

## **Efecto *in vitro* de la *Matricaria recutita L.* sobre la respuesta de linfocitos y neutrófilos**

### **In vitro effect of *Matricaria recutita L.* on Lymphocytes and Neutrophils response**

**Lic. Lázaro del Valle-Pérez, DraCs. Consuelo Macías-Abraham, Lic. Bertha Beatriz Socarrás-Ferrer, Dra. Vianed Marsán-Suárez, Dra. Miriam Sánchez-Segura, Lic. Lourdes Palma-Salgado, Dra. Rosa María Lam-Díaz**

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

---

#### **RESUMEN**

La manzanilla de Castilla, dulce o cimarrona (*Matricaria recutita* o *Matricaria chamomilla*), es una planta herbácea anual de la familia de las asteráceas, nativa de Europa y de regiones templadas de Asia, que se ha naturalizado en algunas regiones de América, África y Australia. Ha sido utilizada por el hombre desde hace miles de años con diferentes fines medicinales. Se estudió el efecto *in vitro* de un extracto fluido de esta planta sobre los linfocitos de 20 donantes voluntarios de sangre y de 20 enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular, mediante la cuantificación de los linfocitos T por las técnicas de formación de roseta espontánea y activa y el ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ), así como la función fagocítica (índice opsonofagocítico) de los neutrófilos. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros estudiados entre las condiciones experimentales con *Matricaria* y sin esta.

**Palabras clave:** Manzanilla, *Matricaria recutita L.*, roseta activa y espontánea, índice opsonofagocítico, UMICIQ, CD2, CD3.

---

#### **ABSTRACTS**

Castilla Chamomile, sweet, or maroon (*Matricaria recutita* or *Matricaria chamomilla*) is an annual herbaceous plant of the Asteraceae family, native to Europe and temperate zones of Asia, which has become naturalized in parts of America, Africa, and Australia. It has been used by man for thousands of years with different medicinal purposes. We studied

---

the *in vitro* effect of an extract fluid of this plant on lymphocytes from 20 blood donors and 20 patients with a diagnosis of cellular immunodeficiency. We quantified T lymphocytes by the techniques of spontaneous and active rosette formation, and the immunocytochemical ultramicromethod (UMICIQ) as well as the phagocytic function (opsonophagocytic index) of neutrophils. There were no statistically significant differences in the studied parameters between experimental conditions with Matricaria and without it.

**Key words:** Chamomile, *Matricaria recutita L.*, spontaneous and active rosette, opsonophagocytic index, UMICIQ, CD2, CD3.

---

## INTRODUCCIÓN

La manzanilla de Castilla, dulce o cimarrona (*Matricaria recutita* o *Matricaria chamomilla*) (MR), es una planta herbácea anual de la familia de las asteráceas, nativa de Europa y de regiones templadas de Asia y se ha naturalizado en algunas regiones de América, África y Australia. Es una planta con tallo cilíndrico, erguido, ramoso, de hasta 50 o 60 cm de altura. Presenta hojas alternas y sésiles. En posición terminal, presenta en verano una inflorescencia en forma de capítulo paniculado. Las flores radiales son unas 20, con la lígula blanca, mientras que las del disco son numerosas, hermafroditas; el receptáculo es hueco y carece de escamas. Las flores son un poco amargas y fragantes. Desde hace miles de años, ha sido utilizada por el hombre con diferentes fines medicinales.<sup>1,2</sup>

Se emplea medicinalmente como antiinflamatoria, antiespasmódica ansiolítica sin relajación muscular. El aceite esencial se halla entre el 0,4 y el 1,0 % de la planta fresca. Contiene sesquiterpenoides (1-alfa-bisabolol y derivados: bisabolóxidos A, B y C, bisabonolóxido A), antecotulide, camazuleno, lactosas sesquiterpénicas, carburos terpénicos, (cadineno, cis-espiro-éter y trans-espiro-éter, farneseno), flavonoides (apigenina, luteolina, quer cetina y patuletina), cumarinas (dioxicumarina, herniarina, umbeliferona), resinas (triacontano, fitosterina), ácido valeriánico y fenoles.<sup>2-10</sup>

Se ha informado en la literatura médica de una serie de efectos beneficiosos de la MR en animales y en ensayos *in vitro*, pero los ensayos clínicos en humanos deben continuarse para llegar a resultados concluyentes.<sup>11</sup>

La MR llegó a Cuba como droga seca desde Europa hasta que en 1939, el sabio botánico *Juan Tomás Roig* inició su cultivo de forma experimental para su posterior cultivo en la isla. La MR ha sido empleada en la fabricación de cosméticos, jabones, champús y tintes, a los que añade sus propiedades específicas, sus potencialidades colorantes y bactericidas. Puede provocar dermatitis de contacto en personas sensibles y se han informado casos de anafilaxis entre alérgicos, así como interacciones con la warfarina.<sup>1,12-14</sup>

