

Actividad antimicrobiana de la melatonina y su impacto en la odontología

Antimicrobial Activity of Melatonin and its Impact on Dentistry

41

Univ Odontol. 2014 Jul-Dic; 33(71): 41-46. ISSN 0120-4319

DOSSIER CIENCIAS BÁSICAS, MEDICINA ORAL, BIOTECNOLOGÍA Y BIOINFORMÁTICA EN ODONTOLOGÍA

Carlos Andrés Castro Sánchez

Estudiante de pregrado en Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Jean Carlos Villamil Poveda

Bacteriólogo, investigador, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

Fredy Gamboa

Bacteriólogo, magíster en Ciencias Biológicas, doctor en Ciencias Biológicas, docente, investigador, Departamento de Microbiología y Centro de Investigaciones Odontológicas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Dabeiba Adriana García Robayo

Bacterióloga, magistra en Ciencias Biológicas, doctora en Ciencias Biológicas, docente, investigadora, Centro de Investigaciones Odontológicas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Artículo original del Semillero de Investigación, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

Castro CA, Villamil JC, Gamboa F, García DA. Actividad antimicrobiana de la melatonina y su impacto en la odontología. Univ Odontol. 2014 Jul-Dic; 33(71): 41-46. <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.uo33-71.aami>

doi:10.11144/Javeriana.uo33-71.aami

Recibido para publicación: 01/06/2014
Aceptado para publicación: 15/10/2014

Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/universitasodontologica>

RESUMEN

Antecedentes: la melatonina es una hormona producida en organismos vertebrados, invertebrados y plantas. Tiene importancia odontológica por su participación en procesos de oseointegración e inmunomodulación. Además, se ha reportado una posible actividad antibacteriana. **Objetivo:** evaluar el efecto antibacteriano de la melatonina sobre *Streptococcus mutans* CIO315, *Staphylococcus aureus* CIO613, *Staphylococcus epidermidis* CIO615 y *Escherichia coli* CIO465. **Métodos:** este estudio de diseño experimental se llevó a cabo con el método de dilución en agar Mueller-Hinton. Se evaluaron concentraciones de melatonina de 43 a 3 μmol . De cada una de las cuatro bacterias se preparó una suspensión que se ajustó a la escala 0,5 de McFarland. Finalmente, sobre la superficie del agar se colocó 1 μl de cada bacteria y se incubó por 24 y 48 h a 37 °C. **Resultados:** la melatonina mostró un efecto antibacteriano frente a los cuatro microorganismos estudiados en una concentración de 43 μmol a las 24 y 48 h. **Conclusiones:** la melatonina presenta una excelente actividad antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans* CIO315, *Staphylococcus aureus* CIO613, *Staphylococcus epidermidis* CIO615 y *Escherichia coli* CIO465 en una concentración de 43 μmol , lo que indica que se podría utilizar como una opción en la prevención y tratamiento de patologías orales como la caries dental y la periodontitis.

PALABRAS CLAVE

Antibacteriano; *Escherichia coli*; melatonina; metabolismo óseo; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus epidermidis*; *Streptococcus mutans*

ÁREA TEMÁTICA

Microbiología oral

ABSTRACT

Background: Melatonin is a hormone produced by vertebrate organisms, invertebrates, and plants. It is important in dentistry because it participates in osseointegration and immunomodulation processes. In addition, there are reports suggesting a possible antibacterial activity of melatonin. **Purpose:** To evaluate the antibacterial effect of melatonin on *Streptococcus mutans* CIO315, *Staphylococcus aureus* CIO613, *Staphylococcus epidermidis* CIO615, and *Escherichia coli* CIO465. **Methods:** This experimental study was carried out through the Mueller-Hinton agar dilution method. 43 to 3 μmol melatonin concentrations were analyzed on a 0.5 McFarland adjusted suspension of each strain. Finally a 1 μl of each microorganism was spread on the agar and incubated at 37 °C for 24 and 48 h. **Results:** Melatonin showed an antibacterial effect against the four bacteria studied with a 43 μmol concentration at 24 and 48 h. **Conclusions:** Melatonin has excellent antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* CIO315, *Staphylococcus aureus* CIO613, *Staphylococcus epidermidis* CIO615, and *Escherichia coli* CIO465 at a concentration of 43 μmol , indicating that it could be an option in the prevention and treatment of oral diseases such as dental caries and periodontitis.

