



Matricaria chamomilla (extracto acuoso) induce mejoría en lesiones tipo-dermatitis atópica en un modelo murino

Matricaria chamomilla (aqueous extract) improves atopic dermatitis-like lesions in a murine model

Raúl Julián Ortiz-Bautista,^a
Laura Lucelly García-González,^a
Marco Antonio Ocáiz-González,^a
Julia Flores-Tochihuitl,^b
Arturo García-Villaseñor,^a
Margarita González-Hernández,^a
Liliana Muñoz-Hernández,^c
María del Consuelo Ortiz-Figueroa,^a
Marisol Ramírez-Anaya,^a
Silvia Reyna-Téllez,^d
Octavio Villanueva-Sánchez^e

Introducción: Matricaria chamomilla L. (Mch), conocida popularmente como manzanilla, ha sido utilizada por cientos de años como remedio herbolario debido a su amplio espectro en cuanto a sus usos clínicos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de Mch asociada a un vehículo con función emoliente como tratamiento de lesiones tipo-dermatitis atópica (DA) en un modelo murino.

Métodos: se indujo DA con dinitroclorobenceno a 12 ratones BALB/c macho de siete semanas de edad, divididos en tres grupos (control, GC; control negativo, GCN y; experimental, GE). Se aplicó petróleo líquido al GCN y petróleo líquido con extracto acuoso de Mch al 7% al GE durante cuatro semanas. La inducción y evolución de las lesiones se corroboraron por biopsia a las dos y seis semanas, analizando sangre periférica en búsqueda de células inflamatorias en los mismos tiempos. Las lesiones fueron evaluadas clínicamente a las dos, cuatro y seis semanas. El rascado se evaluó de acuerdo a la metodología de observación de Kobayashi *et al.*

Resultados: el extracto acuoso liofilizado de Mch asociado a un vehículo con función emoliente demostró mejoría del aspecto de las lesiones tipo DA después de dos semanas.

Introduction: Matricaria Chamomilla L. (Mch), popularly known as chamomile, has been used for centuries as an herbal remedy due to its broad clinical spectrum. The aim of this study was to evaluate the effect of Mch associated to a vehicle with emollient function in induced atopic dermatitis (AD)-like lesions in a murine model.

Methodology: AD was induced with dinitrochlorobenzene on 12 male seven-week old BALB/c mice. Animals were divided in three groups (control, GC; control negative, GCN; and experimental, GE). Liquid petrolatum was applied to the GCN and liquid petrolatum with aqueous extract of Mch at 7% to the GE. Induction and evolution of the lesions were verified by biopsy at 2nd and 6th week. Evaluation of peripheral blood cells to correlate inflammatory cells was made as well at the same weeks. Lesions were clinically evaluated at 2nd, 4th and 6th week. Scratching was monitored according to the observation methodology of Kobayashi *et al.*

Results: Mch aqueous extract associated to a vehicle with emollient function improves atopic dermatitis-like lesions after two weeks.

Palabras clave

Matricaria
Dermatitis atópica
Modelos animales

Key words

Matricaria
Dermatitis, atopic
Models, animals

^aDepartamento de Ciencias de la Salud, Escuela de Ciencias, Universidad de las Américas Puebla, Puebla, México

^bFacultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México

^cDepartamento de Endocrinología y Metabolismo, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", Ciudad de México, México

^dDepartamento de Ciencias Químico-Biológicas, Escuela de Ciencias, Universidad de las Américas Puebla, Puebla, México

^eDepartamento de Nutrición Animal, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", Ciudad de México, México

Comunicación con: Raúl Julián Ortiz Bautista

Teléfono: (83) 3216 6689

Correo electrónico: rj.ortizbautista@gmail.com

Introducción

La dermatitis atópica (DA) es una enfermedad crónica, recidivante, eccematosa de la piel, caracterizada por prurito e inflamación, causada por estimulación inespecífica diversa y alérgenos específicos. Se acompaña de disfunción fisiológica cutánea, de xerosis y de trastornos en la barrera de la piel debido a anomalías de la epidermis¹. La terapia básica debe componerse del cuidado óptimo de la piel, abordando la disfunción de barrera de esta con el uso regular de emolientes y humectantes, los cuales representan el pilar del manejo general de la DA.^{2,3}

