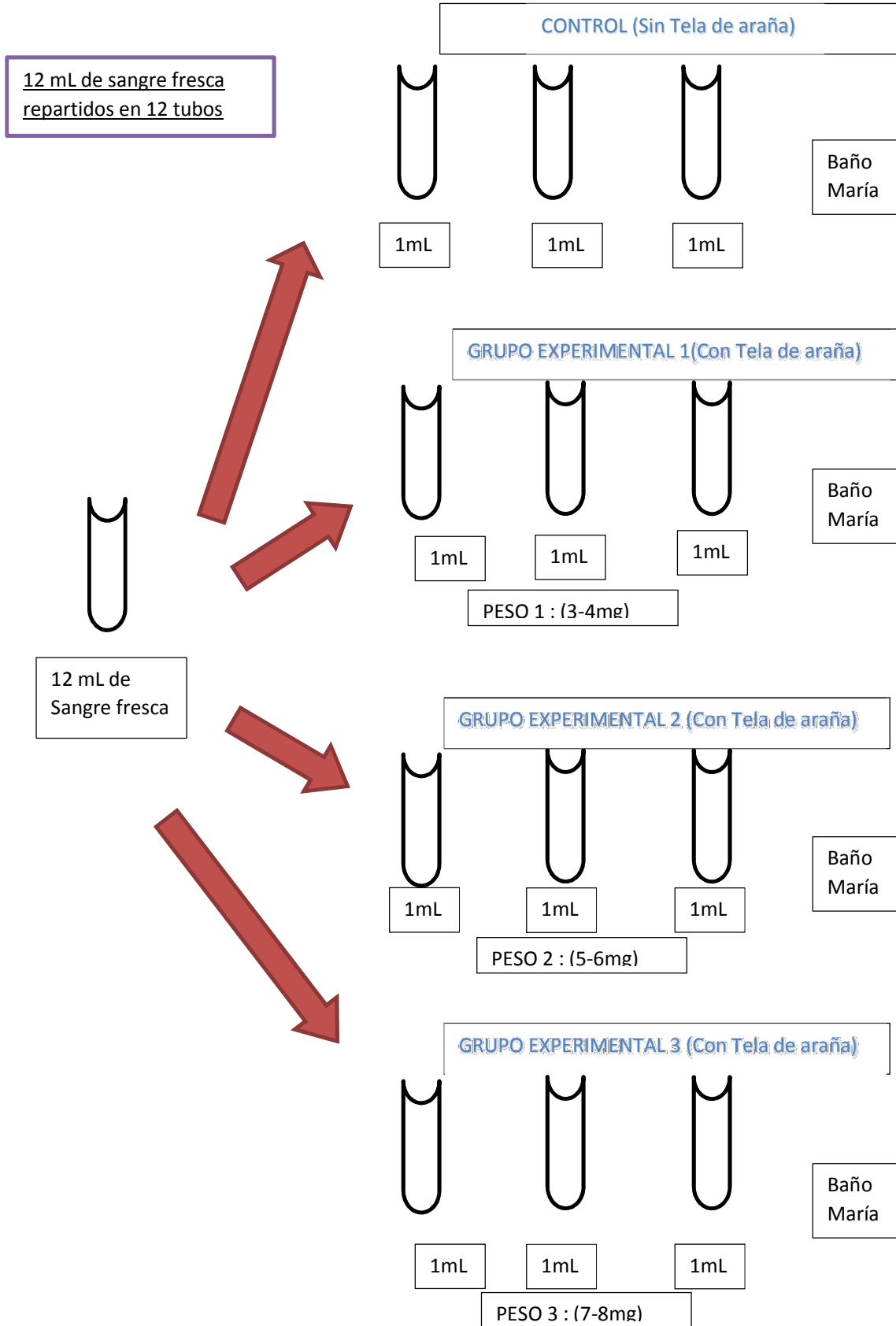
### TIEMPO DE COAGULACION EN SANGRE

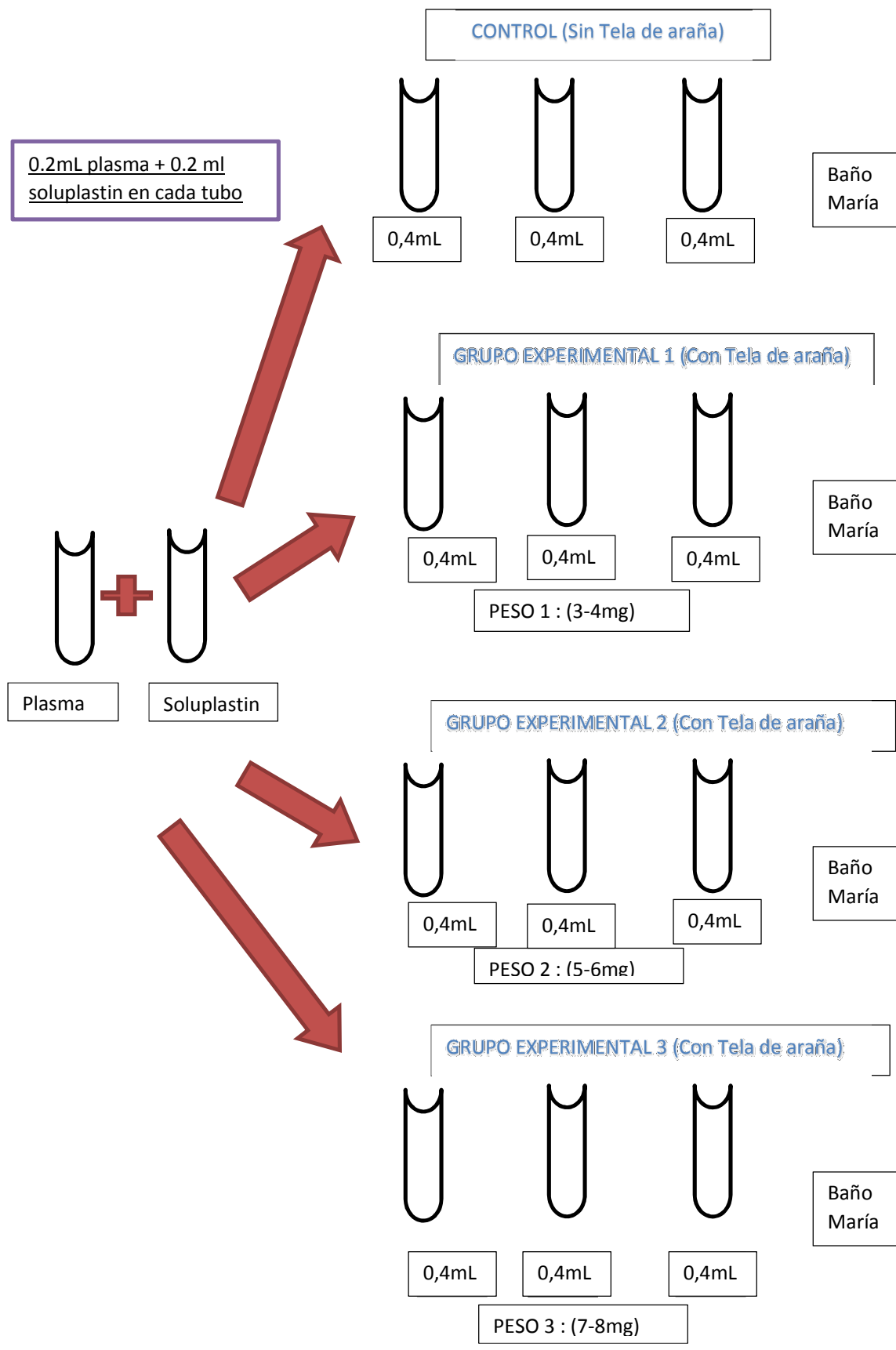
	TUBO 1	TUBO 2	TUBO3
CONTROL			
PESO 1 (3-4mg)			
PESO 2 (4-6 mg)			
PESO 3 (7-8 mg)			

