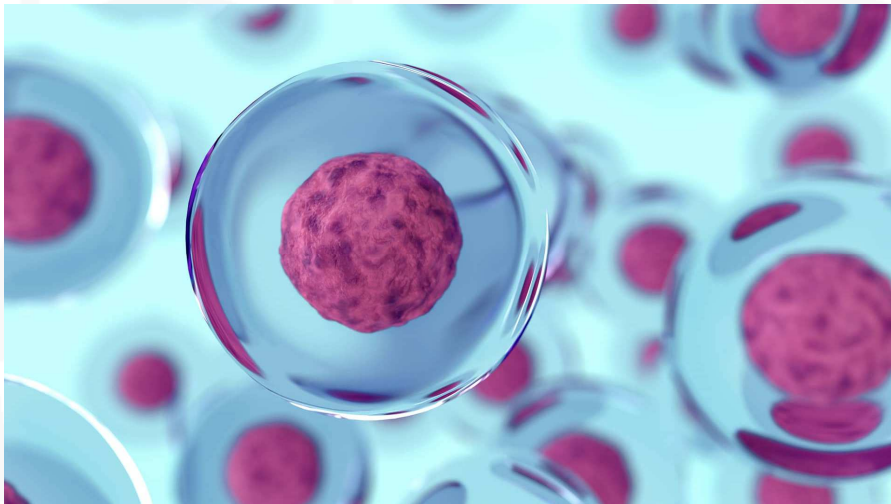


# **TRABAJO FIN DE GRADO**

## **BIOLOGÍA**

**Efecto de la melatonina en las células madre mesenquimales**

**Effect of melatonin on mesenchymal stem cells**



**Yaiza Montes Carballal**

**Departamento de Morfología Celular**

**Febrero 2022**



**UNIVERSIDAD DE OVIEDO  
FACULTAD DE BIOLOGÍA**



## RESUMEN

La melatonina es una indolamina producida por la glándula pineal, muy conservada a lo largo de la evolución, que regula una gran cantidad de procesos, algunos tan conocidos como el ciclo circadiano, entre otros. Recientemente se ha estudiado ampliamente su papel como un potente antioxidante y agente antiinflamatorio. En los últimos años, las células madre han sido objeto de estudio gracias a su gran capacidad de autorrenovación, siendo de suma importancia para la regeneración tisular. Entre los distintos tipos, destacan las células madre mesenquimales (CMMs). La melatonina se ha propuesto como un importante modulador de la diferenciación y del destino de las CMMs al regular mecanismos como el estrés oxidativo y el ciclo celular. En este trabajo se ha realizado una revisión de la bibliografía existente hasta el momento, teniendo como objetivo el estudio del papel de la melatonina en las CMMs, concretamente en las células satélite presentes en el músculo y como ésta ayuda a la regeneración y reparación muscular.

## ABSTRACT

Melatonin is an indolamine produced by the pineal gland, which is very preserved throughout the evolution, regulating diverse processes, some such circadian cycle, among others. Recently it is widely studied its role as a powerful antioxidant and as an anti-inflammatory agent. Over the last years, stem cells have been the object of study due to their great self-renewal capacity, being of paramount importance for tissue regeneration. Particularly, the study of mesenchymal stem cells (MSCs) has gained importance. Melatonin has been proposed as an important modulator of the differentiation and cell fate of MSCs by regulating mechanisms such as oxidative stress and the cell cycle. In this research a review of the existing bibliography has been made, aiming to study the role of melatonin in the MSCs and specifically in the satellite cells existing in the muscles and how it favors muscle regeneration and reparation.

## INDICE

|  |    |
|--|----|
| RESUMEN.....                           | 1  |
| 1 INTRODUCCIÓN.....                    | 3  |
| 1.1. CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES ..... | 3  |
| 1.2. CÉLULAS SATÉLITE .....            | 5  |
| 1.3. LA MELATONINA.....                | 9  |
| 2 OBJETIVOS .....                      | 11 |
| 3 MATERIAL Y MÉTODOS.....              | 11 |
| 4 RESULTADOS.....                      | 13 |
| 5 DISCUSIÓN .....                      | 16 |
| 6 CONCLUSIONES .....                   | 24 |
| 7 BIBLIOGRAFÍA .....                   | 25 |

# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1. CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

### 1.1.1 Introducción histórica

Los primeros hallazgos en transplantes y reparación de órganos fueron realizados por el cirujano Alexis Carrel en 1912. Carrel, cultivó tejidos embrionarios de pollo y observó que, doblaban su tamaño cada 48 horas (Lázaro et al., 2016). Sin embargo, el estudio de lo que actualmente entendemos por células madre comenzó en 1960 con los experimentos realizados por Ernest McCulloch y James Till. Éstos observaron que inyectando porciones de médula ósea en ratones irradiados se formaban nódulos de manera proporcional al número de células inyectadas. En 1961, descubrieron que estas células eran capaces de formar colonias y en 1963 en colaboración con Lou Siminovith, obtuvieron pruebas de la renovación de dichas células, una de las características principales de las células madre (Brunt et al., 2012).

En 1981 Martin Evans y Matthew Kaufman aislaron exitosamente por primera vez células desde la masa interna de blastocistos de ratón. Estas células fueron descritas y nombradas, a finales del siglo XX, por Haeckel y su equipo como *stammzelle* (stem cell o células madre), concepto que se utiliza actualmente. Posteriormente, Haeckel y Theodor Boveri describieron las características de las células germinales entre las que se encuentran las características hereditarias, su pluripotencialidad y su autorrenovación (Mata-Miranda et al., 2013).

Durante la década de 1970, Friedenstein y su equipo, descubrieron una subpoblación de células de la médula ósea con capacidad adherente y apariencia fibroblastoide. A éstas células las denominaron mecanocitos estromales o unidades formadoras de fibroblastos (Bianco et al., 2008). Además, Friedenstein y Owen, demostraron que éstas células, tenían la capacidad de originar células del tejido óseo, cartilaginoso y conjuntivo (Bianco et al., 2008). En 1987, Friedenstein y colaboradores observaron que estas células provenientes de un solo progenitor tienen un gran potencial proliferativo, de autorrenovación y totipotencialidad (Flores-Figueroa et al., 2006b). Por ello, a finales de los 90 se propone la existencia de una célula troncal que era capaz de dar los diferentes tejidos y a la que se denominó célula estromal troncal.