La práctica empírica de tratar tópicamente condiciones dermatológicas con medicinas derivadas de plantas, antecede a las culturas del antiguo Egipto y permanecen vitales hoy en día en países industrializados como Estados Unidos y Europa.⁴

Matricaria chamomilla L., conocida popularmente como manzanilla, ha sido utilizada por cientos de años como remedio herbolario, ya que tiene un amplio espectro en cuanto a sus usos clínicos, particularmente en síntomas del tracto gastrointestinal y en la inflamación oral y de la piel.⁵ Más de 120 componentes han sido identificados en sus flores.⁶ Los principales componentes del extracto puro oleoso son los terpenoides alfa-bisabol y sus óxidos A y B ($\leq 78\%$) y azulenos, incluido el camazuleno (1-15%).^{7,8,9,10,11} Las flores también son ricas en flavonoides, principalmente apigenina y en cantidades menores luteolina y quer cetina.¹²

El objetivo del presente trabajo fue comparar la eficacia del extracto acuoso liofilizado de *Matricaria chamomilla* asociado a un vehículo con función emoliente frente al mismo vehículo, como tratamiento para la DA inducida en un modelo murino.

Materiales y métodos

Animales

Se adquirieron 12 ratones macho BALB/c Hsd., con certificado SPF (Specific Pathogen Free), de siete semanas de vida, del Bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Para su mantenimiento se consideraron las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio que contempla la NOM-062-ZOO-1999,¹³ así como los criterios del punto final de experimentación de acuerdo con el Canadian Council on Animal Care.¹⁴ El protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética del Departamento de Ciencias de la Salud de la Universidad de las Américas Puebla.

Los ratones fueron divididos en tres grupos: control (GC), control negativo (GCN) y experimental (GE).

Extracto acuoso de *Matricaria chamomilla L.*

La fase acuosa fue obtenida mediante destilación por arrastre de vapor de las flores frescas de *Matricaria chamomilla*. Posteriormente, esta fase se liofilizó, se pulverizó y se añadió al petróleo líquido a una concentración de 7%. El extracto se analizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) para tratar de identificar los componentes principales de este extracto acuoso, ya que aunque hay informes de su composición química, la cantidad y calidad de sus componentes pueden cambiar dependiendo del cultivo.

Inducción de las lesiones tipo DA

Se aplicó 2,4-dinitroclorobenceno (DNCB) (diluido en una mezcla a razón de 4:1 de acetona y aceite de olivo) en la piel del dorso (aproximadamente 8 cm²) de todos los ratones. La primera semana se aplicaron 100 µL de DNCB al 1% dos veces al día, cada tercer día (dos veces por semana), para la sensibilización. En la segunda semana 100 µL de DNCB al 0.2% dos veces al día, cada tercer día (dos veces por semana), para reforzar la respuesta de inducción.

Intervención

Se aplicó petróleo líquido al GCN y petróleo líquido con extracto acuoso liofilizado de *Matricaria chamomilla L.* al 7% al GE una vez al día, seis días a la semana, durante cuatro semanas. El GC no recibió tratamiento.

Después de las dos semanas de inducción, previo a comenzar el tratamiento y al finalizar el mismo, se tomaron biopsias del dorso de los ratones, para corroborar el infiltrado inflamatorio inducido por el DNCB, así como para evaluar la intervención. El tejido fue conservado en formol al 10% para su posterior procesamiento y tinción con hematoxilina-eosina. De forma paralela, se tomaron hasta 250 µL de sangre del seno retroorbital de cada uno de los ratones, para analizar la cuenta total y diferencial de leucocitos mediante citometría de flujo. Los procedimientos se realizaron en condiciones de asepsia y bajo anestesia con ketamina (87.5 mg/Kg)/xilacina (12.5 mg/Kg). Uno de los ratones del GCN murió durante el procedimiento anestésico. El rascado se evaluó de acuerdo a la metodología de observación de Kobayashi, Takahashi y Ogino (2005),¹⁵ la cual evalúa la conducta de rascado, tomando a esta como el movimiento, generalmente circular, que realiza el ratón con los miembros poste-

riores, sobre la superficie corporal y la cual dura como mínimo un segundo por evento. Se evaluó a cada ratón durante 30 minutos, el primer día inmediato a las dos semanas de inducción -previo al inicio del tratamiento- y el día 21 posterior a la aplicación de tratamiento. Las observaciones se realizaron con videocámara entre las 9:30 h y las 12:30 h para su posterior análisis y se tomaron en cuenta todos los aspectos que podían interferir con la evaluación conductual (hora del día, iluminación, ruido, humedad, olores, etc.). Las lesiones tipo DA fueron evaluadas clínicamente con el Ulcerative Dermatitis Scoring System (UDSS) de Hampton *t al.*¹⁶ Este evalúa el número de eventos de rascado, las características clínicas de la lesión, la longitud de la lesión y la región afectada.

