

## Evaluación de extractos vegetales para manejo de quemaduras cáusticas: Irritación/Corrosión dérmica aguda. Bogotá, 2018.

María Claudia Barrera Céspedes<sup>1\*</sup>, Luis Miguel Pombo Ospina<sup>2,9</sup>, Juan Carlos Mancipe Vargas<sup>3</sup>, Andrés Mauricio Duarte Hernández<sup>4</sup>, John Fredy Hernández Montaño<sup>5,9</sup>, Oscar Eduardo Rodríguez Aguirre<sup>6,9</sup>, Sandra Paola Santander González<sup>7,9</sup>, Antonio Luis Mejía Piñeros<sup>8,9</sup>, German Rodrigo Núñez Jejen<sup>10</sup>, María Camila Lagos Madero<sup>10</sup>, Laura Stephania Guerreño Fajardo<sup>10</sup>, Angie Karolyne González Alarcón<sup>10</sup>, Laura Alejandra Londoño Valero<sup>10</sup>, Laura del Mar Lozada Cruz<sup>10</sup>

1. Médico General, Microbióloga Industrial y Estudiante de IV Semestre de Especialización en Terapéuticas Alternativas y Farmacología Vegetal. Fundación Universitaria Juan N. Corpas (FUJNC).
2. MSc. Ciencias Biológicas. IQ. Director Centro de Investigación. FUJNC.
3. MSc. Ciencias Biológicas. Especialista en Microbiología Médica. Médico Veterinario. Universidad de La Salle
4. Médico Patólogo. Clínica Corpas. Candidato a Maestría en educación universitaria.
5. Ph.D. Químico farmacéutico. FUJNC.
6. Ph.D. Ciencias Biológicas. M.Sc. Biología. Lic. Química y Biología. Investigador FUJNC. Docente- Investigador en Universidad del Bosque.
7. Ph.D. Ciencias Biológicas. Bacterióloga. Docente Investigador FUJNC.
8. M.Sc. Fitoterapia. Biólogo. Docente Investigador FUJNC.
9. Grupo de Investigación en Terapéuticas Alternativas y Farmacología Vegetal (GIFVTA);.
10. Estudiantes de X semestre e Integrantes del Semillero de Investigación Fitoterapia y Piel. FUJNC.

Autor de correspondencia:  
maria-barrera@juanncorpas.edu.co

Barrera MC, Pombo LM, Mancipe JC, Duarte AM, Hernández JF, Rodríguez OE, et al.

Evaluación de extractos vegetales para manejo de quemaduras cáusticas: irritación/corrosión dérmica aguda. Bogotá/2018. Revista Cuarzo 2018;24 (1) 17-27.

Recibido: 2 de mayo de 2018  
Aceptado: 17 de junio de 2018  
Publicado: 30 de junio de 2018

Licencia creative commons



### Resumen

**Introducción:** Aunque las quemaduras cáusticas representan un bajo porcentaje de las quemaduras, dadas las complicaciones que asocian, son un problema de salud pública que exige nuevas opciones terapéuticas como son el uso de productos derivados de plantas, entre ellos, *Calendula officinalis*, *Aloe vera* y *Cannabis sativa*, cuyo uso está condicionado, inicialmente a pruebas como la evaluación de su efecto irritativo/corrosivo agudo en piel.

**Materiales y métodos:** Estudio experimental en animales, aleatorizado. El material vegetal se obtuvo del Jardín Medicinal Jorge Piñeros Corpas; los aceites y extractos de las plantas se obtuvieron por métodos clásicos de extracción; la base de excipientes fue provista por el Laboratorio de Farmacología Vegetal (LABFARVE). Se emplearon 8 Ratas wistar macho alojadas bajo condiciones controladas y parámetros de ética y bienestar animal. La prueba de irritación/corrosión dérmica aguda se hizo siguiendo la norma OECD 404, tras previa anestesia de los animales y siguiendo los criterios de dolor y punto final.

**Resultados:** De *Calendula officinalis* se obtuvieron dos aceites esenciales y tres extractos; el gel de *Aloe vera* y un extracto de *Cannabis sativa*. Ninguno de los extractos generó escara, eritema o edema en los animales, siendo negativa la prueba de irritación/corrosión aguda en piel.

**Discusión:** Los resultados obtenidos desde esta investigación básica en medicina traslacional, brindan evidencia que complementa la información reportada en la literatura acerca del uso tradicional y los estudios in vitro e in vivo de estas plantas para el manejo de diversas enfermedades. La ausencia de efecto irritativo o corrosivo en piel es coherente con el conocimiento del tipo de metabolitos secundarios activos que se han identificado en ellas con actividad antiinflamatoria, antioxidante, antimicrobiana y cicatrizante. Los resultados aseguran su inocuidad química al contemplarlas para investigar su potencial uso terapéutico en lesiones dérmicas, tipo quemaduras cáusticas, garantizando su seguridad.

**Palabras clave:** Quemaduras químicas, Piel, Ratas wistar, *Calendula officinalis*, *Aloe vera*, *Cannabis sativa*, Cicatrización de heridas

## Evaluation of plant extracts in the management of caustic burns: Irritation / Acute dermal corrosion. Bogotá-2018.

### Abstract

**Introduction:** Considering that caustic burns represent a low percentage of burns, given the complications they could associate, they are a public health problem that requires new therapeutic options such as the use of plant-derived products, including *Calendula officinalis*, *Aloe vera* and *Cannabis sativa*, whose use is conditioned, initially to tests such as the evaluation of its acute irritative / corrosive effect on skin.

**Materials and methods:** Randomized. Experimental study in animals, the plant material was obtained from the Jorge Piñeros Corpas Medicinal Garden; the oils and extracts of the plants were obtained by classical methods of phytochemical extraction; the base of excipients was supplied by the LABFARVE Laboratory. Eight-wistar rats male were used under controlled conditions and

parameters of ethics and animal welfare. The test for irritation / acute skin corrosion was carried out under the OECD 404 standard, after anesthesia of the animals and following the end point criteria of pain.

**Results:** Two essential oils and three extracts were obtained from *Calendula officinalis*; *Aloe vera* gel and an extract of *Cannabis sativa*. None of the extracts generated eschar, erythema or edema in the animals, being negative the skin irritation / acute corrosion test.

**Discussion:** The results obtained from this basic research in translational medicine, provide evidence that complements the information reported in the literature about traditional use and in vitro and in vivo studies of these plants for the management of various diseases. The absence of irritant or corrosive effect on skin is consistent with the knowledge with the type of chemical active compounds (secondary metabolites) that have been identified with anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial and cicatrizing activity. The results assure their chemical safety when contemplating them to investigate their potential therapeutic use in skin lesions, caustic burns, guaranteeing their safety.