En 1998 el profesor Thomson de la universidad de Wisconsin desarrolló la primera línea de células madre embrionarias humana (HCME) derivadas de la masa celular interna de un blastocisto producido por fertilización *in vitro* (Mata-Miranda et al., 2013).

### 1.1.2 Descripción y clasificación de las células madre

Las células madre son un grupo específico de células indiferenciadas que tienen un potencial proliferativo elevado y presentan dos características fundamentales: son capaces de autorrenovarse (forman células idénticas a las de origen) y son capaces de generar uno o más tipos celulares que desempeñan funciones especializadas en el organismo (Flores-Figueroa et al., 2006b). Además, para que sean consideradas células madre tienen que cumplir una serie de criterios según *The International Society Cellular* (Dominici et al., 2006): deben de ser adherentes en cultivo; expresar los antígenos CD73, CD90 y CD105 en ausencia de antígenos hematopoyéticos como CD34, CD45, no pueden expresar marcadores de monocitos, macrófagos y linfocitos B y por último deben de ser capaces de diferenciarse *in vitro* en osteoblastos, adipocitos y condrocitos bajo condiciones estándar de cultivo (Arévalo Romero et al., 2007; Dominici et al., 2006). Estudios actuales muestran que dentro de las células madre mesenquimales (CMMs) encontramos distintas poblaciones y no todas ellas tienen el mismo potencial de diferenciación, si no que depende del ambiente en el que se encuentren. (Flores-Figueroa et al., 2006a).

Teniendo en cuenta el potencial de diferenciación las células madre pueden ser: totipotentes, pluripotentes, multipotentes y unipotentes. Las células madre totipotentes son aquellas que dan lugar tanto al embrión como al trofoblasto (Mata-Miranda et al., 2013); las pluripotenciales dan lugar a tejidos procedentes de las tres capas embrionarias; las multipotenciales darán lugar a distintos tipos celulares procedentes de la misma capa (Prósper & Verfaillie, 2003) y las unipotenciales son aquellas que solo dan lugar a un tipo de célula específica (Mata-Miranda et al., 2013).

Dependiendo de su origen las células madre pueden dividirse en embrionarias o somáticas. Las embrionarias son células pluripotenciales. Las somáticas son en su mayoría multipotenciales. Este último grupo ha sido de gran interés en los últimos años ya que su utilización no presenta problemas éticos (Flores-Figueroa et al., 2006b).

Las células madre somáticas se dividen en varios grupos, diferenciamos entre las células madre hematopoyéticas, CMMs, células *side population* y células progenitoras multipotenciales adultas (Flores-Figueroa et al., 2006b; Prósper & Verfaillie, 2003). Nos centraremos en las CMMs, las cuales son células adultas multipotenciales con morfología fibroblastoide, por lo que también se las denomina Unidades Formadoras de Colonias Fibroblastoides. Se localizan principalmente en la médula ósea, placenta, sangre del cordón umbilical y tejido adiposo (Carrasco Yalan et al., 2010). Tienen capacidad para dar origen a diversos tipos celulares como los fibroblastos medulares o células reticulares, adipocitos, osteoblastos y condrocitos (Figura 1). Además, son células con una gran plasticidad por lo

que también pueden diferenciarse a tenocitos, células nerviosas y miocitos. (Arévalo Romero et al., 2007; Flores-Figueroa et al., 2006a). Estos último están formados por las células satélite musculares, de las que hablaremos a continuación.

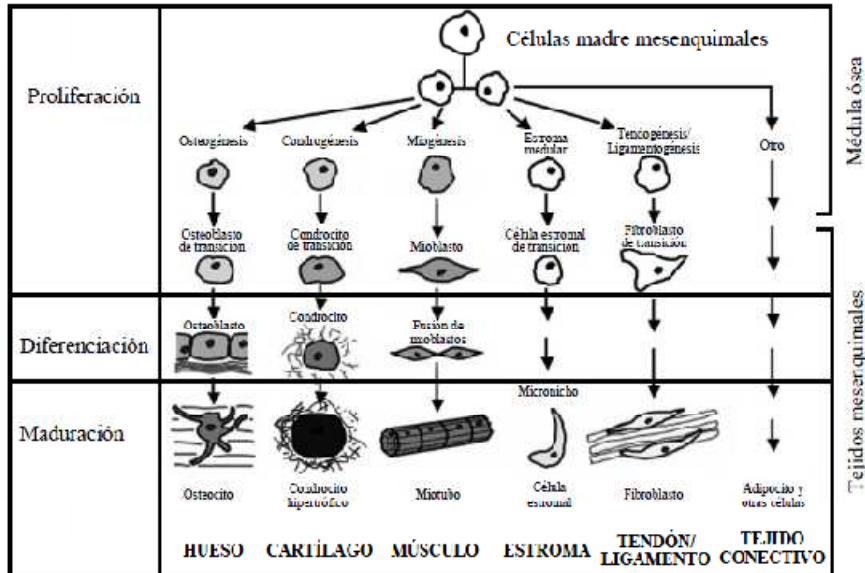


Figura 1 Esquema de la diferenciación de las células madre mesenquimales. Se puede ver los diferentes linajes celulares que se obtienen. Figura tomada de Sanjurjo Rodríguez, 2012.

## 1.2. CÉLULAS SATÉLITE

Aunque la mayor evidencia de las funciones de estas células provino de cultivos celulares realizados posteriormente, ya en 1961 Alexander Mauro, observó por microscopía electrónica a un grupo de células mononucleadas en la periferia del músculo esquelético adulto. A estas células las denominó células satélite debido a su posición anatómica, debajo de la lámina basal pero fuera de la membrana plasmática de las miofibrillas (Alexander, 1961; Ono et al., 2010).

Esta posición anatómica, dió lugar a la hipótesis de que estas células podrían estar relacionadas con el crecimiento y regeneración del músculo esquelético. Tras una serie de experimentos, se demostró que estas células en el músculo adulto son mitóticamente inactivas, quiescentes, pero pueden entrar rápidamente en el ciclo celular tras una lesión y además dan lugar a la activación de progenitores miogénicos (Yin et al., 2013).