### TIEMPO DE PROTROMBINA EN PLASMA

	TUBO 1	TUBO 2	TUBO3
CONTROL			
PESO 1 (3-4 mg)			
PESO 2 (5-6 mg)			
PESO 3 (7-8 mg)			

## ANEXO 02: ESQUEMA EXPERIMENTAL





### ANEXO 03: FOTOGRAFÍAS



Fig.01 Arañas de la especie *Scytodes longipes* cazadas en recipientes de plástico.





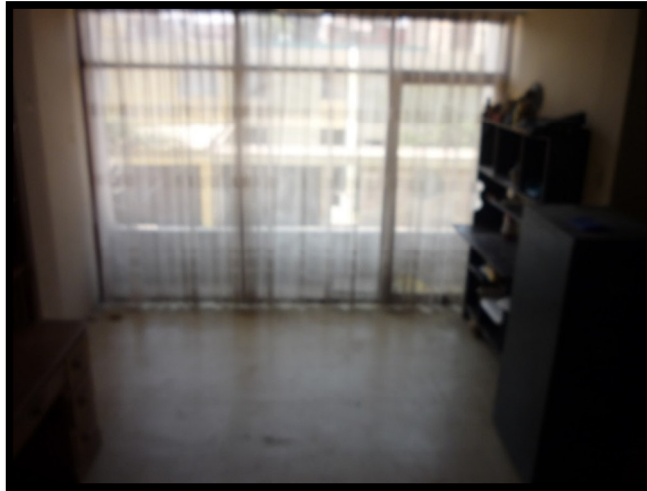


Fig.03 Habitación semidesocupada en la que se criaron las arañas *Scytodes longipes*



Fig.04 Tela de araña encontrada en la habitación luego de la colocación de las 5 arañas *Scytodes longipes*



Fig.05 Arañas adultas hembra y macho identificada con la especie *Scytodes longipes*