**Keywords:** Chemical Burns, Skin, Wistar Rats, *Calendula Officinalis*, *Aloe vera*, Wound Healing

## Introducción

Las quemaduras son lesiones traumáticas generadas por contacto de los tejidos del organismo con energía transferida de forma aguda por agentes químicos, físicos o biológicos. Dentro de los primeros, los agentes cáusticos, tipo ácido o álcali, son los más vinculados a quemaduras químicas, representando un 2.4 al 10.7% del total de lesiones por quemaduras que asocian una importante morbilidad, cerca del 55% requiere cirugía, frecuentemente involucran áreas cosméticas del cuerpo, asocian una mortalidad hasta del 30% y desde hace varios años vienen asociándose a contextos de violencia armada, interpersonal y agresiones por violencia doméstica en especial hacia las mujeres, aunque la proporción hombre-mujer se ha vuelto similar (1-8).

Dado que las quemaduras por ácido representan complicaciones físicas, psicológicas, familiares, económicas, sociales, además de la incapacidad que muchos pacientes quemados experimentan para desarrollar cualquier actividad laboral, se considera un problema médico y social a nivel mundial por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de Naciones Unidas (ONU) y otras como la Acid Survivors Foundation, han desarrollado programas de prevención y atención a esta población lo cual incluye el desarrollado de leyes y protocolos de manejo médico que incluyen el uso de soluciones anfóteras, quelantes y ligeramente hipertónicas que ayudan en la eliminación de la noxa disminuyendo o previniendo el desarrollo y las secuelas de este tipo de quemaduras.

En Colombia, se han establecido lineamientos como la Ley 1639 del 2 de Julio del 2013 y el Decreto 1033 del 29 de mayo del 2014 que buscan asegurar la prevención, protección y atención integral de víctimas de este tipo de quemaduras, para lo cual, sumado a la regulación de venta de agentes químicos, se diseñó el Protocolo de Atención de Urgencias a Víctimas de Ataques con Agentes Químicos establecido en la resolución 4568 del 2014, que busca garantizar que las víctimas de estos ataques reciban atención oportuna de manera que se logre reducir el daño físico y el daño mental (9-14).

Pese a la existencia en Colombia del protocolo de atención a esta población, el abordaje terapéutico se enfoca en neutralizar y eliminar la sustancia mediante el empleo de sustancias como el agua y el gluconato de calcio, sin embargo, este abordaje basado en una descontaminación pasiva, no logra detener el desarrollo

de la quemadura, sus secuelas y no priorizan en su mecanismo de acción el acelerar procesos de re-epitelización y recuperación del tejido en el manejo temprano posterior a la exposición. En Europa se han desarrollado productos que por su naturaleza anfótera, logran neutralizar los agentes químicos de forma más rápida que el lavado con agua logrando así evitar la progresión de la quemadura y favoreciendo la recuperación tisular, sin embargo no se cuenta con acceso a éstos en Colombia (4, 14-19).

Dada la necesidad de contar con opciones terapéuticas en el manejo del paciente quemado, en la actualidad se han encontrado extractos de origen natural que por su riqueza en principios activos con acciones antiinflamatorias, antibióticas y cicatrizantes; representan una reserva de compuestos que vienen siendo estudiados para uso en el caso de las quemaduras, en las que pueden favorecer los procesos implicados en la recuperación del tejido al actuar como estimulantes de la proliferación celular, antimicrobianos y antiinflamatorios.

Algunos de estos extractos se han encontrado en la *Caléndula officinalis*, *Aloe vera* y *Cannabis sativa* en los cuales además se han encontrado propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, acción de factores de crecimiento que podrían favorecer la recuperación de estos tejidos al ser empleados en una fase aguda de la lesión. Sin embargo, antes del uso de cualquiera de estos extractos vegetales con potencial terapéutico, se hace necesario realizar estudios previos que aseguren la inocuidad química de los mismos a fin de utilizarlos garantizando la protección de la salud humana y del medio ambiente; de ahí que a nivel internacional, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, OECD, haya emitido una serie de Guías que se han establecido como métodos estándar a nivel internacional a nivel mundial para evaluar los efectos potenciales de las sustancias químicas, incluyendo productos industriales, pesticidas y productos de cuidado personal (20-25).

Al realizar la búsqueda de literatura en bases de datos como PUBMED, se encuentra que existen relativamente pocos trabajos experimentales en modelos animales acerca de evaluación de extractos vegetales con potencial terapéutico para el manejo de quemaduras químicas a diferencia de las quemaduras térmicas; y aunque se han adelantado modelos animales en cerdos, cobayos y en conejos para el estudio de procesos en piel, las ratas, *Rattus norvegicus* y línea de consanguinidad Wistar; después del ratón, son el segundo modelo animal más empleado para inves-

tigación biomédica, dadas la similitud en estructura de la piel con los humanos, lo cual hace posible observar en procesos de quemaduras, las características clínicas de las lesiones y las diferentes etapas de cicatrización de la herida (26-30). Adicionalmente siguen siendo uno de los modelos de fácil manipulación, disposición, bajo costo de mantenimiento y al ser una especie filogenéticamente menor a las anteriores permiten cumplir con el principio de Refinamiento dentro del principio de las 3R el cual busca garantizar estándares éticos en la investigación con animales (26,27,31-33).

El objetivo de este estudio es, a través de un modelo animal en ratas, evaluar si los extractos naturales de *Caléndula officinalis*, *Aloe vera*, *Cannabis sativa* y agentes excipientes tienen alguna acción irritativa/corrosiva dérmica aguda a fin de seleccionarlos para pruebas in vivo como herramientas terapéuticas para el manejo agudo de quemaduras por agentes cáusticos. El uso de este tipo de productos en una fase aguda dentro del manejo de la quemadura química podría representar una alternativa más socio costo efectiva para su tratamiento.

## Materiales y Métodos

**Tipo de estudio:** Experimental en animales. Diseño completamente aleatorizado.

**Lugar donde se llevó a cabo:** Bioterio de la Fundación Universitaria Juan N. Corpas (FUJNC).

### Obtención de extractos vegetales y base de excipientes

**Material vegetal:** Las hojas de *Aloe vera* (COL 333430), las hojas y flores de *Caléndula officinalis* (COL 297298) y las hojas y flores de *Cannabis sativa* (COL 602867) se obtuvieron frescas del Jardín Medicinal Jorge Piñeros Corpas (longitud - 74,0939-Latitud 4,7621).

**Extracción:** Los aceites esenciales de flores y de hojas de *Caléndula officinalis*, se obtuvieron por hidrodestilación (Figura 1). A partir de las hojas y flores se hizo una extracción por Soxhlet empleando dos solventes de polaridad diferente obteniéndose el extracto etanólico y el extracto en diclorometano.