Se observó que las células satélite se activaban tras el aplastamiento del músculo esquelético. Más tarde, buscando el factor de activación vieron que la proliferación y diferenciación responden a factores de crecimiento. Numerosos estudios muestran que estas

dos acciones durante la regeneración están fuertemente influenciadas por la inervación, vasculatura, hormonas y extensión del tejido dañado (Yin et al., 2013).

Ya hemos visto que las CMMs tienen que ser capaces de autorrenovarse y de dar lugar a células hijas diferenciadas (Flores-Figueroa et al., 2006b). Como consecuencia, las células satélite encontradas en el músculo son células madre. Su capacidad de autorrenovación se descubrió al transplantar células satélite junto a las miofibrillas, lo que dio lugar a cientos de nuevas células satélite y miles de mionúcleos. Además estas células se diferencian hacia miofibrillas (Collins et al., 2005).

Actualmente se sabe que las células satélite constituyen un grupo heterogéneo, es decir existen diferentes poblaciones (Figura 2). Estas diferencias se expresan tanto a nivel de:

- expresión génica: expresan diversos factores de transcripción, entre los que se encuentran principalmente Pax7 y Pax3 y factores reguladores miogénicos, entre los que destacan MyoD y Myf5 (Relaix et al., 2006)
- densidad de población y potencial para diferenciarse hacia distintos linajes: diferentes experimentos, determinaron que la mayoría de las células satélite entran rápidamente en el ciclo celular (población receptiva) mientras que el 20% restante (población de reserva) lo hacen de manera mucho más lenta y mantienen su estado inactivo hasta que se produce una señal extensa de daño o crecimiento (Shefer et al., 2004; Yin et al., 2013).

Las células madre satélite activadas ( $Pax7^+$ ,  $Myf5^-$ ,  $MyoD^-$ ) pueden sufrir divisiones simétricas para expandir la población de células madre satélite o divisiones asimétricas para mantener la población de células madre y generar progenitores miogénicos. Además, las células satélite también pueden comprometerse con el linaje miogénico y proliferar para dar lugar a progenitores miogénicos ( $Pax7^+$ ,  $Myf5^+$  y/o  $MyoD^+$ ). Los progenitores miogénicos pueden dividirse asimétricamente o diferenciarse directamente en miocitos que se fusionan y forman nuevas miofibrillas (Dumont et al., 2015).

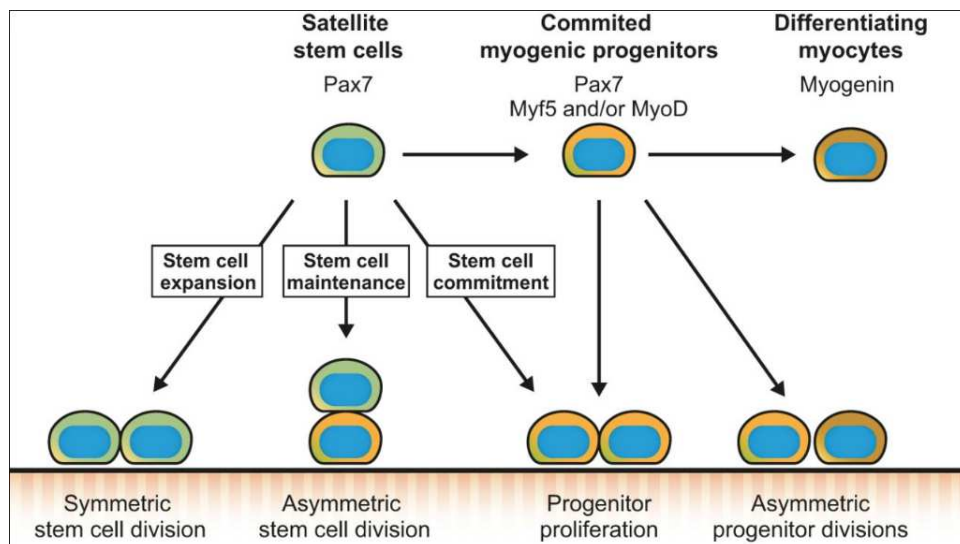


Figura 2: En esta imagen se puede observar las distintas poblaciones de células satélite. Además se señalan los factores de transcripción que se necesitan en la diferenciación cada una de las distintas poblaciones. Figura 2 tomada de Dumont et al., 2015.

### 1.2.1 Formación del músculo

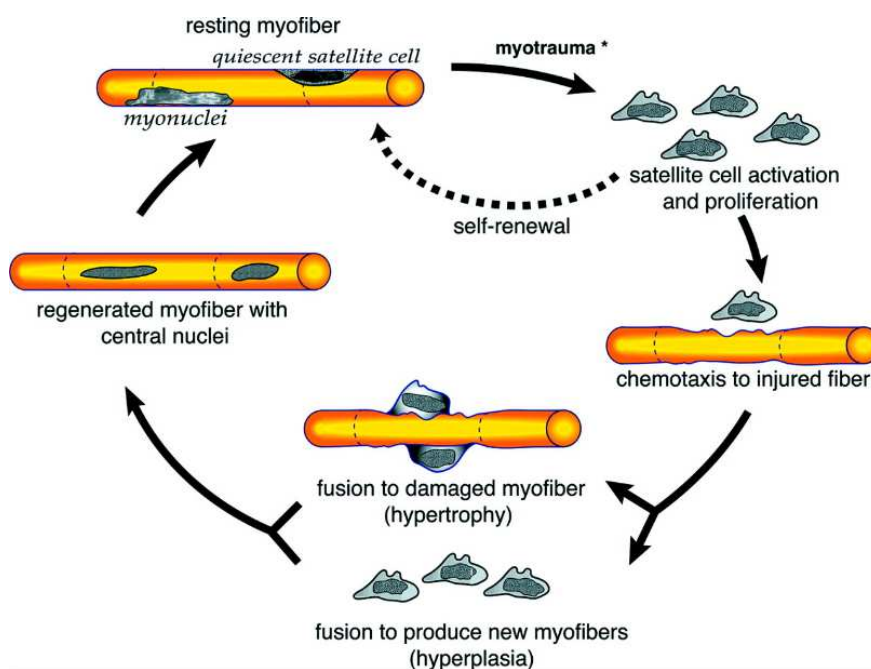
El proceso de formación del músculo se denomina miogénesis. El principal estímulo que desencadena este proceso es el daño muscular. El músculo en reposo está en estado quiescente pero tras la lesión se activa y da lugar a los progenitores miogénicos necesarios para formar nuevas fibras y para mantener el pool de de células satélite. Las etapas de formación del músculo son las siguientes:

- Fusión de los mioblastos: el proceso comienza con la activación de los progenitores miogénicos. La especificación y diferenciación están coordinadas por factores miogénicos regulatorios: Myf5, MyoD, miogenina y MRF4. Los factores Myf5 y MyoD comprometen irreversiblemente a las células para formar mioblastos que se fusionan y dan lugar a la formación de miotúbulos. A su vez, la fusión de los miotúbulos da lugar a las miofibrillas. Los factores miogenina y MRF4 producen proteínas estructurales para la funcionalidad de la miofibrilla (Avila Aviles et al., 2019; Lehka & Rędowicz, 2020).
- Migración: se produce la formación de grupos de células competentes de forma alargada, que luego se alinean para entrar en contacto y llevar a cabo el reconocimiento célula a célula promoviendo la formación de miotúbulos donde sea necesario. Esta migración está íntimamente relacionada con la dinámica del citoesqueleto (Lehka & Rędowicz, 2020).



- **Elongación, Adhesión y Reconocimiento celular:** el alargamiento de los mioblastos y la formación de filopodios y lamelipodios son cruciales para el movimiento direccional celular. Para la fusión, estos mioblastos alargados deben adherirse a una superficie y debe producirse el reconocimiento entre unas células y otras por proteínas transmembrana. Algunas de las proteínas que participan son: N y M cadherinas, caveolina 3, N y V CAM e integrinas (Lehka & Rędowicz, 2020).
- **Fusión de membrana:** se produce la asociación tanto de las membranas como de los citoplasmas. Lo primero que ocurre es el reconocimiento y la adhesión de una membrana a otra. A continuación se produce la fusión de las membranas gracias a proteínas específicas, tras la cual ocurre un cambio conformacional que conduce a la remodelación de las membranas y en consecuencia a su unión (Figura 3).

Todavía se conoce muy poco sobre los mecanismos de fusión de los mioblastos. Recientemente se ha descubierto la participación de proteínas específicas de músculo (Miomarker y Miomergen) que catalizan la fusión de la membrana. Los genes que codifican estas proteínas están altamente expresados en mioblasto y miotúbulos. De hecho su activación tiene lugar cuando se produce un daño muscular. (Lehka & Rędowicz, 2020).

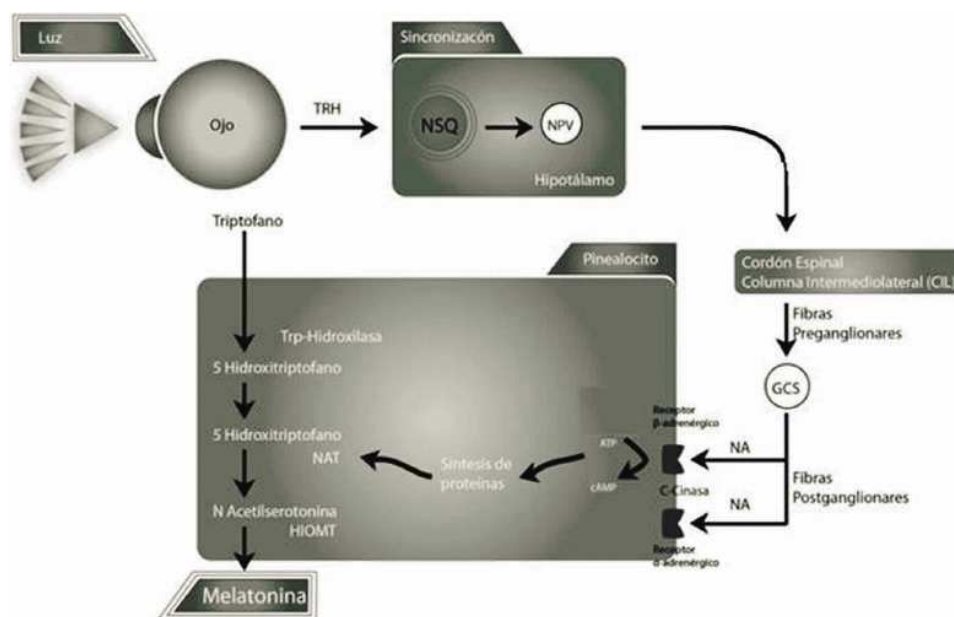


**Figura 3:** Esquema donde se muestra las etapas para la regeneración muscular a partir de las células satélite tras sufrir un daño. Figura tomada de Hawke y Garry 2001.

### 1.3. LA MELATONINA

La melatonina, N-acetyl-5-methoxytryptamine, es una indolamina, presente en numerosos organismos vivos (bacterias, protozoos, invertebrados, plantas y vertebrados). Se trata de una hormona sintetizada mayoritariamente por la glándula pineal o epífisis cerebral, situada en el centro del cerebro, sobre el techo del tercer ventrículo cerebral (Amaral & Cipolla Neto, 2018).

Las células encargadas de producir la melatonina son los pinealocitos. La síntesis de melatonina está controlada por el núcleo supraquiasmático, que se encuentra sincronizado con el ciclo luz/oscuridad. Durante la noche, el núcleo supraquiasmático envía señales neurales a través de una vía multisináptica simpática. Concretamente utiliza la vía retino-hipotalámico-pineal, estimulando la liberación de noradrenalina, la cual al unirse a su receptor promueve la síntesis de melatonina (Figura 4) (M. Guerrero et al., 2007).