Análisis estadístico

Las variables no dimensionales (cualitativas) se describieron como frecuencias y porcentajes, las variables dimensionales (cuantitativas) como media y desviación estándar. Se utilizó ANOVA para buscar diferencias entre los grupos, así como t pareada para buscar diferencias entre el antes y después del tratamiento. Se usó el paquete Stata versión 11.

Resultados

Composición del extracto acuoso de *Matricaria chamomilla L.*

El análisis por HPLC del extracto acuoso, reveló la presencia de cinco componentes, de los cuales se identificaron los dos que se encontraban en mayor concentración que correspondieron a apigenina y ácido cafeico.

Hallazgos histopatológicos

Después de las dos semanas de inducción el 50% (2/4) de los ratones del GC presentó datos histopatológicos compatibles con DA leve, el 25% (1/4) con DA moderada y el otro 25% (1/4) con DA grave. Después de cuatro semanas de tratamiento, de los que presentaron DA leve, el 50% permaneció sin cambios y el otro 50% progresó a la normalidad, el 100% de los que presentó DA moderada evolucionó a DA leve y el 100% de los que presentó DA grave progresó a DA leve, por lo que el 75% de los ratones de este grupo mostró mejoría. El 66.6% (2/3) de los ratones del GCN presentó datos histopatológicos compatibles con DA leve y el 33.3% (1/3) se encontró como normal, después de la inducción. Cuatro

Cuadro I Hallazgos histopatológicos antes y después de la intervención

Grupo	Ratón	Diagnóstico histopatológico	
		Biopsia 1	Biopsia 2
Control	1	DA leve	DA leve
	2	DA moderada	DA leve
	3	DA leve	Normal
	4	DA grave	DA leve
Control negativo	1	DA leve	DA moderada
	2	DA leve	DA moderada
	3	Normal	DA leve
Experimental	1	DA grave	DA leve
	2	DA leve	DA moderada
	3	DA leve	DA moderada
	4	DA moderada	DA leve

semanas después, el 100% de los que presentaron DA leve progresó a DA moderada y en aquellos en los cuales el diagnóstico fue dado como normal, evolucionaron a DA leve. Ningún ratón de este grupo mostró mejoría, todos evolucionaron desfavorablemente respecto a la gravedad. El 50% (2/4) de los ratones del GE después de dos semanas de inducción presentó datos histopatológicos compatibles con DA leve, el 25% (1/4) con DA moderada y el 25% (1/4) con DA grave. Después de cuatro semanas de tratamiento, el 100% de los que presentaron DA leve progresó a DA moderada, el 100% de los que presentaron DA moderada progresó a DA leve y el 100% de los que presentaron DA grave evolucionó a DA leve. El 50% de los ratones de este grupo mostró mejoría (cuadro I).

Parámetros hematológicos de la serie blanca

Después de la inducción, la cuenta total leucocitaria de todos los grupos se encontró en rangos normales y no se encontraron diferencias significativas entre los grupos, sin embargo, todos los grupos presentaron valores fuera del rango normal para cada línea celular de la diferencial, según rangos publicados para la cepa.¹⁷ Despues del tratamiento no se encontraron diferencias significativas entre los grupos (cuadro II).

Evaluación conductual

Se encontró un menor número de episodios de rascado en el GC ($p = 0.05$) después de 21 días de tratamiento en comparación con el GCN y el GE (cuadro III).