Se obtuvo un tercer extracto de hojas y flores por fluido supercrítico en el equipo SFT-110 XW, sometiendo 50 g de flores y hojas, previamente secas al ambiente, a cuatro ciclos de extracción, a 5000 psi y 50°C, con un flujo de CO<sub>2</sub> de 10 mL/min (Figura 2).

Para la extracción del gel de *Aloe vera*, las hojas fueron lavadas y seccionadas longitudinalmente para extraer el gel de la zona central. Los gels se homogenizaron en agua a 70°C y se filtraron, conservándose a 4°C para su uso (Figura 3). Por otra parte, de *Cannabis sativa* se tomaron las flores de una planta hembra y se hizo una extracción por Soxhlet con etanol.

Todos los extractos fueron concentrados al vacío, por separado, mediante rota evaporación y posteriormente resuspendidos en agua a temperatura de 30°C para su disolución y posterior aplicación en la prueba de irritación/corrosión dérmica aguda.

Figura 1. Hidrodestilación de aceites esenciales de *Caléndula officinalis*

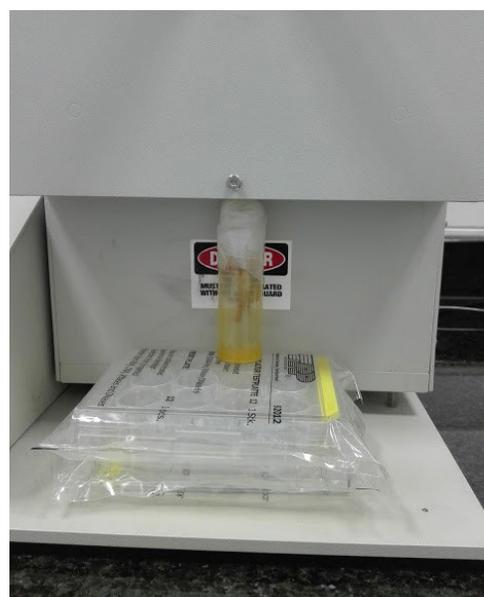


**Fuente:** Autores. Montaje de elementos requeridos para proceso de hidrodestilación de flores y hojas de *Caléndula officinalis* en el Laboratorio de Fitoquímica de la FUJNC.

Todos los procedimientos se llevaron a cabo teniendo en cuenta los lineamientos de los Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo (34).

La base de excipientes (BE) con propiedades anfóteras y diluyentes fue suministrada por el Laboratorio de Farmacología Vegetal (LABFARVE) de la FUJNC.

Figura 2. Extracto de *Caléndula officinalis* obtenido por fluido supercrítico



**Fuente:** Autores. Frasco con el extracto obtenido por fluido supercrítico en el equipo FT-110 XW del Laboratorio de Fitoquímica de la FUJNC.

Figura 3. Gel de *Aloe vera*



Fuente: Autores. Gel de *Aloe vera* homogenizado en agua a 70°C listo para llevar a congelación a 4°C en el Laboratorio de Fitoquímica de la FUJNC.

## Animales

Se emplearon 8 ratas Wistar machos de 300-350 g de peso promedio, 3-4 meses de edad adquiridos en el Instituto Nacional de Salud. Una vez recibidos en el Bioterio de la institución se realizó el acondicionamiento al macroambiente y microambiente durante 15 días.

Los animales fueron identificados en la cola, alojados en jaulas separadas, cada una con enriquecimiento ambiental; a temperatura ambiente de 20-25°C, humedad relativa de 70%, ciclos de fotoperiodo luz-oscuridad de 12 horas, con agua y alimento ad libitum y rutina de limpieza diaria (Figura 4).

Figura 4. Alimentación y Agua ad libitum para los animales



Fuente: Autores. Pesaje y preparación del alimento y los dispositivos de bebida para cada jaula donde se alojaron los animales.

Todas las pruebas se hicieron bajo los lineamientos de la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th Ed. NRC, USA, el Manual de procedimientos recomendables para la Investigación con animales, la propuesta de estudio en animales de laboratorio del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos (NIH) y con previa revisión y autorización del Comité de Ética de la Fundación Universitaria Juan N. Corpas (28,35,36).

## Prueba de irritación/corrosión dérmica aguda

24 horas antes de la prueba, tras anestesia con Ketamina 50mg/kg y Xylazina 5mg/kg intraperitoneal, se afeitó un área de 6 cm<sup>2</sup> en el dorso de cada uno de los animales, teniendo cuidado de no generar abrasiones.

Sobre el área dorsal del animal, previamente afeitada, se colocó una dosis aproximada de 0.5 ml de la BE y de cada uno de los aceites y extractos obtenidos. Se empleó un animal para cada sustancia evaluada, tomándose como control las áreas del dorso no expuestas a la misma. Se observaron los resultados de acuerdo a la Escala de Valoración de eritema o edema en piel (tabla 1), a los 3 minutos, a la hora, a las 4, 24, 48, 72 horas. En caso de observarse reacciones dérmicas las observaciones se extendieron hasta los 14 días.

Tabla N°1. Escala de Valoración de reacciones de piel

Eritema y formación de escara	Puntaje
No eritema	0
Muy ligero eritema (apenas perceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado a severo	3
Eritema grave (enrojecimiento color rojo) o formación de escaras.	4
Formación de edema	Puntaje
No edema	0
Muy ligero edema (apenas perceptible)	1
Edema ligero ( bordes del área bien definida por elevaciones concretas)	2
Edema moderado ( Elevado aproximadamente 1 mm)	3
Edema grave ( levantado más de 1 mm y se extiende más allá del área de exposición)	4

Fuente: 37.OECD. Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 [internet]. Paris. 2015 [Consultado 2016 Julio 8]. Disponible en: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9715231e.pdf?expires=1468119731&id=id&accname=guest&checksum=ABA9EAB464727B2C892BC7377E5E336A>

Todos los procedimientos se hicieron siguiendo los lineamientos establecidos en la OECD Guideline for testing of chemicals: Test 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion, la cual contempla igualmente los principios de las 3R que buscan garantizar estándares éticos en la investigación con animales (37).

A la luz de esta escala se consideró lesión correspondiente a irritación dérmica aquella que produce daño reversible de la piel tras 4 horas de ejecución de la prueba; y lesión de corrosión dérmica (quemadura de segundo grado profunda y de tercer grado)

aquellas en la que hay daño irreversible de la piel tras 4 horas de ejecución de la prueba. Estas últimas se caracterizan por flictenas, úlceras, sangrado, costras oscuras, áreas de alopecia, descoloración por blanqueamiento de la piel, necrosis visible a través de la epidermis y en la dermis, las cuales requieren evaluación histopatológica (37).

Durante todo el estudio se hizo seguimiento a signos de dolor o estrés de los animales (tabla 2), así como los criterios de punto final (35,36).