Los estudios de respuesta de genotoxicidad en ensayos *in vivo* e *in vitro* con la MR han sido negativos.<sup>15</sup>

La MR aparece entre las especies de plantas medicinales aprobadas por el Ministerio de Salud Pública de Cuba y se le reconocen propiedades terapéuticas como sedante, antiinfeccioso, antifúngico y antiinflamatorio, tanto en aplicación tópica como oral.<sup>2</sup>

Este trabajo se realizó para determinar el efecto *in vitro* de una tintura de MR sobre los linfocitos y neutrófilos humanos en individuos sanos y con diagnóstico previo de inmunodeficiencia o déficit celular.

## MÉTODOS

Se estudió el efecto *in vitro* de la MR sobre los linfocitos procedentes de 20 donantes voluntarios de sangre y 20 enfermos con déficit de la inmunidad celular que no habían recibido medicamento en el mes anterior a la obtención de la muestra. Los 20 pacientes seleccionados para este estudio habían sido diagnosticados previamente en el Instituto de Hematología e Inmunología con un déficit de la inmunidad celular, por presentar en el cuadro clínico infecciones frecuentes y alteraciones de los valores normales de linfocitos T y del índice opsonofagocítico (FF) de los neutrófilos a la *Candida albicans*.

A cada paciente se les extrajeron 15 mL de sangre heparinizada (15 UI/mL) con jeringuillas plásticas desechables. El aislamiento de células mononucleares se efectuó según el método de Böyum modificado, sobre un gradiente de Ficoll-Paque Plus (densidad 1,077 g/mL) (GE Healthcare, Suecia).<sup>16</sup>

### Preparación de la solución de MR

Tintura de manzanilla 20 %, (Lote 509006, Centro de Producción Local de Medicina del Cerro. Se esterilizaron 10 mL de la tintura (filtro 0,2 m, NALGENE, EE. UU.).

Para evaluar la respuesta de la MR sobre la viabilidad de los linfocitos y neutrófilos se utilizó la técnica de exclusión del azul tripán sin exposición a las diluciones de MR y con diluciones dobles de este producto desde 1:2 hasta 1:4096, durante 24 horas a 4 C. La viabilidad celular estuvo disminuida hasta la dilución 1:128 y a partir de ella fue superior al 95 %. Se ensayaron todos los experimentos con la MR, dilución 1:256, que se consideró como óptima.

La determinación de la expresión de los antígenos de membrana linfocitaria CD2 y CD3, la formación de roseta espontánea (RE) y activa (RA) y el estudio de la función fagocítica (FF) frente a la *Candida albicans*, se realizó sin la estimulación de MR (dilución óptima 1:256) y con esta, durante 24 horas previas a su evaluación mediante el ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ) introducido y modificado en nuestro laboratorio con el uso de anticuerpos monoclonales específicos, y las técnicas de formación de RE y RA e índice opsonofagocítico, respectivamente.<sup>17</sup>

El estudio de la acción de la MR se realizó sin incubación y con incubación con la MR (dilución 1:256) a 4 C, durante las 24 horas previas al estudio.<sup>18,19</sup>

Para comparar los resultados obtenidos entre las muestras que se expusieron a la MR y aquellas en que no se usó este producto, se utilizó la prueba estadística t de Student para muestras pareadas. Se utilizó como nivel de significación una  $p < 0,05$ .

### Bioética

A los pacientes y a los donantes se les explicó el objetivo del estudio, los posibles beneficios derivados de los resultados y la ausencia de riesgos asociados. Se confeccionó

una planilla para el consentimiento informado de los donantes y enfermos que participaron en el estudio.

## RESULTADOS

Al comparar la formación de RE y RA, así como el porcentaje de los niveles de expresión de los antígenos de membrana CD2 y CD3 entre los linfocitos estimulados con MR y sin esta, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas de los donantes ni en los enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular (tablas 1 y 2). Similares resultados fueron hallados con la prueba de FF de los neutrófilos de los donantes y enfermos (tabla 3).

**Tabla 1.** Efecto *in vitro* de la *Matricaria recutita L.* (MR) sobre la formación de roseta activa (RA) y espontánea (RE) en donantes sanos y en pacientes con inmunodeficiencia celular

Individuos	RA $X \pm DE$ %	RA + MR $X \pm DE$ %	RE $X \pm DE$ %	RE+MR $X \pm DE$ %
Donantes (n=20)	41,87 ± 4,14	41,93 ± 4,19	76,40 ± 6,27	76,51 ± 5,89
Pacientes (n=20)	29,47 ± 2,67	29,83 ± 2,34	59,87 ± 2,39	60,33 ± 1,95

( $X \pm DE$ ): media ± desviación estándar; n: tamaño de la muestra.