KEYWORDS

Antibacterial; *Escherichia coli*; melatonin; bone metabolism; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus epidermidis*; *Streptococcus mutans*

THEMATIC FIELD

Oral microbiology

INTRODUCCIÓN

La melatonina es una sustancia natural producida por la glándula pineal (epífisis) presente en todas las formas de vida. Esta hormona (5-acetil-nmethoxytryptamina) es sintetizada por plantas, invertebrados y vertebrados (1). Produce una gran variedad de efectos beneficiosos dentro de las células y organismos, incluida la cavidad oral. Una vez liberada en el sistema circulatorio, esta hormona se difunde en la saliva a través de las glándulas salivares. Una de las tantas funciones de la saliva es lubricar la cavidad oral y modular la flora oral, debido a que contiene inmunoglobulina A y otras moléculas antimicrobianas (2), que sirve como mecanismo de protección, tanto en la cavidad oral como en el periodonto. Existen estudios que muestran que esta hormona es un excelente antioxidante, ya que protege las células durante procesos severos de inflamación, al reducir el daño oxidativo y servir como un perfecto inmunomodulador (3).

La melatonina es una molécula altamente versátil. Un ejemplo claro es su comportamiento en el metabolismo óseo. Al respecto, se ha documentado en diferentes estudios que la melatonina actúa como mediador importante en la formación y estimulación de hueso (4). Los osteoclastos son células que reabsorben la matriz extracelular por diversos mecanismos. Debido a sus propiedades antioxidantes y su capacidad para desintoxicar los radicales libres, la melatonina puede interferir en la función de dichas células, incluidos algunos leucocitos como los macrófagos y promover de esta forma la osteogénesis (5,6).

La melatonina aumenta la masa ósea al eliminar la reabsorción ósea a través de la baja regulación del ligando del receptor activador para el factor nuclear kB (RANKL). Estos datos apuntan hacia un efecto osteogénico de la melatonina, ya que podría ser utilizado como agente terapéutico de importancia clínica en situaciones en las que la formación del hueso sería conveniente. Se pueden mencionar regeneración de injertos óseos y oseointegración de implantes y en enfermedades periodontales y de origen óseo (7).

Varios estudios han mostrado que la melatonina tiene una alta capacidad de unirse a metales como el hierro, el cobre y el zinc, lo que reduce su disponibilidad citoplasmática. Las bacterias son fuertemente dependientes de metales libres, en particular del hierro, para su crecimiento. Esta hormona pasa fácilmente a través de todas las barreras biológicas (como la pared celular bacteriana), se une al hierro en el citoplasma

y restringe el crecimiento bacteriano gracias a este mecanismo (8).

Hasta el momento, se tiene información de la actividad antimicrobiana de la melatonina sobre *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y *Bacillus subtilis*. Wang y colaboradores (9) observaron la inhibición de estos microorganismos por acción de la melatonina en una concentración de 4 mmol. En un estudio posterior, Tekbas y colaboradores (8) observaron que en bacterias grampositivas, como el *S. aureus*, la concentración inhibitoria mínima (CIM) de la melatonina fue de 1,07 mmol a las 24 h de incubación; mientras que en bacterias gramnegativas, como la *Pseudomonas aeruginosa*, la CIM fue de 0,53 mmol. Sin embargo, a las 48 h observaron una reducción del CIM, obteniendo concentraciones de 0,53 mmol y 0,13 mmol para los microorganismos grampositivos y gramnegativos, respectivamente.

El propósito de este trabajo experimental fue evaluar el efecto antimicrobiano de diferentes concentraciones de melatonina sobre *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) y *Escherichia coli* (*E. coli*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas bacterianas y preparación del inóculo

Este estudio contó con cepas bacterianas debidamente identificadas y tipificadas en el Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá, Colombia. Hacen parte del biobanco del Centro. Las cuatro cepas utilizadas fueron *S. aureus* (CIO613), *S. mutans* (CIO315), *S. epidermidis* (CIO615) y *E. coli* (CIO465), que estaban preservadas por congelamiento a -70 °C. Después de descongelados y con el fin de reconstituir las cepas y confirmar su viabilidad, 20 µl de los viales de preservación fueron cultivados en caldo infusión de cerebro-corazón (BHI) a 37 °C durante 16 h. Posteriormente, las bacterias que crecieron en caldo BHI fueron sembradas en agar sangre y cultivadas durante 16 h a 37 °C. Colonias puras y viables de las 4 cepas se reconfirmaron través de la tinción de Gram y pruebas bioquímicas.