Tabla N°2. Indicadores de dolor en Ratas

Comportamiento general	Apariencia	Fisiología
Actividad reducida; disminución en la ingestión de agua y alimento, lamido; automutilación; agresión y vocalización; aversión a otros animales.	Descuidada; pilo erección; postura anormal; encorvamiento; porfirinas (“lágrimas rojas”) ojos cerrados; pupilas dilatadas; abombamiento nasal, abombamiento de carrillo, descarga nasal.	Sueño interrumpido hipotermia; respiración rápida y superficial; gruñido con la espiración.

Fuente: 36. Navarro JA, Ramírez RA, Villagrán C. Manual de Procedimientos recomendables para la investigación con animales. [internet] México: SAMSARA. 2012 [consultado 2016 Julio 9]. Disponible en: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/profesionalesSalud/investigacionSalud/cbis/manualprocedimientosanimales.pdf>

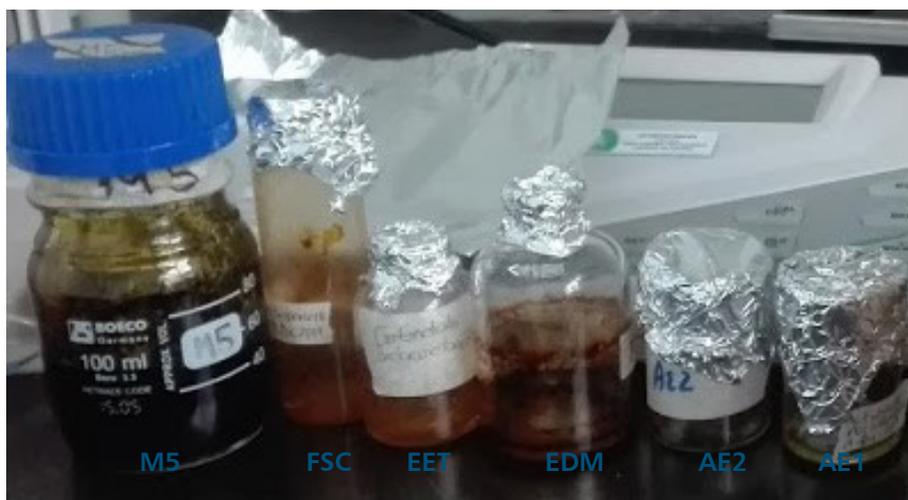
## Resultados

De *Calendula officinalis* se obtuvieron dos aceites esenciales: Aceite esencial de flores (AE1) y Aceite esencial de hojas (AE2); extracto con diclorometano (EDM), extracto etanólico (EET), extracto con fluido supercrítico (FSC). De *Aloe vera* se obtuvo

el gel de las hojas (AVG) y de *Cannabis sativa* se obtuvo el extracto etanólico (M5) (Figura 5)

Los seis animales, fueron afeitados (Figura 6 y 7) y trascurridas 24 horas se procedió a aplicar con gasa estéril la base de excipientes y cada uno de los aceites y extractos (Figura 8).

Figura 5. Extractos vegetales obtenidos por métodos fisicoquímicos para evaluación de prueba de irritación/corrosión aguda dérmica en ratas wistar.



Fuente: Autores. Extractos obtenidos en el Laboratorio de Fitoquímica de la FUJNC.

Figura 6. Alojamiento, alimentación y bebidas Ratas Wistar.



Fuente: Autores. Jaula de alojamiento en Bioterio Fundación Universitaria Juan N. Corpas (FUJNC)

Figura 7. Área del dorso del animal afeitada



Fuente: Autores. Rata Wistar en Bioterio Fundación Universitaria Juan N. Corpas (FUJNC)

En la prueba de irritación/corrosión dérmica aguda, todos los animales sobrevivieron y de acuerdo con los parámetros dados en la escala de valoración de irritaciones en piel, se estableció

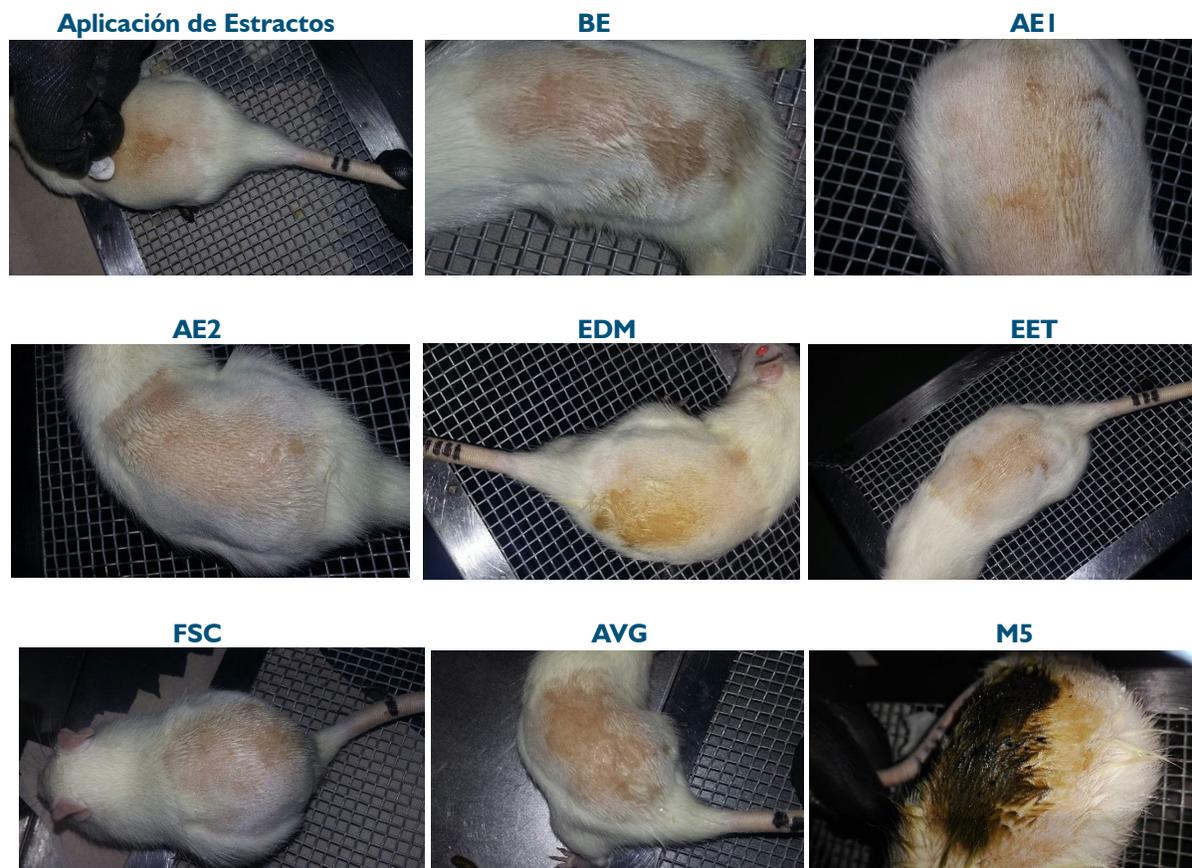
que en ninguno hubo presencia de formación de escara, eritema o edema, signos indicadores de irritación o de corrosión a lo largo de los 14 días de experimentación (tabla 3).