**Figura 4: Esquema de la captación de la luz y la producción de melatonina a partir del núcleo supraquiasmático. Figura tomada de Guadarrama-Ortiz et al., 2014**

La síntesis de melatonina comienza con la captación del aminoácido triptófano (Trp) procedente del torrente circulatorio. En la mitocondria es oxidado por la enzima Trp-hidroxilasa. La mayor parte del triptófano oxidado se convierte en serotonina en el citosol, por otra enzima, la descarboxilasa. Tras este proceso, la serotonina se transforma en N-acetilserotonina por la enzima arilalquilamina-N-acetiltransferasa. Este metabolito es O-metilado y transformado finalmente en melatonina por la enzima O-metiltransferasa (Amaral & Cipolla Neto, 2018; M. Guerrero et al., 2007).

Esta neurohormona es liposoluble, es decir, puede atravesar cualquier membrana plasmática, por lo que no puede ser almacenada y es vertida directamente al líquido cefalorraquídeo y al torrente circulatorio (Amaral & Cipolla Neto, 2018; Ríos Lugo, 2011). La melatonina es producida durante la noche alcanzándose su máxima concentración entre las 3:00 y las 4:00 de la mañana (Claustrat et al., 2005a). La mínima concentración de melatonina se alcanza al amanecer. Ésta concentración mínima se mantiene constante en el organismo por el ciclo de luz/oscuridad. Algunos autores sostienen que la vida media de la melatonina es de 20-40 minutos, lo que indica que es una hormona de acción rápida (Ríos Lugo, 2011). En el organismo es metabolizada por el hígado, siendo eliminada por la orina (M. Guerrero et al., 2007).

### **1.3.1 Melatonina extrapineal**

Además de la melatonina secretada por la glándula pineal, ésta también es producida por diversos órganos no endocrinos, aunque se cree que en este caso su producción se utiliza de forma local en los propios órganos (M. Guerrero et al., 2007). Tanto si la melatonina es producida por la glándula pineal como por otros órganos, ésta presenta dos receptores de membrana, MT1 y MT2, asociados a proteínas G (Ríos Lugo, 2011). Actualmente se sabe que existe un receptor nuclear, el MT3 (Medical University Vienna & Ekmekcioglu, 2006). Estos receptores están ampliamente distribuidos por todo el organismo, lo que nos da una idea de la importancia y las funciones que esta hormona ejerce en el organismo.

### **1.3.2 Funciones de la melatonina**

Su función principal es regular el reloj endógeno así como los ritmos circadianos y estacionales, por lo que también está relacionada con la conducta y la maduración sexual en algunas especies (Claustrat et al., 2005b; M. Guerrero et al., 2007). La melatonina también puede actuar como un transductor neuroendocrino, integrando en el cerebro las señales neuronales procedentes de la retina. Cabe destacar que la capacidad antioxidante de la melatonina es una de las funciones más relevantes, ya que es capaz de reducir la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS). Se ha visto que también es capaz de actuar como antiinflamatorio ya que bloquea determinados factores que intervienen en este proceso, reduciendo la síntesis y la liberación de las citoquinas proinflamatorias y tumorales (Ríos Lugo, 2011; Ventosa García, 2017). Además ayuda al sistema inmunitario, ya que ésta aumenta la secreción de células natural killer (NK) y monocitos (Ventosa García, 2017).

## 2 OBJETIVOS

Durante los últimos años, un número creciente de estudios ha abordado las funciones fisiológicas y el potencial terapéutico de las CMMs como herramienta para la regeneración de tejidos y para el tratamiento de enfermedades. Entre las numerosas funciones de la melatonina, se ha propuesto recientemente el control de la supervivencia y la diferenciación de las CMMs (Luchetti et al., 2014).

En base a estas premisas el objetivo general del presente trabajo es realizar una revisión bibliográfica del papel de la melatonina, y sus principales mecanismos de acción en las CMMs, así como profundizar en su papel menos conocido sobre las células satélite y la regeneración muscular.

Para abordar este objetivo general, nos hemos planteado los siguientes objetivos principales:

- Estudiar el efecto de la melatonina como regulador de la diferenciación y protección de las CMMs en diferentes órganos y tejidos
- Examinar el potencial de acción de la melatonina sobre las células satélite en la diferenciación y regeneración muscular.

## 3 MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se realizó una búsqueda y recopilación de artículos y revisiones científicas con información actualizada sobre las células madre, centrado principalmente en la capacidad de supervivencia y diferenciación de las CMMs. Además, dado el creciente interés y los escasos hallazgos encontrados hasta la fecha, se ha profundizado en el estudio de la capacidad de diferenciación de las células madre musculares y la regeneración muscular.

Así mismo, se efectuó una búsqueda sobre la información existente de la capacidad de acción de la melatonina sobre la diferenciación de las CMMs, y más concretamente de las células madre musculares

Éstas referencias bibliográficas proceden de diversas fuentes, principalmente: Pubmed, Web of Science (WOS) y Google Scholar.

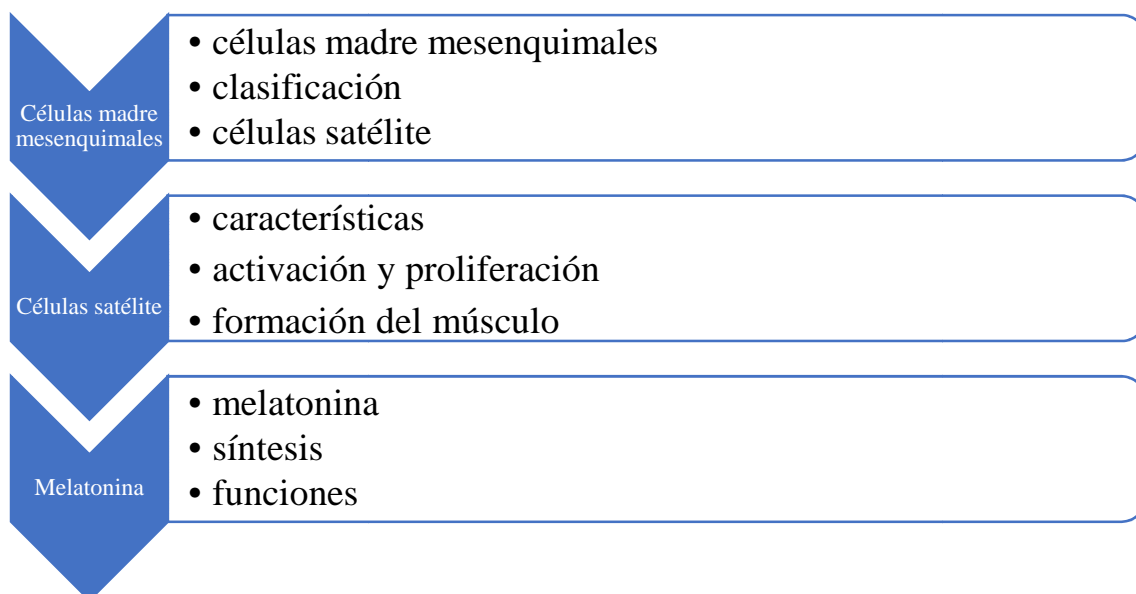
- Pubmed: es un buscador que permite realizar consultas en la base de datos de MEDLINE. MEDLINE se trata de un recurso que ofrece la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos, y es considerada como una de las bases de datos más amplias en el ámbito de la investigación (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