Determinación de la concentración inhibitoria mínima

La actividad antimicrobiana de la melatonina sobre las 4 bacterias objeto de estudio se analizó por el método de dilución en agar Mueller-Hinton. Con este

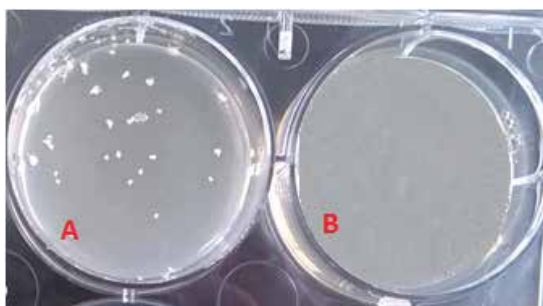
fin se preparó una solución existente de melatonina a 100 mg/ml en dimetil sulfóxido (DMSO), de acuerdo con un trabajo previo de estandarización con este disolvente. A partir de esa solución, se prepararon diluciones seriadas (desde 43 hasta 3 μmol) que se incorporaron en 6 ml de agar Mueller-Hinton estéril, y en estado líquido se mezclaron y se sirvieron en las placas correspondientes. Luego de haberse solidificado y después de un lapso de 20 min, se inocularon las cepas bacterianas con el método que se describe más adelante. De cada una de las 4 bacterias cultivadas en agar sangre (24 h de crecimiento a 37 °C) en estado puro se preparó una suspensión en amortiguador de fosfato que se ajustó a la escala 0,5 de McFarland por turbidimetría. Finalmente, sobre la superficie del agar Mueller-Hinton preparado con la melatonina se colocó 1 μl de cada bacteria y se incubó a 37 °C durante 24 y 48 h en condiciones de anaerobiosis. Se realizó inspección visual del crecimiento bacteriano sobre el agar a las 24 y 48 h de incubación y una tinción de Gram para confirmar las características morfológicas propias de cada bacteria. Se montaron controles con el medio Mueller-Hinton con DMSO y sin melatonina, medio Mueller-Hinton sin melatonina y sin DMSO. También se montaron pruebas de control con los antimicrobianos vancomicina y amoxicilina. Todos los ensayos se realizaron por duplicado. Se concluyó que el microorganismo es susceptible a la melatonina, al haber ausencia de crecimiento bacteriano. Por el contrario, se determinó como no susceptible cuando se presenta crecimiento bacteriano sobre el medio evaluado. El análisis de los hallazgos fue descriptivo.

RESULTADOS

En una prueba preliminar se determinó que el mejor disolvente para la melatonina era el DMSO, debido a que la solución es más homogénea y a que el tiempo que la melatonina tarda en disolverse es más corto, al ser comparado con el etanol. Por otra parte, al colocar la solución de melatonina en etanol, se formaban precipitados en el medio Mueller-Hinton (figura 1).

FIGURA 1

DISOLUCIÓN DE LA MELATONINA A 43 μmol CON LOS DOS DISOLVENTES EN AGAR MUELLER-HINTON. A) MELATONINA DISUELTA EN ETANOL. B) MELATONINA DISUELTA EN DMSO



Por otro lado, se determinó la cantidad máxima de DMSO en el medio Mueller-Hinton tolerable por las bacterias del estudio. Se observó que cantidades $\leq 100 \mu\text{l}$ de DMSO aseguran el crecimiento de las bacterias (tabla 1). Cabe resaltar que con esta cantidad de DMSO la concentración máxima de melatonina adicionada a cada pozo fue de 43 μmol .