Tabla N° 3. Valoraciones de Irritación/corrosión dérmica aguda realizadas en el dorso de los animales expuestos a Base de excipientes, extractos y aceites vegetales.

Sustancia Evaluada	Puntaje Eritema y formación de escara (0 a 4)							Puntaje Formación de edema (0 a 4)						
	3 min	1h	4h	24h	4h8	72h	14 días	3 min	1 h	4 h	24 h	48h	72h	14 días
BE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AE1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AE2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EDM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FSC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AVG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Autores. Base de excipientes (BE), Aceite esencial de flores (AE1), Aceite esencial de hojas (AE2); extracto con diclorometano (EDM), extracto etanólico (EET), extracto de fluido supercrítico (FSC). De *aloe vera* se obtuvo el gel de las hojas (AVG) y de *Cannabis sativa* se obtuvo el extracto etanólico (M5).

Figura 8. Aplicación de base de excipientes, aceites y extractos vegetales aplicados sobre el dorso de cada animal.



Fuente: Autores. Dorsos de Ratas Wistar con la base de excipientes (BE), Aceite esencial de flores (AE1), Aceite esencial de hojas (AE2); extracto con diclorometano (EDM), extracto etanólico (EET), extracto de fluido supercrítico (FSC). De *aloe vera* se obtuvo el gel de las hojas (AVG) y de *Cannabis sativa* se obtuvo el extracto etanólico (M5).

Todos los animales se conservan en el Bioterio bajo condiciones adecuadas y controladas de alojamiento, para dar continuidad a la segunda etapa de la investigación.

## Discusión

Los resultados obtenidos en la prueba de irritación/corrosión dérmica aguda para cada una de las sustancias evaluadas, evidencian que no generan reacciones en piel, a un nivel experimental, que pudieran poner en riesgo la salud humana al ser empleados tópicamente, lo cual desde la medicina traslacional, entendida, según la definición del National Institutes of Health (NIH) como el proceso de aplicar ideas, nuevos conceptos y descubrimientos generados a través de la investigación básica al tratamiento o prevención de enfermedades humanas” (39) permite avanzar en la evaluación del posible uso terapéutico de los extractos de las plantas evaluadas en el manejo de las quemaduras cáusticas, las cuales constituyen una problemática de salud pública.

Los productos de dos de las plantas evaluadas, *Caléndula officinalis* y *Aloe vera* comparten su uso tradicional, desde tiem-

pos antiguos, como agentes antiinflamatorios, antimicrobianos y cicatrizantes. La *Caléndula officinalis*, comúnmente conocida como caléndula, perteneciente a la familia de las asteráceas; es una hierba aromática, erecta, anual con flores de color amarillo a naranja, utilizada en el Mediterráneo desde el siglo XIII cuando se introduce a Europa como un agente antiinflamatorio para el manejo de heridas, quemaduras de primer grado, contusiones y erupciones en piel; llegando a ser recomendada por el Gobierno Alemán en el manejo de úlceras de piernas e internamente para lesiones inflamatorias de la mucosa oral y faríngea (38).

Desde entonces, países como Asia y Europa, quienes por mucho tiempo recopilaban la mayor parte de literatura que describe la actividad medicinal de esta planta; y países de América, vienen estudiándola como terapéutico en procesos inflamatorios de piel, mucosas, úlceras venosas, hemorroides, dermatitis, prostatitis (40), periodontitis (41), procesos oftalmológicos (42), procesos infecciosos, como antitumoral (43), como protector en procesos de nefrotoxicidad (44), entre otros. Tanto los aceites esenciales de esta planta, los cuales se sabe que son ricos en productos como el  $\alpha$  - Thujene, el  $\alpha$  - pineno y el 1,8 cineol, también llamado eucalipto; todos compuestos de tipo monoterpenos carac-

terizados por ser volátiles; como los extractos ricos en otro tipo de compuestos como sesquiterpenos, triterpenos, flavonoides, cumarinas, quinonas, carotenoides, amino ácidos y compuestos fenólicos, así como el phartenolide, una lactona sesquiterpénica, hallada principalmente en las hojas de las asteráceas con actividad antiinflamatoria y antioxidante, aún mayor al ácido ascórbico (45-46), han evidenciado actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas en modelos in vitro, in vivo e incluso a nivel clínico (47-50), permitiéndole ser uno de los productos empleados en salud para el manejo de las enfermedades descritas, entre otras.

Los resultados obtenidos en éste estudio, aportan significativamente en la comprensión de la ausencia de un efecto corrosivo o irritativo por parte de los extractos utilizados.

*Aloe vera*, cuyo nombre nace del vocablo árabe “alloe” que significa sustancia amarga brillante y “vera” que significa verdad, recibe el nombre popular de sábila, pertenece a la familia Liliaceae, y ha sido usada de manera tradicional como laxante y para aplicaciones tópicas como tratamiento de enfermedades infecciosas y problemas de piel.

Sumado a este saber tradicional, diversos estudios han encontrado el beneficio de sus componentes, en los que el metabolito primario más importante es el polisacárido derivado de la manosa, llamado glucomanano presente en el gel, el cual logra inhibir el crecimiento bacteriano por su alto potencial osmótico, estimula la regeneración de tejidos al actuar sobre el receptor del factor de crecimiento de fibroblastos incrementando la proliferación de los mismos y aumentando la producción del colágeno.

El gel de *Aloe vera*, adicionalmente se ha asociado a acciones como la hidrólisis de prostaglandinas y bradicininas por lo que reduce el dolor y la inflamación. Estas características han hecho que sea blanco de investigaciones por su acción antimicrobiana, antiviral, antifúngica y antiinflamatoria en procesos de curación de heridas (51-53).

*Cannabis sativa*, planta de la que se obtuvo el extracto M5 evaluado en nuestro estudio, ha sido cultivada desde mucho tiempo atrás en Asia y Europa, y sus usos terapéuticos se encuentran referidos desde el año 2600 a.C, por el emperador chino Huang Ti, en literatura de la India y del sánscrito del 1400 – 2000 años a.C, en la literatura ayurvédica 900 años a.C, por médicos griegos como Claudius Galeno en el 131 – 201 después de Cristo (AD), y a partir de los siglos XIX – XX en países occidentales por Sir William Osler, padre de la medicina moderna, en 1915; el Doctor E. C. Seguin, conecedor de Osler y presidente de la Sociedad Neurológica de New York, llegando a ser incluida en la Farmacopea Británica y Americana para el manejo de la cefalea (54-55). Sin embargo, debido al uso recreativo y adictivo que se estableció de la misma hacia 1930, su uso se restringió llegando a ser considerada por la Agencia Antidrogas de Estados Unidos, (DEA, de sus siglas en inglés), como una droga de uso ilícito, muy peligrosa (55). Este uso recreativo de la planta, limitó su uso terapéutico y retrasó el avance en la investigación de la mis-

ma, sin embargo, en las últimas décadas ha vuelto a centrarse la atención en el estudio de sus propiedades fitofarmacológicas cobrando importancia como opción terapéutica en diversas enfermedades.