- WOS: es una de las principales bases de datos de referencias bibliográficas y citas de publicaciones periódicas gestionada por la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT) (<https://www.recursoscientificos.fecyt.es/>).
- Google Scholar: es un buscador de google enfocado y especializado en la búsqueda de contenido y bibliografía científica. Se pueden encontrar citas, enlaces a libros, artículos de revistas científicas, comunicaciones informes científico-técnicos, tesis y archivos depositados en repositorios ([https://es.wikipedia.org/wiki/Google\\_Acad%C3%A9mico](https://es.wikipedia.org/wiki/Google_Acad%C3%A9mico)).

La búsqueda se realizó de forma específica para estudios recientes y lo más actualizados posibles. En la búsqueda se utilizaron operadores lógicos o booleanos combinando diversas palabras claves y creando ecuaciones de búsqueda descritas en la Figura 5. Tras la búsqueda se aplicaron los siguientes criterios de selección por orden de importancia:

- Artículos y revisiones relacionados con el tema de estudio.
- Artículos y revisiones en inglés.
- Artículos y revisiones con antigüedad menor o igual a 10 años, en la mayoría de los casos.

Finalmente con el fin de presentar una bibliografía correcta y uniforme se hizo uso del gestor de referencias Mendeley con el estilo de citas APA.



**Figura 5: Diagrama con las principales ecuaciones de búsqueda utilizadas en el estudio**

## 4 RESULTADOS

Los resultados obtenidos, tras la búsqueda de la información se muestran a continuación:

|                             |  | Pubmed          | WOS    | Google Scholar | Total  |         |
|-----------------------------|--|-----------------|--------|----------------|--------|---------|
| Células madre mesenquimales | Células madre mesenquimales                      | Total           | 72.680 | 126.342        | 8.260  | 207.282 |
|                             |  | Artículos       | 795    | 107.232        | 4.120  | 112.147 |
|                             |  | Revisiones      | 10.535 | 23.050         | 5.210  | 38.795  |
|                             |  | Últimos 10 años | 57.740 | 101.747        | 6.580  | 166.067 |
| Células madre mesenquimales | Clasificación de las células madre mesenquimales | Total           | 533    | 1.146          | 4.350  | 6.029   |
|                             |  | Artículos       | 21     | 1.093          | 4.010  | 5.124   |
|                             |  | Revisiones      | 128    | 357            | 1.570  | 2.055   |
|                             |  | Últimos 10 años | 383    | 926            | 3.640  | 4.949   |
| Células satélite            | Células satélite                                 | Total           | 13.982 | 14.123         | 15.500 | 43.605  |
|                             |  | Artículos       | 105    | 12.224         | 8.280  | 20.609  |
|                             |  | Revisiones      | 1.305  | 1.584          | 2.010  | 4.899   |
|                             |  | Últimos 10 años | 5.013  | 14.123         | 15.300 | 34.436  |

**Tabla 1: Resultados obtenidos tras la aplicación de las ecuaciones de búsqueda relacionadas con las células madre mesenquimales. La búsqueda realizada se centró en el estudio de las características generales de las células madre mesenquimales y su clasificación así como en la evaluación del número de estudios realizados en células satélite**

|                  |  | Pubmed          | WOS   | Google Scholar | Total  |        |
|------------------|--|-----------------|-------|----------------|--------|--------|
| Células satélite | Células satélite y características                 | Total           | 888   | 2.930          | 16.100 | 19.918 |
|                  |  | Artículos       | 9     | 2.466          | 7.560  | 10.035 |
|                  |  | Revisiones      | 69    | 198            | 1.900  | 2.167  |
|                  |  | Últimos 10 años | 287   | 1.225          | 15.300 | 16.812 |
| Células satélite | Activación y proliferación de las Células satélite | Total           | 1.389 | 1.250          | 3.470  | 6.109  |
|                  |  | Artículos       | 14    | 1.181          | 2.180  | 3.375  |
|                  |  | Revisiones      | 170   | 165            | 2.270  | 2.605  |
|                  |  | Últimos 10 años | 812   | 854            | 2.300  | 3.966  |
| Células satélite | Células satélite y formación del musculo           | Total           | 84    | 22             | 4.400  | 4.506  |
|                  |  | Artículos       | 1     | 20             | 3.070  | 3.091  |
|                  |  | Revisiones      | 20    | 12             | 3.310  | 3.342  |
|                  |  | Últimos 10 años | 57    | 22             | 2.190  | 2.269  |

**Tabla 2: Resultados obtenidos tras la aplicación de las ecuaciones de búsqueda relacionadas con las células satélite musculares. La búsqueda realizada se centró en el estudio de las características generales de las células satélite, su capacidad de activarse y proliferar para formar nuevas fibras y por último el proceso de formación del músculo esquelético**

|  |   | Pubmed          | WOS | Google Scholar | Total |     |
|--|---|-----------------|-----|----------------|-------|-----|
| Melatonina y<br>Células madre<br>Mesenquimales | Melatonina y células madre mesenquimales                          | Total           | 148 | 358            | 234   | 740 |
|  |   | Artículos       | 147 | 346            | 190   | 683 |
|  |   | Revisiones      | 14  | 77             | 146   | 237 |
|  |   | Últimos 10 años | 137 | 345            | 181   | 663 |
| Melatonina y<br>Células madre<br>Mesenquimales | Melatonina y diferenciación de células madre mesenquimales        | Total           | 58  | 142            | 204   | 404 |
|  |   | Artículos       | 58  | 139            | 177   | 374 |
|  |   | Revisiones      | 5   | 25             | 137   | 167 |
|  |   | Últimos 10 años | 50  | 133            | 160   | 343 |
| Melatonina y<br>Células madre<br>Mesenquimales | Melatonina y acción protectora en las células madre mesenquimales | Total           | 115 | 52             | 124   | 291 |
|  |   | Artículos       | 114 | 51             | 109   | 274 |
|  |   | Revisiones      | 11  | 13             | 85    | 109 |
|  |   | Últimos 10 años | 106 | 52             | 95    | 253 |