Fig.06 Araña adulta identificada con la especie *Scytodes longipes*



Fig.07 Arañas adultas identificada con la especie *Scytodes longipes*



Fig.08. Estereoscopio



Fig.09. Tela de araña en el estereoscopio



Fig.10. Tela de araña lista para su esterilización

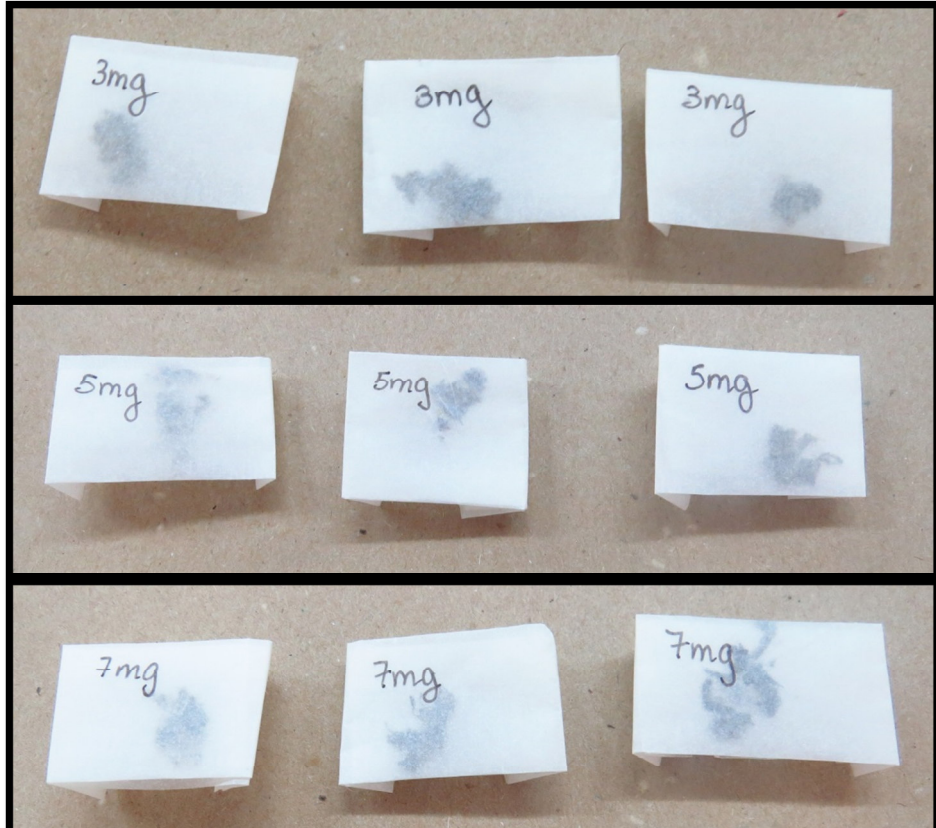


Fig.11. Tela de araña empaquetada y distribuida en sus 3 grupos de peso

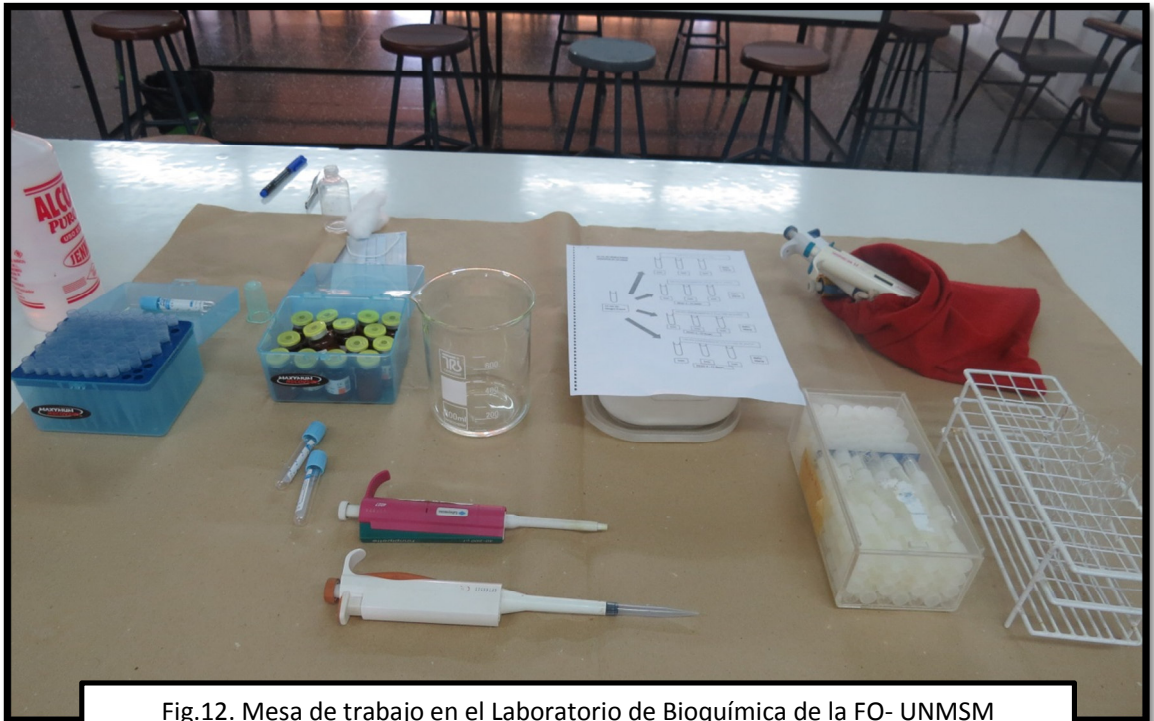


Fig.12. Mesa de trabajo en el Laboratorio de Bioquímica de la FO- UNMSM



Fig.13. Centrífuga para obtener el plasma



Fig.14. Tela d araña distribuida en los tubos de ensayo rotulados

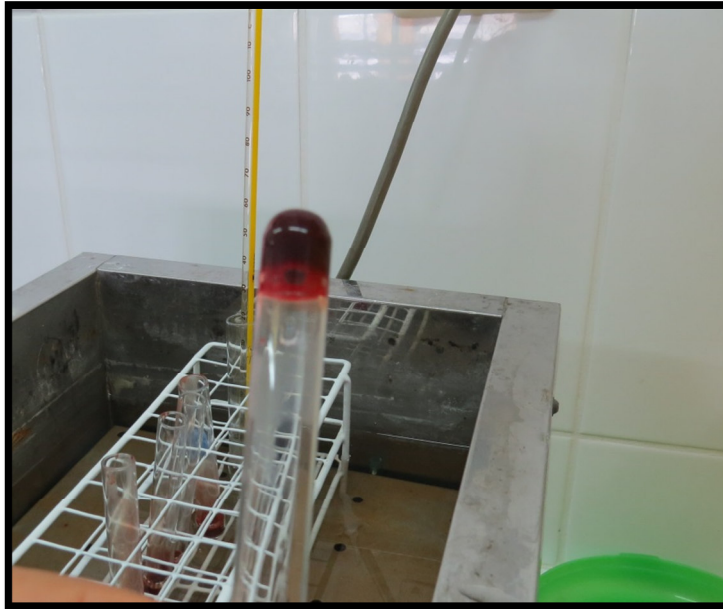


Fig.15. Muestra de sangre coagulada



Fig.16. Muestra de plasma coagulado

**ANEXO 04 : CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

**ANEXO : CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

La Bachiller Shamila Pastor Yataco, asesorada por el Dr. Luis Maita Veliz, lleva a cabo la investigación titulada "EVALUACIÓN DEL EFECTO COAGULANTE DE LA TELA DE LA ARAÑA *Scytodes longipes* APLICADA EN MUESTRAS DE SANGRE HUMANA" este estudio le servirá como tesis para obtener el título de Cirujano Dentista en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se realiza con el propósito de evaluar y demostrar si la tela de la araña *Scytodes longipes* posee un efecto pro coagulante en muestras de sangre humana. El procedimiento consiste en: extraer 42 ml de sangre de la vena del paciente.

La participación del paciente es totalmente voluntaria, si usted decide que no participar en el presente estudio o retirarse del mismo en cualquier momento, su decisión no lo afectará ahora ni el futuro. Además, por la participación, por ser voluntaria no recibirá ningún pago. Si existiera alguna duda o problema que se presente antes, durante o después del desarrollo de la investigación podrá contactarse con los responsables de la investigación: Shamila Pastor Yataco 944121069 o Luis Maita Veliz 983235680.


Por este medio, Yo Pastor Yataco, Pedro Dawshin estoy enterado(a) de todo el procedimiento que me realizará, y por medio de mi firma o huella digital confirmo que se me ha explicado satisfactoriamente el contenido de este consentimiento y de los procedimientos que se contemplan. Con mi firma y nombre al final de este documento, autorizó a la persona encargada del presente estudio.