Uno de los avances que ha ayudado en la comprensión del uso medicinal de *Cannabis sativa*, ha sido el conocimiento cada vez más claro del efecto de sus más de 400 compuestos, especialmente el  $\Delta^9$  Tetrahidrocannabinol (THC) y el Cannabidiol (CBD), sobre el sistema endocannabinoide, cuya fisiología comenzó a estudiarse desde 1988 tras el descubrimiento de su receptor en cerebro de ratas (54,56).

Hoy en día se conoce que es un sistema de neuromodulación compuesto principalmente por ligandos endógenos, llamados endocannabinoides, como la Anandamina (AEA) y el 2- araquidonil glicerol (AG) ambos derivados del ácido araquidónico; y los receptores cannabinoides del tipo CB1 y CB2 ambos pertenecientes a la familia de receptores acoplados a una proteína G y distribuidos de forma conjunta aunque con predominio del CB1 en el sistema nervioso central, periférico, glándulas endocrinas, salivales, leucocitos, bazo, corazón, ciertas zonas del aparato reproductor, urinario y gastrointestinal; y del CB2 en el sistema inmune y hematopoyético (54,57).

Otros de los sitios de localización son el hígado, músculos, huesos y piel. En esta última se sabe que no solo hay receptores CB, sino que además las células de piel producen endocannabinoides del tipo AEA que inhibe la proliferación, reduce la diferenciación de los queratinocitos en la epidermis y tiene acción antitumoral; se sabe que los CB2 regulan la melanogénesis, los CB1 participan en la inhibición del crecimiento vello corporal, regula las glándulas sebáceas; tanto CB1 como CB2 regulan procesos inflamatorios en piel estimulando síntesis de prostaglandina E2, modulando la liberación de citocinas y actuando en forma diversa sobre fibroblastos (58).

Todas las actividades descritas anteriormente por parte del sistema Endocannabinoide, sobre el cual actúan los fitocannabinoides, es decir los Ligandos derivados de las plantas como el THC y el CBD, han centrado la atención en su cada vez más importante potencial uso terapéutico en piel, en la que además, por su acción central en la modulación del dolor, resulta de gran interés para procesos inflamatorios derivados de enfermedades sistémicas como la psoriasis, la neurofibromatosis, el lupus o localizados como el acné vulgaris, todas patologías en las que se han reportado casos aislados de manejo exitoso del dolor asociado tras uso inhalado de *Cannabis* (59).

En el estudio del efecto de *Cannabis sativa* sobre procesos inflamatorios eczematosos de piel, en modelos animales de ratón, se ha encontrado que mejora la respuesta inflamatoria aunque presenta limitación para sacar conclusiones al no contarse con buenos controles (60,61); y en estudios de su efecto sobre curación de heridas en modelo animal se ha encontrado que favorece procesos de reepitelización. Dichos estudios no resultan concluyentes y mencionan casos aislados de reacciones adversas a

su uso, especialmente de tipo alérgico. En nuestro estudio no se observó formación de escara, eritema o edema, hecho que puede relacionarse con la vía de administración del extracto y el tipo de sustancias obtenidas con la extracción etanólica, lo cual indica seguridad en el uso del extracto evaluado por vía tópica (62).

Ante los avances obtenidos en el estudio de cada una de estas plantas y sus diferentes extractos, pese a que la literatura nos indica un sin número de datos que apoyan su valor terapéutico, los estudios publicados en ciencias básicas que apoyan su inocuidad y seguridad para el uso en salud humana, son escasos, de ahí que los resultados de este estudio con respecto a los aceites esenciales y extractos de las plantas, así como los obtenidos de la base que se constituye en el vehículo y medio químico que detendría la penetración del agente cáustico a profundidad en piel, mecanismo sobre el cual se establece fisiopatológicamente este tipo de quemaduras (63), ayudan a fundamentar su uso como alternativa terapéutica en el manejo de patologías de piel con impacto en salud pública, dentro de las que se encuentran las quemaduras cáusticas.

Sin embargo, es importante asociar el desarrollo de otras investigaciones que permitan comprender su efecto terapéutico sistémico y local en modelos de quemaduras cáusticas estandarizados, a fin de poder escalar la investigación hacia estudios clínicos que lleven a concluir acerca de su uso médico en el manejo agudo de este tipo de lesiones.

## Agradecimientos

Por su colaboración en la ejecución de este estudio a la Fundación Universitaria Juan N. Corpas y al Centro de Investigación de la Institución; a las señoras Diana Rodríguez y Yaneth Castro, responsables del cuidado del Bioterio; a la Ingeniera Carol Zuluaga por su ayuda en el diseño de instalaciones para alojamiento de los animales; al Señor Juan Carlos Pinto encargado del mantenimiento de Instalaciones eléctricas y sistema de ventilación de la institución; al señor Gustavo Muñoz responsable del mantenimiento y cuidado del Jardín medicinal Jorge Piñeros Corpas.