**Tabla 2.** Efecto *in vitro* de la *Matricaria recutita L.* (MR) en la expresión de los antígenos CD2 y CD3 en donantes y pacientes con inmunodeficiencia celular

Individuos	CD2 no estimulado	CD2 + MR	CD3 no estimulado	CD3 + MR
Donantes (n=20) $X \pm DE$ %	71,80 ± 4,18	73,40 ± 5,18	67,07 ± 5,23	68,27 ± 5,28
Pacientes (n=20) $X \pm DE$ %	68,27 ± 5,28	60,13 ± 2,50	52,73 ± 3,86	52,67 ± 3,89

$X \pm DE$ : media ± desviación estándar; n: tamaño de la muestra.

**Tabla 3.** Efecto *in vitro* de la *Matricaria recutita L.* (MR) sobre la función fagocítica de los neutrófilos en donantes y pacientes con inmunodeficiencia celular

Individuos	T0 %	T15 $X \pm DE$ %	T15 +MR $X \pm DE$ %	T60 $X \pm DE$ %	T60+MR $X \pm DE$ %
Donantes (n=20)	100	40,36 ± 8,24	39,93 ± 7,68	16,63 ± 6,73	16,37 ± 6,48
Pacientes (n=20)	100	45,59 ± 9,23	44,77 ± 9,67	19,71 ± 7,13	19,75 ± 7,95

$X \pm DE$ : media ± desviación estándar; n: tamaño de la muestra; T0: tiempo cero o de inicio del estudio; T15: tiempo a los 15 minutos de inicio del estudio; T60: tiempo a los 60 minutos de inicio del estudio.

## DISCUSIÓN

Se han realizado estudios con MR en animales que han demostrado su efecto como antiinflamatorio, espasmolítico, ansiolítico, y su efecto sobre los linfocitos y como inmunomodulador.<sup>20-22</sup>

En nuestro estudio se observó que en las condiciones experimentales utilizadas, la MR no ejerce efecto inmunomodulador *in vitro* sobre los linfocitos y neutrófilos de individuos sanos y en enfermos con inmunodeficiencia celular.

Estos resultados no coinciden con lo hallado en estudios *in vivo* en animales a los que se les inyectó un extracto de MR e indujo el aumento de leucocitos en sangre periférica y de la celularidad de la médula ósea. También la administración oral o parenteral de heteropolisacáridos de MR en animales de experimentación, parece normalizar la respuesta inmune después de la inmersión o el enfriamiento. Se ha reportado que la MR aumenta la formación de roseta T en pacientes inmunodeficientes.<sup>20-22</sup>

La diferencia observada en nuestros resultados podría deberse a que nuestro estudio explora la acción del MR *in vitro* y los resultados referidos fueron obtenidos *in vivo*.

En la literatura revisada no hemos hallado el estudio del efecto *in vitro* de la MR sobre los linfocitos y neutrófilos de enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular e individuos sanos.

Teniendo en cuenta que la MR es una planta medicinal que puede constituir una alternativa más de tratamiento como inmunomodulador, consideramos que se debe continuar trabajando en estudios preclínicos y clínicos *in vitro* mediante citometría de flujo, para el estudio de otras moléculas de activación y la proliferación linfocitaria, así como realizar ensayos clínicos que permitan conocer el papel de la MR sobre otros elementos de la respuesta inmunológica y su potencial terapéutico como inmunomodulador.

## Agradecimientos

A la Lic. Ana Iris González y a las técnicas Martha Ponce Sandoval y Yamila Junco González, por la colaboración brindada en la realización de este trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. 2 ed. La Habana: Ciencia y Técnica; 1988. p. 614-9.
2. Plantas medicinales. Fitomed II. La Habana: Ciencias Médicas; 1991. p. 21-3.
3. Rodríguez L, Reyes J, Burchield S, Herrera D, Torres E. Risks and benefits of Commonly used Herbal Medicines in Mexico. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008 Feb;227(1):125-35.
4. Morón F, Furones J, Pinedo Z. Actividad espasmolítica del extracto fluido de Matricaria recutita (manzanilla) en órganos aislados. *Rev Cubana Plant Med* [revista en la Internet]. 1996 Abr [citado 2011 Ago 11];1(1): Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47961996000100005&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961996000100005&lng=es)
5. Szoke E, Maday E, Tyhak E, Kuzovkina IN, Lemberkovics E. New terpenoids in cultivated and wild chamomile (*in vivo* and *in vitro*). *J Chromatogr Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2004 Feb;800: (1-2)231-8.
6. García C, Kim N, Bich N, Tillan J, Romero J, López O, et al. Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora incarnata L.*, *Matricaria recutita L.* y *Morinda citrifolia L.* *Rev Cubana Plant Med* [revista en la Internet]. 2009 Jun [citado 2011 Ago 11];14(2): Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962009000200004&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000200004&lng=es)
7. Reis PED, Carvalho EC, Bueno PCP, Bastos JK. Aplicación clínica de la Chamomilla recuita en flebitis: estudio de la curva dosis-respuesta. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* [serial on the Internet]. 2011 Feb [cited 2011 Oct 18];19(1): 03-10. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-11692011000100002](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-11692011000100002&lng=en)
8. Sartori LR, Ferreira MS, Perazzo FF, Mandolho L, Carvalho JC. Atividade antiinflamatória do granulado de *Calendula officinalis L.* e *Matricaria recutita L.*. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2003;13 (Suppl1);17-9. ISSN 0102-695X. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2003000300007>
9. Lans Ch, Turner N, Khan T, Brauer G, Boepple W. Ethnoveterinary medicines used for ruminants in British Columbia, Canada. *J Ethnobiol Ethnomedicine*. 2007 Feb;3:11. PMC1831764. doi:10.1186/1746-4269-3-11.