Cuadro II Delta de cambio entre los parámetros hematológicos de la seria blanca después de cuatro semanas de tratamiento

Grupo Parámetro	Control (n = 4)	Control negativo (n = 3)	Experimental (n = 4)	p
Leucocitos / μ l	0.12 ± 0.25	0.42 ± 0.21	0.21 ± 0.36	0.44
Linfocitos / μ l	0.54 ± 0.20	0.66 ± 0.39	0.29 ± 0.26	0.27
Monocitos / μ l	1.31	0.66	0.31 ± .24	0.28
Neutrófilos / μ l	-1.07 ± 0.11	-0.44 ± 0.34	0.04 ± 0.82	0.06
Eosinófilos / μ l	*	*	*	*
Basófilos / μ l	*	*	*	*

Datos reportados en media y DE (valores absolutos). Se usó ANOVA para buscar diferencia entre los grupos. Cuando no se reporta DE es debido a observaciones únicas. *Observaciones insuficientes

Evaluación clínica de las lesiones tipo DA

Después de las dos semanas de inducción, el 100% (4/4) de los ratones del GC presentó DA grave. Después de dos semanas de tratamiento, el 50% de estos progresó a DA leve y el otro 50% a la normalidad, por lo que después de dos semanas todos los ratones presentaron mejoría. En el GCN, el 33.3% (1/3) de los ratones presentó DA grave y el 66.6% (2/3) presentó DA moderada después de las dos semanas de inducción. Después de dos semanas de tratamiento, los ratones que habían presentado DA grave progresaron a DA leve. De los que habían presentado DA moderada, el 50% progresó a DA leve y el otro 50% progresó a la normalidad, por lo que después de dos semanas, todos los ratones de este grupo también presentaron mejoría. Respecto al GE, el 75% (3/4) de los ratones presentó DA grave y el 25% (1/4) DA leve después de la inducción. Luego de dos semanas de tratamiento el 33.3% de los que presentó DA grave, progresó a DA moderada, mientras que el 66.6% progresó a la normalidad. El 25% que había presentado DA leve progresó a la normalidad, por lo que después de dos semanas de tratamiento, todos los ratones del GE presentaron mejoría. En este orden, cuando se analizan los resultados entre la primera y tercera evaluación, el GC presentó una mejoría del 100% frente al

GCN con 66.6% frente al GE con 50% (cuadro IV). Sin embargo, a pesar de que se observó mejoría clínica en todos los grupos después de dos semanas de tratamiento, independientemente al grado de intensidad de la DA encontrada en la Evaluación 1, el 50% de los ratones del GC evolucionó a la normalidad, el 33.3% de los ratones del GCN evolucionó a la normalidad y el 75% de los ratones del GE evolucionó a la normalidad, por lo que después de dos semanas se observó una mejoría mayor hacia la normalidad a favor del GE, tratado este con el extracto acuoso de *Matricaria chamomilla L* (figura 1).

Discusión

Respecto al vehículo, este fue seleccionado con base en sus propiedades químicas y de compatibilidad con el extracto, además de sus propiedades clínicas como emoliente.

Sobre la composición del extracto, era esperable encontrar apigenina, pues las flores de *Matricaria chamomilla L*. son ricas en flavonoides, especialmente en este.¹² Se ha demostrado que la administración tópica de apigenina inhibe la inflamación aguda de la piel en modelos murinos.¹⁸ Por otra parte, el ácido cafeico es un compuesto fenólico que se encuentra en todas

Cuadro III Frecuencia de rascado de los grupos entre la primera y segunda evaluación

Grupo	Evaluación 1	Evaluación 2	Mejoría (%)	p
Control	8.6 ± 2.8	0.75 ± 0.95	91.2	0.05
Control negativo	3.3 ± 4	6 ± 8.71	-81.8	0.71
Experimental	8.5 ± 11	5 ± 7.5	41.2	0.64

Número de episodios reportados en media y DE. Se realizó t pareada para buscar significancia

Cuadro IV Resumen de las tres evaluaciones clínicas

Grupo	Ratón	Evaluación 1	Evaluación 2	Evaluación 3
Control	1	DA grave	Normal	DA leve
	2	DA grave	DA leve	Normal
	3	DA grave	DA leve	Normal
	4	DA grave	Normal	Normal
Control negativo	1	DA grave	DA leve	DA leve
	2	DA moderada	DA leve	DA leve
	3	DA moderada	DA normal	DA moderada
Experimental	1	DA grave	DA normal	DA leve
	2	DA leve	DA normal	DA leve
	3	DA grave	DA moderada	DA moderada
	4	DA grave	Normal	DA grave