Nombre: Pastor Yataco, Pedro Dawshin DNI: 42866554

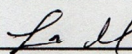
Firma 

Dirección: Los Zorales 295, Bellavista - Collo Teléfono: 562-1537

Nombre del investigador: Shamila Pastor Yataco DNI: 70438893

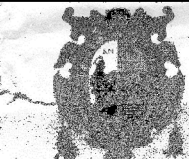


Firma del investigador: 

Lugar y fecha: Lab. Bioquímica FO-UNMSM (13-12-14)

Asesor:  Dr Luis Maita



**ANEXO 05: CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN DEL GÉNERO Y  
ESPECIE DE LAS ARAÑA USADAS EN LA INVESTIGACIÓN**

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b></p>	
<p>20 de agosto, 2014</p>		
<p><b>CONSTANCIA</b></p>		
<p>A QUIEN CORRESPONDA:</p>		
<p>Por la presente, yo, Diana Silva Dávila, miembro del Colegio de Biólogos del Perú y curadora de la Colección de Arácnidos del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (MUSM), certifico por la presente, lo siguiente:</p>		
<p>La señorita Shamla Pastor Yataco trajo al museo, con el fin de identificar la especie, ocho (8) ejemplares vivos de arañas en varios estadios: seis ejemplares juveniles y dos ejemplares adultos –un macho y una hembra, esta última con una bolsa de huevos, todas provenientes de una misma casa en Bellavista, Callao.</p>		
<p>Para proceder a la identificación se retuvieron los dos ejemplares adultos y se sacrificaron para examinar en detalle los caracteres genitálicos que permiten identificar la especie. Este examen demostró que los ejemplares pertenecen a la especie <i>Scytodes longipes</i> Lucas, 1844 (Araneae, Scytodidae).</p>		
<p>Para concluir, los ejemplares examinados están ahora preservados y depositados en la colección del MUSM a disposición de quien quiera examinarlos para propósito de estudio.</p>		
<p>Se expide la presente constancia para los fines que la interesada considere convenientes.</p>		
<p>Atentamente,</p>		
<p> Dra. Diana Silva Dávila, Ph.D. CRP 01435 Departamento de Entomología Museo de Historia Natural, UNMSM Av. Arenales 1256, Apartado 14-0434 Lima 14, Perú e-mail: <a href="mailto:dianasil@gmail.com">dianasil@gmail.com</a></p>		
<p>Av. Arenales 1256, Jesús María Apto. 14-0434, Lima 14, Perú</p>	<p>Teléfono: (511) 471-0117, 470-4471 470-7918, 6197000 anexo 5703</p>	<p>e-mail: <a href="mailto:museohn@unmsm.edu.pe">museohn@unmsm.edu.pe</a> <a href="http://museohn.unmsm.edu.pe">http://museohn.unmsm.edu.pe</a></p>

## ANEXO 06: ANÁLISIS DEL TIEMPO DE PROTROMBINA Y TROMBOPLASTINA DEL DONANTE DE SANGRE

Paciente : Pastor Yataco Pedro

Indicacion: Particular

No Historia

Edad:

Codigo:

Fecha:

ANÁLISIS	RESULTADO	VALORES DE REFERENCIA	UNIDADES
<b>SECCION: COAGULACION</b>			
TIEMPO DE PROTROMBINA	12	10 - 14	seg
INR	1.0		
T.TP	31	control:30 +/-10	seg

**Sobre el INR:**

Pacientes anticoagulados 2.0 3.0

Pacientes anticoagulados dosis altas: 2.5 4.0

Pacientes sin terapia anticoagulante 0.9 1.1

El INR tiene aplicación clínica en pacientes recibiendo tratamiento con warfarina.

Cuando se utiliza el tiempo de protrombina para el estudio de funcion hepatica o de coagulacion, es suficiente comparar el tiempo de protrombina del paciente con el control normal.

Nota: Este es un examen auxiliar, los resultados deben ser complementados con la interpretacion de un Medico tratante

**Dr Arturo Rodríguez Santolalla**  
CMP 9504 RNE 5960

**TM José Rodríguez Coral**  
CTMP 3119

Local Central: Av. Faucett 398 C.L. Reynoso - Callao Telf.:

- Rpc: 992741009 - 991743883  
Cel.: 985481859 Rpm: #419763