TABLA 1
RESULTADOS OBTENIDOS EN EL CRECIMIENTO DE LAS CUATRO CEPAS INCLUIDAS EN EL ESTUDIO
CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE DMSO

Cantidad de DMSO/pozo (μl)	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. mutans</i>	<i>E. coli</i>
500,00	-	-	-	-
250,00	-	-	-	-
125,00	-	-	-	-
100,00	+	+	+	+
70,00	+	+	+	+
62,50	+	+	+	+
50,00	+	+	+	+
31,25	+	+	+	+
15,60	+	+	+	+
7,80	+	+	+	+
3,90	+	+	+	+
1,90	+	+	+	+
0,90	+	+	+	+
0,48	+	+	+	+

+: crecimiento de la bacteria; -: ausencia de crecimiento.

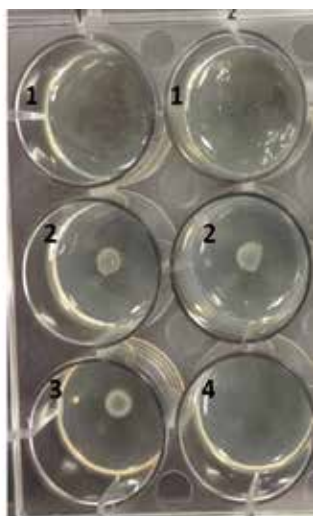
Para determinar la CIM de la melatonina, se utilizaron concentraciones desde 43 hasta 3 μmol . En la tabla 2 se observa la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano a las 24 y 48 h en las diferentes concentraciones de melatonina. Se observa inhibición del crecimiento a las 24 h en concentraciones $\geq 27 \mu\text{mol}$. Sin embargo, la CIM de melatonina para todas las bacterias evaluadas en el estudio fue de 43 μmol luego de 48 h (figura 2).

TABLA 2
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA MELATONINA EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE LOS CUATRO MICRORGANISMOS EN ESTUDIO

CIM de melatonina (μmol)	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>		<i>S. mutans</i>		<i>E. coli</i>	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	43	-	-	-	-	-	-	-
30	-	+	-	+	-	+	-	+
27	-	+	-	+	-	+	-	+
21	+	+	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+

+: crecimiento de la bacteria; -: ausencia de crecimiento.

FIGURA 2
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA MELATONINA A 43 μmol SOBRE *S. MUTANS* A LAS 48 H DE INCUBACIÓN A 37 °C EN CONDICIONES DE ANAEROBIOSIS



1) Medio Mueller-Hinton con melatonina en una concentración de 43 μmol en DMSO; 2) medio Mueller-Hinton con melatonina en una concentración 100 μmol ; 3) medio Mueller-Hinton sin melatonina; 4) medio Mueller-Hinton sin inocular para control de esterilidad.

Las coloraciones de Gram realizadas a los 4 microrganismos, trascurridas 48 h de incubación, no presentaron ningún cambio morfológico. Esto significa que para los géneros *Streptococcus* spp. y *Staphylococcus* spp. se observaron cocos grampositivos, y para *E. coli*, bacilos gramnegativos.

DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos, el disolvente de la melatonina que mostró mejores resultados fue el DMSO, al ser comparado con el etanol. Esta diferencia se explica, en primer lugar, porque la melatonina en una concentración de 100 mg/ml no estuvo completamente disuelta en etanol, al presentar precipitados en el medio de cultivo. Este hallazgo fue similar al obtenido por Tekbas y colaboradores, quienes mencionan que el etanol no es capaz de disolver eficientemente la melatonina en altas concentraciones, debido a la mezcla de alcohol y agua que se produce en el medio de cultivo. Dichos autores sugieren utilizar el DMSO como disolvente de esta hormona (8).

El papel del DMSO como agente bacteriostático o bactericida ha sido poco estudiado. Existen estudios donde se evaluaron varias concentraciones de DMSO frente a un gran número de microorganismos. Reportan un efecto bacteriostático frente a *E. coli*, *S. aureus* y *Pseudomonas* spp. en una concentración del 10 % de DMSO, y un efecto bactericida en concentraciones del 50 % para el *S. aureus* y de 20-30 % para los otros microorganismos. El modo de acción y efecto bactericida del DMSO frente a los microorganismos aún no es claro (10,11).

Una concentración de 43 μmol la melatonina mostró actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. mutans* y *E. coli*. El efecto inhibitorio ejercido por la melatonina se debe a la capacidad de esta molécula para atravesar la pared celular bacteriana y captar el hierro presente en el citoplasma bacteriano. Se emplea como cofactor en múltiples reacciones enzimáticas (12).