La Evaluación 1 se realizó previo al inicio del tratamiento, la Evaluación 2 se realizó dos semanas postratamiento, y la Evaluación 3 se realizó cuatro semanas postratamiento, al final del estudio. Nótese que el grado de mejoría fue variable dentro de un mismo grupo

las plantas debido a que es un intermediario clave en la biosíntesis de la lignina, polímero presente en las paredes celulares de todas las plantas.¹⁹ El ácido cafeico ha demostrado actividad antioxidante, inmnomoduladora y antiinflamatoria, in vitro e in vivo, sin embargo estos efectos farmacológicos no han sido demostrados en ensayos clínicos en humanos.^{20,21}

En la evaluación histopatológica se encontraron datos inflamatorios a nivel de la epidermis (hiperplasia y espongiosis) y la dermis (infiltardo leucocitario), compatibles con lesiones agudas de una dermatitis por contacto, por tratarse de un modelo de inducción con haptenos; sin embargo, por ser un modelo murino validado para DA, los reportes histopatológicos fueron hechos en el entendido de esta validación. Llama la atención que en la primera evaluación no todos los ratones presentaron el mismo grado de DA. De igual forma, la diferencia en el grado de la respuesta en cada sujeto de experimentación, siendo estos singénicos, obedece en ambos casos -quizá- a la variabilidad genética entre ellos. Otro aspecto que influye en la respuesta es el estrés, generado por la competencia de dominancia dentro del grupo; este sin duda implica una respuesta inmunitaria en cada ratón y por tanto en el proceso inflamatorio.²² Respecto a los hallazgos, consideramos que *Matricaria chamomilla L.*, sí tiene actividad benéfica -aunque limitada- en la entidad en estudio, de lo contrario, el GE hubiera arrojado los mismos resultados del GCN. No obstante los resultados obtenidos no concuerdan con los hallazgos histopatológicos obtenidos por Soon-Hee, Yong He & Young-Chul (2010),²³ donde después de cuan-

tro semanas de aplicación tópica de extracto oleoso de *Matricaria Chamomilla L.* al 3%, en ratones a los cuales se les indujeron lesiones tipo DA, la infiltración de células inflamatorias tales como neutrófilos y linfocitos, así como hiperplasia de la epidermis, fueron significativamente menores comparados contra el grupo control. Aquí cabe hacer mención sobre las diferencias en los principios activos, dependiendo del tipo de extracto (oleoso frente a acuoso) a pesar de ser estos de la misma planta.

Para la evaluación clínica de las lesiones tipo DA se utilizó el sistema de puntuación ya mencionado, pues actualmente no se dispone de ningún instrumento validado para evaluar lesiones tipo DA en modelos murinos. El sistema utilizado tampoco dispone rangos de puntuación para clasificar la dermatitis ulcerativa en leve, moderada y grave, más bien determinan a partir de un análisis de supervivencia Kaplan-Meyer, que los ratones con ≥ 75 puntos en el UDSS, desarrollaron en algún momento una lesión ulcerativa terminal, por lo cual requirieron eutanasia.¹⁶ En este sentido, adecuamos la puntuación de la siguiente manera: (1) no tomamos en cuenta el elemento de Número de raspados del UDSS, ya que en dicho sistema se evalúa este elemento en un periodo de 2 minutos; nosotros lo evaluamos durante 30 minutos, (2) solo se tomaron en cuenta las características de la lesión, la longitud de la lesión y la región afectada. Cada uno de estos elementos asigna un puntaje de 0 a 3, según los criterios del UDSS. Por ejemplo, si se asumía que la lesión inducida se expresaría en la forma leve en cada uno de los ítems, le correspondía 1 punto al ítem de

Figura 1 Evaluación clínica de los ratones (R, 1-4) del grupo experimental, antes de iniciar tratamiento (Evaluación 1) y dos semanas después de recibir tratamiento (Evaluación 2)



Características de la lesión, 1 punto al ítem de Longitud de la lesión y 1 punto al ítem de la Región afectada; sumando en total 3 puntos. Para el cálculo total de la gravedad, se suman los puntos de cada ítem y se divide entre 9 (que corresponde al total de puntos posibles) y esto se multiplica por 100: $3/9 \times 100 = 33$; por lo que por acuerdo, un puntaje entre 0 y 33, correspondería a un estadio leve de gravedad. Así, los rangos de gravedad quedaron en leve (0-33), moderado (34-66) y grave (67-100). Lo anterior, nos permitió realizar los ajustes de puntuación al estudio, pues el estadio grave (entre 67 y 100 puntos), es mutuamente incluyente con el puntaje de Hampton et al. (≥ 75 puntos), considerado por Hampton como grave.