**Tabla 3: Resultados obtenidos tras la aplicación de las ecuaciones de búsqueda relacionadas con las acciones de la melatonina en las células madre mesenquimales. La búsqueda se centró en los efectos generales que ésta molécula presenta en las células destacando su capacidad para regular la diferenciación y el efecto protector.**

|            |   | Pubmed          | WOS    | Google Scholar | Total  |        |
|------------|---|-----------------|--------|----------------|--------|--------|
| Melatonina | Melatonina y células satélite                       | Total           | 13.982 | 14.123         | 15.500 | 43.605 |
|            |   | Artículos       | 105    | 12.224         | 8.280  | 20.609 |
|            |   | Revisiones      | 1.305  | 1.584          | 2.010  | 4.899  |
|            |   | Últimos 10 años | 5.013  | 14.123         | 15.300 | 34.436 |
|            | Melatonina y diferenciación de las células satélite | Total           | 109    | 6              | 169    | 284    |
|            |   | Artículos       | 4      | 6              | 51     | 61     |
|            |   | Revisiones      | 19     | 1              | 68     | 88     |
|            |   | Últimos 10 años | 62     | 4              | 104    | 170    |
|            | Melatonina y regeneración muscular                  | Total           | 30     | 35             | 761    | 826    |
|            |   | Artículos       | 0      | 35             | 298    | 333    |
|            |   | Revisiones      | 6      | 8              | 327    | 341    |
|            |   | Últimos 10 años | 25     | 30             | 526    | 581    |

**Tabla 4: Resultados obtenidos tras la aplicación de las ecuaciones de búsqueda relacionadas con la melatonina. La búsqueda se centró en el estudio de los efectos que presenta en las células satélite, sobre todo los efectos relacionados con la diferenciación de las células satélite y el papel que desempeñan en la regeneración muscular**

Tras analizar los resultados obtenidos, se observa que la base de datos donde se encontró un mayor número de artículos y revisiones totales relacionadas con las CMMs es WOS. En el caso de las búsquedas relacionadas con las características y clasificación de las CMMs, Google Scholar también ofrece una gran variedad de artículos. Cabe destacar que dentro del número de trabajos realizados en CMMs, aquellos enfocados en el estudio de las células satélite suponen únicamente el 4,9%, de los cuales, aproximadamente el 60% han sido publicados en los últimos 10 años. Este dato indica que a pesar de que la literatura disponible relacionada con las células satélite es escasa, su estudio ha ganado importancia durante los últimos años, especialmente enfocado en su capacidad de regeneración y formación del músculo como se detalla en la Tabla 2.

Como se puede ver en la Tabla 2 la base de datos donde se encontró un mayor número de artículos y revisiones totales relacionadas con las células satélite musculares es Google Scholar. En relación a la activación y proliferación celular así como para la formación del músculo además de Google Scholar, Pubmed también presenta numerosos artículos relacionados.

Según se muestra en la Tabla 3 la base de datos que presenta un mayor número de artículos y revisiones totales relacionadas con las acciones de la melatonina en las células madre mesenquimales es Google Scholar, WOS también presenta un gran número de artículos relacionados.

Si seguimos analizando los resultados obtenidos, se observa que la base de datos donde se encontró un mayor número de artículos y revisiones totales relacionadas con la melatonina es Google Scholar. Aunque la base de datos de WOS también presenta un gran número de artículos y revisiones relacionadas.

Los datos generales obtenidos tras aplicar las diversas ecuaciones de búsqueda para nuestro estudio indican que, la base de datos con más artículos es WOS, con un total de 160.529 trabajos encontrados. Por el contrario, el buscador que ha localizado menos estudios es Google Scholar con 69.072 trabajos en total.

En relación a los trabajos más recientes publicados en los últimos 10 años, la base de datos que presenta más estudios es WOS con un total de 133.284 trabajos recientes, seguido por Pubmed con 69.685 y por último Google Scholar con 61.676 trabajos recientes.

En base a los resultados obtenidos podemos afirmar que, en general, la base de datos con más información para nuestro estudio es WOS, ya que no solo es la base que más estudios totales tiene, sino que también presenta un mayor número de trabajos.



## 5 DISCUSIÓN

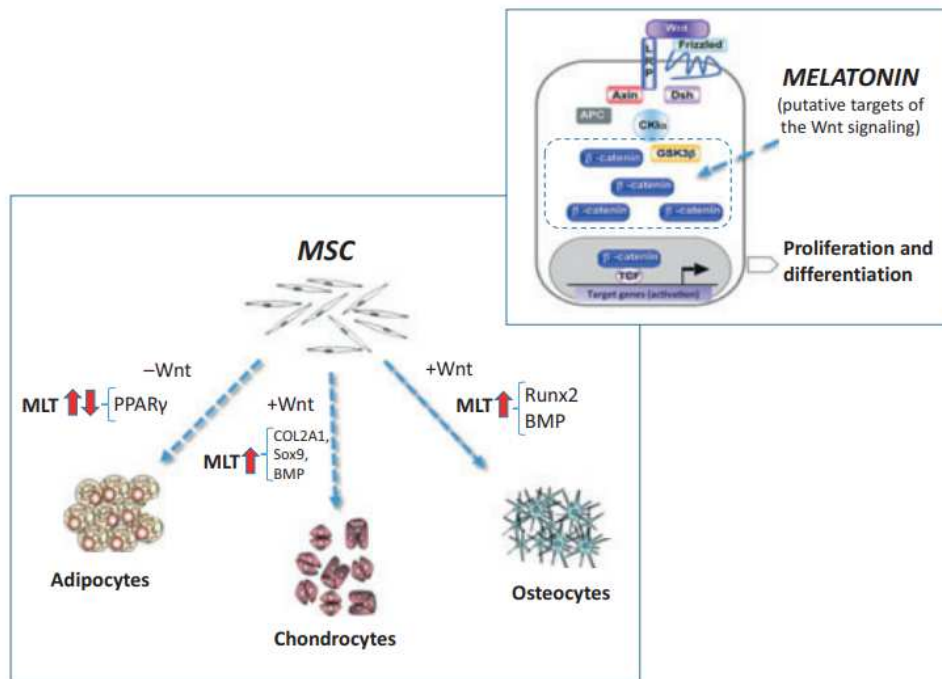
### **Efecto de la melatonina como regulador de la diferenciación y protección de las CMMs en diferentes tejidos y órganos**