10. Amsterdam JD, Li Y, Soeller I, Rockwell K, Mao JJ, Shults J. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral *Matricaria recutita* (chamomile) extract therapy for generalized anxiety disorder. *J Clin Psychopharmacol*. 2009 Aug; 29(4):378-82.
11. McKay D, Blumberg JB. A Review of the bioactivity and potential health benefits of Chamomile Tea (*Matricaria recutita L*). *Phytoter Res*. 2006 Apr; 20 (7):519-30.
12. Andres C, Chen WC, Ollert M, Darsow V, Ring J. Anaphylactic reaction to camomile tea. *Allergol Int*. 2009 Mar; 58(1):135-6.
13. Segal R, Pilote L. Warfarin interaction with *Matricaria chamomilla*. *Can Med Assoc J*. 2006 Apr 25; 174(9):1281-2.
14. Paoletti A, Gallo A, Benemei S, Vietri M, Lopi F, Volpi R, et al. Interactions between natural health products and oral anticoagulants: spontaneous report in the Italian surveillance system of natural health products. *Evidence-based complementary and alternative medicine* 2011. Article ID612150, 5 pag Evidence- doi:10.1155/2011/612150.
15. Sánchez A, Fonseca G, Capiro N, Fernández D. Propuesta de ruta crítica para la evaluación genotóxica de plantas medicinales en Cuba. *Rev Cubana Farm* [revista en la Internet]. 2000 Abr [citado 2011 Ago 11]; 34; 1:34-43. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152000000100005&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152000000100005&lng=es)
16. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand J Clin Lab Invest*. 1968(supp 97); 10: 77-89.
17. Cruz C, Rivero RA, Suárez L. Detección mejorada del antígeno CD2 por un ultramicrométodo inmunocitoquímico en células T no deshidratadas unidas a láminas recubiertas por L lisina y fijadas por vapores de formaldehído. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 1995 Ene-Jun; 11(1): 71-2.
18. Cruz C, Fernández ML, Bernal B, Hernández P, Ballester JM. Técnica de rosetas. La aplicación en pacientes con alteraciones inmunológicas. *Rev Cubana Med*. 1981 Oct-Dic; 20(4): 379-87.
19. Torres-Leyva I, del Valle-Pérez L, Marsán-Suárez V, Socarrás-Ferrer BB, Macías-Abraham C. Evaluación evolutiva de la función fagocítica de los polimorfonucleares. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2004 Ago [citado 2011 Agosto 5]; 20(2): Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892004000200003&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000200003&lng=es)
20. Ghonime M, Eldomany R, Abdelaziz A, Soliman H. Evaluation of immunomodulatory effect of three herbal plants growing in Egypt. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2011 Mar; 33(1):141-5.

21. Uteshev BS, Laskova IL, Afanasiev VA. The immunomodulating active of heteropolysaccharides from German chamomile (*Matricaria chamomile*) during air and immersion cooling. *Eksp Klin Farmakol*. 1999 Nov-Dec; 62(6): 52-5.
22. Klianko LL, Ankhimova ES, Svitina NN, Laremenko KV. The effect of medicinal herbs on lymphocyte rosette-forming function. *Vestn Otorinolaringol* 1994 Mar-Apr; (2): 31-3.

Recibido: 28 de noviembre del 2011.

Aprobado: 4 de noviembre del 2012.

Lic. *Lázaro del Valle-Pérez*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800. La Habana, Cuba. Tel (537) 643 8695, 8268, Fax (537) 644 2334. Correo electrónico: [ihidir@hemato.sld.cu](mailto:ihidir@hemato.sld.cu) Website: <http://www.sld.cu/sitios/ih>