## Referencias Bibliográficas.

1. Moctezuma LE, Jiménez S, Miguel KD, Foncerrada G, Sánchez AY, González NA, et al. Epidemiología de las quemaduras en México. *Rev Esp Méd Quir*. 2015;20:78-82.
2. Castillo P. Quemaduras. Conceptos para el médico general. *Cuad Cir*. 2003;17(1):58-63.
3. Ramírez CE, Ramírez CE, González LF, Ramírez N, Vélez K. Fisiopatología del paciente quemado. Revisión de tema. *Salud UIS*. 2010;42:55-65.
4. Téllez J. Agentes cáusticos y corrosivos [internet]. [Consultado 10 de octubre de 2016]. Disponible en: <https://issuu.com/nasajpg/docs/agentescasusticoscorrosivos>.
5. García, R. Quemaduras. En: García A, Pardo G. Libros de autores cubanos. *Cirugía*. Tomo II [internet]. Ciudad de la Habana. Editorial Ciencias médicas; 2005 [consultado 2016 oct 26]. Disponible en: <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0cirugia--00-0---0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-es-50---20-help---00-0-1-00-0-0-11-1-0utfZz-8-00&a=d&c=cirugia&cl=CL1&d=HASH4d8a36cd18d1434dff47a8.4.10>.
6. Jaimes SL, Ramírez MA, Ramírez CE. Caracterización de las quemaduras por sustancias químicas en el Hospital Universitario de Santander, Bucaramanga, Colombia, entre 2009 y 2014. *MéD. UIS*. 2016;29(1):11-6.
7. Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Boletín epidemiológico: Violencia de Género en Colombia. Análisis comparativo de las cifras de los años 2014, 2015 y 2016 [internet]. [Consultado 2017 Febrero 5]. Disponible en: <http://www.medicinalegal.gov.co/documents/88730/4023454/genero.pdf/8b306a85-352b-4efa-bbd6-ba5ffde384b9>.
8. Hardwicke J, Hunter T, Staruch R, Moiemmen N. Chemical burns-An historical comparison and review of the literature. *Burns*. 2012;38:383-387.
9. World Health Organization. Fact sheet N° 365 about burns. 2014. [Consultado 4 Julio 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/en/>.
10. World Health Organization. Proyecto de plan de acción mundial sobre la violencia. 69.ª Asamblea Mundial de la Salud [internet]. [Consultado 15 enero de 2017]. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/253016/1/A69\\_9-sp.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/253016/1/A69_9-sp.pdf?ua=1).
11. Congreso de la República de Colombia. Ley 1639, Diario oficial 48839, (2-07- 2013).
12. Ministerio de Salud y Protección social. Decreto 1033. Diario Oficial 49167, (29-05 - 2014).
13. Ministerio de Salud y Protección social. Resolución 4568. Diario Oficial No. 49.325, (16-10-2014).
14. Instituto Nacional de Salud y Ministerio de Salud y Protección social. Violencia de género. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública [internet]. [Consultado 17 enero de 2016]. Disponible en: [http://www.ipsunipamplo-na.com/es/images/sampledata/sivigila\\_2015/protocolos\\_epidemiologicos/PRO%20Violencia%20contra%20la%20mujer.pdf](http://www.ipsunipamplo-na.com/es/images/sampledata/sivigila_2015/protocolos_epidemiologicos/PRO%20Violencia%20contra%20la%20mujer.pdf).
15. Schwartz RJ, Chirino CN, Sáenz SV, Rodríguez TV. Algunos aspectos del manejo del paciente quemado en un servicio de cirugía infantil a propósito de 47 pacientes pediátricos. Ila Parte. *Rev Argent Dermatol* 2008; 89: 165-173.
16. Berrocal M, Guette AM, Rodriguez P, Rodríguez G, Ruiz MA, Salgado EJ. Paciente quemado: manejo en urgencias y reanimación. *Rev.cienc. biomed*. 2011;2(2):316-326.
17. Hall A, Maibach H. Water decontamination of chemical skin/eye splashes: a critical review. *Cutan Ocul Toxicol*. 2006;25(2):67-83.
18. Mathieu L, Burgher F, Blomet J. Comparative evaluation of the active eye and skin chemical splash decontamination solutions Diphoterine and Hexafluorine with water and other rinsing solutions: Effects on burn severity and healing. *Chem Health Saf*. 2007;114:1-8.
19. Zack-Williams S.D.L., Ahmad Z, Moiemmen N.S. The clinical efficacy of diphoterine® in the management of cutaneous chemical burns: a 2 year evaluation study. *Annals of Burns and Fire Disasters*. 2015;XXVIII(1):9-12.
20. Chandran PK, Kuttan R. Effect of *Caléndula officinalis* Flower extract on acute phase proteins, antioxidant defense mechanism and granuloma formation during thermal burns. *J. Clin. Biochem. Nutr*. 2008;43:58-64.