Respecto a la mejoría clínica reportada en este estudio, concuerda -al menos en temporalidad- con el

estudio parcial, aleatorizado y doble ciego “Proof of efficacy of Kamillosan(R) cream in atopic eczema” de la casa farmacéutica Astra Medica, donde tras dos semanas de tratamiento en sujetos con DA moderada, la crema Kamillosan mostró una eficacia ligeramente superior a la hidrocortisona al 0.5% y una sumamente distinta a la del placebo.²⁴

Cabe mencionar que la discrepancia entre el diagnóstico histopatológico de las lesiones tipo DA leve y el diagnóstico clínico de normalidad, puede deberse a la interpretación subjetiva del infiltrado de leucocitos que el patólogo refiere como leve (por el solo hecho de observar escasos elementos leucocitarios), pero que no tiene significado clínicamente, dado que es un proceso en vías de resolución.

Sobre las alteraciones encontradas en cada línea de la diferencial de la serie hematológica después de la inducción con DNCB, no existe evidencia en la literatura consultada, por lo que bien pueden ser por efecto del DNCB (efecto sistémico secundario a la aplicación tópica de este), o bien por el anestésico usado durante los procedimientos. Para esclarecer lo anterior son necesarias otras técnicas y procedimientos, los cuales exceden los propósitos del presente estudio. Nuestros resultados, respecto a la cuenta leucocitaria y su diferencial después de cuatro semanas de tratamiento, tampoco concuerdan con los hallazgos de Soon-Hee, Yong He & Young-Chul (2010) quienes reportan una disminución significativa ($p < 0.05$) de esta,²³ acotando nuevamente que la discrepancia de nuestros resultados se deban a las diferencias de los principios activos del tipo de extracto utilizado, oleoso frente a acuoso.

Soon-Hee, Yong He & Young-Chul (2010) reportan que al día 21, el grupo al cual se le aplicó aceite de *Matricaria chamomilla L.* y al cual se le aplicó el vehículo (aceite de jojoba), presentaron un menor número de episodios de rascado (45% y 19% respectivamente) comparado con el grupo control. También mencionan que la frecuencia de rascado entre el grupo experimental frente al grupo del vehículo fue menor (32%).²³ En nuestro caso, fue el GC quien obtuvo un mayor porcentaje de mejoría respecto al rascado. Consideramos que para esclarecer el porqué de nuestros hallazgos hubiera sido necesario un grupo testigo.

Los resultados obtenidos en la evaluación conductual se correlacionan con los hallazgos histopatológicos, donde el GC mejoró más que el GCN y que el GE, por lo que era esperable que este grupo presentara menos episodios de rascado. Tanto en la evaluación histopatológica como en la evaluación conductual, el GCN evolucionó desfavorablemente presentando progresión de las lesiones y un mayor número de episodios de rascado. El porcentaje de mejoría del GE fue similar histopatológicamente y en la evaluación conductual, 50% y 41.2% respectivamente.

Conclusiones

El extracto acuoso liofilizado de *Matricaria chamomilla* asociado a un vehículo con función emoliente demostró mejoría del aspecto de las lesiones tipo DA después de dos semanas, sin embargo no mostró ser superior en otros subrogados de mejoría como el número de rascados.

Puede afirmarse que la eficacia de un producto herbolario depende de su composición, concentración, método de extracción, dosis, subespecie elegida, con-

diciones del crecimiento de la planta, tiempo de cultivo y de la selección apropiada de la planta,²⁵ estudios posteriores deben dirigirse a investigar estos factores, cuya elucidación en el efecto terapéutico en la DA ayudará a tomar decisiones en la práctica clínica.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno que tuviera relación con este artículo.