Karakas y colaboradores, en el 2013, reportaron una inhibición del crecimiento de bacterias grampositivas (*Streptococcus pyogenes*, *S. aureus* y *S. epidermidis*) y gramnegativas (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella pneumoniae*) por parte de la melatonina a una con-

centración de 0,4 mmol. No obstante, estos autores identifican una mayor susceptibilidad para bacterias gramnegativas, medidas por halo de inhibición, debido a que poseen una envoltura celular compuesta por proteínas glicopéptidas, lipopolisacáridos y grandes cantidades de lípidos (13). En el presente estudio se observó la misma sensibilidad tanto en bacterias grampositivas como en gramnegativas. Estas diferencias se dan quizás por la técnica empleada para evaluar la actividad antimicrobiana, lo cual se apoya en lo observado en un estudio piloto del que no se obtuvieron resultados favorables con el uso de sensibilidad discos, por la dificultad que tiene la melatonina de difundirse en el agar. Dado lo anterior, se optó por utilizar un método donde la melatonina estuviera inmersa en el agar. Se colocaron pequeñas cantidades de bacteria sobre el agar y se evaluó la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano.

Por otra parte, se ha visto que la melatonina puede estimular la diferenciación de osteoblastos y la formación ósea en concentraciones de 50-100 μmol (4,14), debido a que esta molécula estimula la síntesis de las fibras de colágeno tipo I y la diferenciación osteogénica en varios tipos de células como los preosteoblastos MC3T3 (15,16). Roth y colaboradores (17), en 1999, reportaron que las células preosteoblásticas, en presencia de melatonina en una concentración de 50 μmol , aceleran su proceso de mineralización de 21 a 12 días. En el metabolismo óseo, los osteoclastos son los encargados de la reabsorción ósea a través de la producción de radicales libres. Dichos radicales, derivados del oxígeno, son producidos por los fagocitos, monocitos, macrófagos y neutrófilos, debido a que estas células están presentes en el tejido óseo en inflamaciones crónicas. Se generan radicales libres que estimulan los osteoclastos con el fin de causar una degradación del tejido (18,19). Gracias a su acción antioxidante, la melatonina interfiere en la actividad de los osteoclastos e inhibe así la reabsorción ósea. En este estudio se puede observar que la melatonina presentó actividad antimicrobiana a 43 μmol , lo que indica que esta concentración no muestra una diferencia considerable con respecto a la utilizada en la formación ósea.

Este es el primer estudio en el cual se evalúa el efecto antibacteriano de la melatonina en el *S. mutans*. Este microorganismo grampositivo reside en la biopelícula que se forma en la superficie dental y es el principal generador de caries, debido a su capacidad de producir ácido y sobrevivir en un medio ácido (20,21). Dada la capacidad inhibitoria observada de la melatonina

sobre el crecimiento de este microorganismo, se podría pensar en su uso clínico. Además de ser utilizada en procesos de estimulación ósea, es factible emplear la melatonina como complemento en la prevención y tratamiento de patologías orales como la caries dental.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Este estudio indica que una concentración de 43 μmol de melatonina ejerce un efecto antibacteriano en *S. mutans*, *S. aureus*, *S. epidermidis* y *E. coli*, lo que abre la puerta a posibles estudios para evaluar su uso en la prevención o como terapia para enfermedades orales.