21. Zitterl-Eglseer K1, Sosa S, Jurenitsch J, Schubert-Zsilavecz M, Della Loggia R, Tubaro A, et al. Anti-oedematous activities of the main triterpenoid esters of marigold (*Caléndula officinalis* L.). *J Ethnopharmacol.* 1997;57(2):139-44.
22. Maenthaisong R, Chaiyakunapruk N, Niruntraporn S, Kongkaew C. The efficacy of aloe vera used for burn wound healing: a systematic review. *Burns.* 2007;33(6):713-8.
23. Ferraro GM. Revisión de la Aloe vera (*Barbadensis miller*) en la dermatología actual. *Rev Argent Dermatol* 2009; 90: 218-223.
24. Tubaro A, Giangaspero A, Sosa S, Negri R, Grassi G, Casano S, Della Loggia R, Appendino G. Comparative topical anti-inflammatory activity of cannabinoids and cannabivarin. *Fitoterapia.* 2010 Oct;81(7):816-9.
25. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals [internet] [Consultado 10 de enero 2018]. Disponible en: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>.
26. Davidson EC. The treatment of acid and alkali burns. *Ann. Surg.* 1927;LXXXV(4):481-489.
27. Zawacki BE, Jones RJ. Standard depth burns in the rat: the importance of the hair growth cycle. *Br J Plast Surg.* 1967;20(4):347-54.
28. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animal Research. *Guide for the Care and Use of Laboratory animals.* 8 ed. [internet]. Washington, D.C.: The National academic press; 2011 [Consultado 2017 febrero 5]. Disponible en: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>.
29. Universidad de Vigo-Facultad de Biología. Atlas de histología vegetal y animal: Tegumento [internet]. [Consultado 16 febrero 2017]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/imagenes-grandes/tegumento-piel-fina.php>.
30. Santos M. Curso: Animal de experimentación como reactivo biológico en investigación, diagnóstico y control de fármacos [internet]. [Consultado 11 marzo 2017]. Disponible en: [http://www.urbe.fmed.edu.uy/cursos/animales\\_experimentacion/Roedores%20de%20laboratorio.pdf](http://www.urbe.fmed.edu.uy/cursos/animales_experimentacion/Roedores%20de%20laboratorio.pdf).
31. Goertz O1, Popp A, Kolbenschlag J, Vogelpohl J, Daigeler A, Ring A, et al. Intravital pathophysiological comparison of acid- and alkali-burn injuries in a murine model. *J Surg Res.* 2013;182(2):347-352.
32. Kim J1, Weibel TJ, Carter EJ, Calobrace MB, Foldi JF, Zawacki BE. A standard experimental 'chemical burn'. *Burns.* 1994;20(3):200-1.
33. National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.* 8ª ed. Washington. The National Academies Press; 2011.
34. Sharapin N. *Fundamentos de Tecnología de productos fitoterapéuticos.* Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. CYTED. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello;2000.
35. National Institutes of Health (NIH). Animal study proposal [internet]. [Consultado 2016 noviembre 24]. Disponible en: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/sampledoc/oacu3040-2.pdf>.
36. Navarro JA, Ramirez RA, Villagrán C. *Manual de Procedimientos recomendables para la investigación con animales.* [internet]. México: SAM-SARA; 2012 [consultado 2016 Julio 9]. Disponible en: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/static/profesionalesSalud/investigacionSalud/cbis/manualprocedimientosanimales.pdf>.
37. OECD. Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4* [internet]. Paris. 2015 [Consultado 2016 Julio 8]. Disponible en: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9715231e.pdf?expires=1468119731&id=id&accname=guest&checksum=ABA9EAB46472B2C892BC7377E5E336A>
38. Parente LM, Lino Júnior Rde S, Tresvenzol LM, Vinaud MC, de Paula JR, Paulo NM. Wound Healing and Anti-Inflammatory Effect in Animal Models of *Caléndula officinalis* L. Growing in Brazil. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012;2012:375671.
39. Fundación para la Investigación y el desarrollo de la salud. *Investigación Traslacional: Aprendiendo a escuchar* [internet]. [Consultado 2018 junio 15]. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/especial/article/view/1473/1521>.
40. Morgia G, Russo GI, Urzi D, Privitera S, Castelli T, Favilla V, Cimino S. A phase II, randomized, single-blinded, placebo-controlled clinical trial on the efficacy of Curcumina and *Caléndula* suppositories for the treatment of patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome type III. *Arch Ital Urol Androl.* 2017 Jun 30;89(2):110-113.
41. Saini P, Al-Shibani N, Sun J, Zhang W, Song F, Gregson KS, Windsor LJ. Effects of *Caléndula officinalis* on human gingival fibroblasts. *Homeopathy.* 2012 Apr;101(2):92-98.
42. Calvo MI, Cavero RY. Medicinal plants used for ophthalmological problems in Navarra (Spain). *J Ethnopharmacol.* 2016 Aug 22;190:212-218.
43. Ukiya M, Akihisa T, Yasukawa K, Tokuda H, Suzuki T, Kimura Y. Anti-inflammatory, anti-tumor-promoting, and cytotoxic activities of constituents of marigold (*Caléndula officinalis*) flowers. *J Nat Prod.* 2006;69(12):1692-1696.
44. Verma PK, Raina R, Sultana M, Singh M, Kumar P. Total antioxidant and oxidant status of plasma and renal tissue of cisplatin-induced nephrotoxic rats: protection by floral extracts of *Caléndula officinalis* Linn. *Ren Fail.* 2016;38(1):142-150.
45. Dey S, Sarkar M, Giri B. Anti-inflammatory and Anti-tumor Activities of Parthenolide: An Update. *J Chem Biol Ther.* 2016;1(2):107-112.
46. Agatonovic-Kustrin S, Babazadeh Ortakand D, Morton DW, Yusof AP. Rapid evaluation and comparison of natural products and antioxidant activity in *Caléndula*, feverfew, and German chamomile extracts. *J Chromatogr A.* 2015;1385:103-110.
47. Wyganowska-Swiatkowska M, Urbaniak P, Szkaradkiewicz A, Jankun J, Kotwicka M. Effects of chlorhexidine, essential oils and herbal medicines (*Salvia*, *Chamomile*, *Caléndula*) on human fibroblast in vitro. *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(2):125-131.
48. Mishra AK, Mishra A, Verma A, Chattopadhyay P. Effects of *Caléndula* Essential Oil-Based Cream on Biochemical Parameters of Skin of Albino Rats against Ultraviolet B Radiation. *Sci Pharm.* 2012 Jul-Sep;80(3):669-683.
49. Mishra A, Mishra A, Chattopadhyay P. Assessment of In vitro Sun Protection Factor of *Caléndula Officinalis* L. (*Asteraceae*) Essential Oil Formulation. *J Young Pharm.* 2012 Jan;4(1):17-21.
50. García-Risco MR, Mouhid L, Salas-Pérez L, López-Padilla A, Santoyo S, Jaime L, et al. Biological Activities of *Asteraceae* (*Achillea millefolium* and *Caléndula officinalis*) and *Lamiaceae* (*Melissa officinalis* and *Origanum majorana*) Plant Extracts. *Plant Foods Hum Nutr.* 2017 Mar;72(1):96-102.
51. Tabandeh MR, Oryan A, Mohammadalipour A. Polysaccharides of Aloe vera induce MMP-3 and TIMP-2 gene expression during the skin wound repair of rat. *Int J Biol Macromol.* 2014 Apr;65:424-430.
52. Farzadinia P, Jofreh N, Khatamsaz S, Movahed A, Akbarzadeh S, Mohammadi M, Bargahi A. Anti-inflammatory and Wound Healing Activities of Aloe vera, Honey and Milk Ointment on Second-Degree Burns in Rats. *Int J Low Extrem Wounds.* 2016 Sep;15(3):241-247.
53. Takzaree N, Hadjiakhondi A, Hassanzadeh G, Rouini MR, Manayi A, Zolbin MM. Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) activation in cutaneous wounds after topical application of aloe vera gel. *Can J Physiol Pharmacol.* 2016 Dec;94(12):1285-1290.
54. López-Jaramillo P, Pradilla LP, Bracho Y, Silva F. The endocannabinoid system and its relation with central obesity and metabolic syndrome: therapeutic implications. *Rev. Col. Cardiol.* 2005;12:113-121.

55. Baron EP. Comprehensive Review of Medicinal Marijuana, Cannabinoids, and Therapeutic Implications in Medicine and Headache: What a Long Strange Trip It's Been. *Headache*. 2015 Jun;55(6):885-916.
56. Devane WA, Dysarz FA 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*. 1988 Nov;34(5):605-613.
57. Grotenhermen F. Los cannabinoides y el Sistema endocannabinoide. *Cannabinoids*. 2006;1(1):10-14.
58. Maccarrone M, Bab I, Bíró T, Cabral GA, Dey SK, Di Marzo V, et al. Endocannabinoid signaling at the periphery: 50 years after THC. *Trends Pharmacol Sci*. 2015;36(5):277-296.
59. Dhadwal G, Kirchhof MG. The Risks and Benefits of Cannabis in the Dermatology Clinic. *J Cutan Med Surg*. 2018;22(2):194-199.
60. Oka S, Wakui J, Ikeda S, et al. Involvement of the cannabinoid CB2 receptor and its endogenous ligand 2-arachidonoylglycerol in oxazolone-induced contact dermatitis in mice. *J Immunol*. 2006;177:8796-8805.
61. Stander S, Reinhardt HW, Luger TA. Topical cannabinoid agonists. An effective new possibility for treating chronic pruritus [in German]. *Hautarzt*. 2006;57:801-807.
62. Wang LL, Zhao R, Li JY, et al. Pharmacological activation of cannabinoid 2 receptor attenuates inflammation, fibrogenesis, and promotes re-epithelialization during skin wound healing. *Eur J Pharmacol*. 2016;786:128-136.
63. Palao R, Monge I, Ruiz M, Barret JP. Chemical burns: Pathophysiology and treatment. *Burns*. 2010;36: 295–304.