Referencias

1. Saeki H, Furue M, Furukawa F, Hide M, Ohtsuki M, Katayama I et al. Guidelines for management of atopic dermatitis. *J Dermatol.* 2009;36(10):563-577.
2. Loden M. Role of topical emollients and moisturizers in the treatment of dry skin barrier disorders. *Am J Clin Dermatol.* 2003;4(11):771-788.
3. McHenry PM, Williams HC, Bingham EA. Management of atopic eczema: Joint Workshop of the British Association of Dermatologists and the Research Unit of the Royal College of Physicians of London. *BMJ.* 1995;310(6983):843-847.
4. Brown DJ, Dattner AM. Phytotherapeutic Approaches to common dermatologic conditions. *Arch Dermatol.* 1998;134(11):1401-1404.
5. Bisset NG, Wichtl M. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. Second edition. Florida, USA: CRC Press; 2001.
6. Pino JA, Bayat F, Marbot R, Aguero J. Essential oil of chamomile *Chamomilla recutita* (L.) Rausch. from Iran. *J Essent Oil Res.* 2002;14:407-408.
7. Pino JA, Marbot R, Aguero J, Fuentes V. Essential oil of chamomile *Chamomilla recutita* (L.) Rausch. from Cuba. *J Essent Oil Bear Pl.* 2000;3(1):1-3.
8. Mann C, Staba EJ. The chemistry, pharmacology, and commercial formulations of Chamomile. En: Herbs, Spices, and Medicinal Plants: Recent Advances in Botany, Horticulture, and Pharmacology. Volumen 1. Phoenix, USA: Oryx Press; 1986.
9. Matos FJA, Machado MIL, Alencar JW, Craveiro AA. Constituents of Brazilian chamomile oil. *J Essent Oil Res.* 1993;5(3):337-339.
10. Mimica-Dukic N, Lukic V, Pavkov R, Gasic O. Study of chemical composition and microbiological contamination of chamomile tea. *Acta Hort.* 1993;333:137-141.
11. Stanev S, Zheljazkov V, Janculoff Y. Variation of chemical compounds in the essential oil from some native forms of chamomile (*Chamomilla recutita* L.). *Beitr Zuchungsforschung.* 1996;2:214-217.
12. Eisenburg DM, Kessler RC, Foster C, Norlock FE, Calkins DR, Delbanco TL. Unconventional medicine in the United States. Prevalence, costs and pattern uses. *N Engl J Med.* 1993;328(4):246-252.
13. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Recuperada el 1 de enero de 2012. Disponible en: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF>
14. Canadian Council on Animal Care guidelines on: Choosing appropriate endpoint in experiments using animals for research, teaching and testing. 1998. Recuperada el 1 de enero de 2012. Disponible en: http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Appropriate_endpoint.pdf
15. Kobayashi Y, Takahashi R, Ogino F. Antipruritic effect of the single oral administration of German chamomile flower extract and its combined effect with antiallergic agents in ddY mice. *J Ethnopharmacol.* 2005;101(1-3):308-312.
16. Hampton AL, Hish GA, Aslam MN, Rothman ED, Bergin IL, Patterson KA et al. Progression of Ulcerative Dermatitis Lesions in C57BL/6Crl Mice and the Development of a Scoring System for Dermatitis Lesions. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2012;51(5):586-593.
17. Harlan Laboratories, Inc. BALB/c. Bagg's Albino. 2008. Recuperado el 1 de enero de 2012. Disponible en: www.harlan.com
18. Man MQ, Hupe M, Sun R, Man G, Mauro TM, Elias PM. Apigenin Alleviates Cutaneous Inflammation in Murine Models. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012;1-7.
19. Boerjan W, Ralph J, Baucher M. Lignin Biosynthesis. *Annu Rev Plant Biol.* 2003;54:519-546.
20. Olthof MR, Hollman PCH, Katan MB. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J Nutr.* 2001;131(1):66-71.
21. Wood M. Nuts' new aflatoxin fighter: Caffeic acid? *Agricultural Research.* 2006;54(10):9
22. Sharp JL, Zammit TG, Azar TA, Lawson DM. Stress-like responses to common procedures in male rats housed alone or with other rats. *Contemporary Topics.* 2002;41(4):8-14.
23. Soon-Hee L, Yong H, Young-Chul K. Effect of German chamomile oil application on alleviating atopic dermatitis-like immune alterations in mice. *J Vet Sci.* 2010;11(1):35-41.
24. Patzelt-Wenzler R, Ponce-Pöschl E. Proof of efficacy of Kamillosan(R) cream in atopic eczema. *Eur J Med Res.* 2000;5(4):171-175.
25. Dattner AM. From medical herbalism to phytotherapy in dermatology: back to the future. *Dermatol Ther.* 2004;16(2):106-113.