REFERENCIAS

1. Hardeland R, Fuhrberg B. Ubiquitous melatonin-presence and effects in unicells, plants, and animals. *Trends Comp Biochem Physiol.* 1996; 2: 25-45.
2. Cutando A, Galindo P, Gomez-Moreno G, Arana C, Bolanos J, Acuna-Castroviejo D, Wang HL. Relationship between salivary melatonin and severity of periodontal disease. *J Periodontol.* 2006 Sep; 77(9):1533-8.
3. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolin I, Herrera F, Martin V, Reiter RJ. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res.* 2004 Jan; 36(1): 1-9.
4. Nakade O, Koyama H, Arijji H, Yajima A, Kaku T. Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human bone cells in vitro. *J Pineal Res.* 1999 Sep; 27(2): 106-10.
5. Cardinali DP, Ladizesky MG, Boggio V, Cutrera RA, Mautalen C. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives. *J Pineal Res.* 2003 Mar; 34(2): 81-7.
6. Koyama H, Nakade O, Takada Y, Kaku T, Lau KH. Melatonin at pharmacologic doses increases bone mass by suppressing resorption through down-regulation of the RANKL-mediated osteoclast formation and activation. *J Bone Miner Res.* 2002 Jul; 17(7): 1219-29.
7. Calvo-Guirado JL, López-Marí L, Ortiz AJ, Negri B, Pardo G, Ramírez MP, Delgado R, Maté JE, Martínez JM, Barona C. Estimulación ósea mediante hueso colagenizado porcino y melatonina relacionado con implantes dentales de superficie rugosa: estudio experimental en perros Beagle. *Gaceta Dental.* 2010; 21(216): 110-21.
8. Tekbas OF, Ogur R, Korkmaz A, Kilic A, Reiter RJ. Melatonin as an antibiotic: new insights into the actions of this ubiquitous molecule. *J Pineal Res.* 2008 Mar; 44(2): 222-6.
9. Wang HX, Liu F, Ng TB. Examination of pineal indoles and 6-methoxy-2-benzoxazolinone for antioxidant and

- antimicrobial effects. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2001 Nov; 130(3): 379-88.
10. Basch H, Gadebusch HH. In vitro antimicrobial activity of dimethylsulfoxide. *Appl Microbiol*. 1968 Dec; 16(12): 1953-4.
 11. Pottz GE, Rampey JH, Benjamin F. The effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on antibiotic sensitivity of a group of medically important microorganisms: preliminary report. *Ann N Y Acad Sci*. 1967 Mar 15; 141(1): 261-72.
 12. Skaar EP, Schneewind O. Iron-regulated surface determinants (Isd) of *Staphylococcus aureus*: Stealing iron from heme. *Microbes Infect*. 2004 Apr; 6(4): 390-7.
 13. Karakas FP, karakas A, Turker AU, Yildirim AB. Antibacterial and antitumor activities of melatonin hormone. *Spatula DD*. 2013; 3(2): 33-9.
 14. Hebelers BH, Chatterjee AN, Young FE. Regulation of the bacterial cell wall: effect of antibiotics on lipid biosynthesis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1973 Sep; 4(3): 346-53.
 15. Reiter RJ, Rosales-Corral SA, Liu XY, Acuna-Castroviejo D, Escames G, Tan DX. Melatonin in the oral cavity: physiological and pathological implications. *J Periodontol Res*. 2015 Feb; 50(1): 9-17.
 16. Cutando A, Gómez-Moreno G, Arana C, Acuña-Castroviejo D, Reiter RJ. Melatonin: potential functions in the oral cavity. *J Periodontol*. 2007; 78(6): 1094-102.
 17. Roth JA, Kim BG, Lin WL, Cho MI. Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. *J Biol Chem*. 1999 Jul 30; 274(31): 22041-7.
 18. Gao W, Lin M, Liang A, Zhang L, Chen C, Liang G, Xu C, Peng Y, Chen C, Huang D, Su P. Melatonin enhances chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *J Pineal Res*. 2014 Jan; 56(1): 62-70.
 19. María S, Witt-Enderby PA. Melatonin effects on bone: potential use for the prevention and treatment for osteopenia, osteoporosis, and periodontal disease and for use in bone-grafting procedures. *J Pineal Res*. 2014 Mar; 56(2): 115-25.
 20. Park JB. Effects of fibroblast growth factor 2 on osteoblastic proliferation and differentiation by regulating bone morphogenetic protein receptor expression. *J Craniofac Surg*. 2011 Sep; 22(5): 1880-2.
 21. Metwalli KH, Khan SA, Krom BP, Jabra-Rizk MA. *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the human mouth: a sticky situation. *PLoS Pathog*. 2013; 9(10): e1003616.

Fredy Gamboa
gamboa@javeriana.edu.co

Dabeiba Adriana García Robayo
garciad@javeriana.edu.co

CORRESPONDENCIA

Carlos Andrés Castro Sánchez
eatenchek@hotmail.com

Jean Carlos Villamil Poveda
jean.villamil@javeriana.edu.co