La diferenciación de las CMMs está estrechamente regulada por la acción de señales mecánicas y moleculares del entorno extracelular. En esta línea varios estudios han confirmado que la melatonina ejerce un papel importante tanto en la protección como en la regulación del compromiso y diferenciación de las CMMs (Luchetti et al., 2014).

- Función reguladora de la diferenciación

La vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina, es un de las principales vías involucradas en la proliferación, determinación del destino y diferenciación celular durante el desarrollo embrionario y la homeostasis celular (Logan & Nusse, 2004). La activación de la vía Wnt conduce a la defosforilación de  $\beta$ -catenina en el citoplasma y su translocación al núcleo, donde regula genes que codifican proteínas involucradas en la proliferación y mantenimiento de las CMMs y en su potencial de diferenciación a linaje osteogénico, condrogénico, adipogénico, neuronal y muscular.

El efecto de la melatonina en el control de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina se ha investigado en diversos modelos experimentales (Aravamudhan et al., 2013), reforzando la idea de que ésta indolamina participa en la regulación de la supervivencia y la diferenciación de las CMMs. Se ha descrito que la activación dependiente de la melatonina de los receptores MT2 expresados en las CMMs modula la señalización de la vía Wnt. Trabajos recientes han confirmado que la melatonina promueve la diferenciación osteogénica y condrogénica de las CMMs e inhibe la diferenciación adipogénica (Wang et al., 2021) (Figura 6). La melatonina parece activar la vía Wnt/ $\beta$ -catenina promoviendo la síntesis de las proteínas BMP, Sox 9 y COL2A1 para la diferenciación osteogénica, y la síntesis de las proteínas BMP y Runx2 en la diferenciación condrogénica. Así mismo, la acción inhibitoria de la melatonina sobre la adipogénesis vía Wnt modula la regulación transcripcional de PPAR $\gamma$ .



**Figura 6:** En la figura principal se muestra un esquema de la diferenciación de las CMM hacia osteocitos, condrocitos y adipocitos gracias al efecto de regulación de la melatonina. En la figura superior derecha se representa un esquema con otros componentes regulatorios como la vía Wnt y su relación con la melatonina. Imagen obtenida de Luchetti et al., 2014

Por otra parte, se ha descrito que la autorrenovación y la diferenciación de las CMMs están directamente influenciadas por la progresión del ciclo celular, para permitir la homeostasis celular y la especificación del tejido.

El ciclo celular incluye una serie de fases: la fase  $G_1/G_0$  y  $G_2$  donde se produce el decrecimiento, la fase S donde tiene lugar la replicación del ADN y por último la fase M donde se produce la mitosis. Durante la  $G_1$  la célula puede abandonar el ciclo celular y pasar a un estado quiescente ( $G_0$ ), morir por apoptosis, entrar en senescencia o diferenciarse (Puente Ruiz, 2016).

La melatonina interviene directamente sobre el ciclo celular, aumentando su duración mediante el alargamiento de la fase  $G_1$  y retrasando la entrada en la fase S. La prolongación de la fase  $G_1$  reduce la proliferación celular y permite el rescate de células en la fase  $G_0$  así como la reparación del daño producido en el ADN. El incremento de la fase  $G_1$  podría explicar, al menos en parte, la regulación positiva de la melatonina sobre los mecanismos de reparación  $p^{53}$  y  $p^{21}$  (Gutiérrez González & Ángela, 2018).

Se ha comprobado que la melatonina es capaz de actuar sobre el ciclo celular puesto que aumenta la expresión de  $p^{21}$  en las CMMs, la cual es una molécula clave del ciclo celular y además también media la senescencia de las CMMs. La melatonina también alarga

el ciclo celular al regular positivamente la expresión de Sox2, el cual mejora la multipotencialidad de las CMMs. Por último se ha observado que disminuye la actividad proliferativa (Heo et al., 2019).

- Función protectora:

Un equilibrio apropiado entre los procesos de autorrenovación y diferenciación es crucial para mantener la función de las células durante el desarrollo embrionario y la diferenciación y la homeostasis tisular. Varios trabajos sugieren que este equilibrio está parcialmente regulado por las especies reactivas de oxígeno (EROs), que, en sincronía con el metabolismo, mantienen el estado redox celular (Guadalupe Grau et al., 2007). Sin embargo, la exposición continua a las EROs induce la detección del ciclo celular y la apoptosis en las CMMs (Atashi et al., 2015).

Las EROs se producen principalmente en las mitocondrias de las células por diversas fuentes. Durante la respiración, el oxígeno molecular que no se reduce a agua, da lugar a sustancias superóxidas (Poyton et al., 2009). Además, la NADPH oxidasa (Nox) se ha descrito como un enzima determinante en la generación de EROs. Aunque las EROs son sustancias tóxicas para el organismo y pueden alterar la integridad de las CMMs (Muñoz Pinto, 2016), estudios recientes muestran que niveles bajos de EROs podrían controlar una gran cantidad de procesos biológicos, ayudando a la regulación de la señalización, proliferación y diferenciación.

Para llevar a cabo la regulación de estos procesos, las EROs utilizan las vías Notch y Wnt. Éstas, son capaces de interactuar y pueden tener diferentes efectos sobre el destino celular. Boopathy y colaboradores observaron que los tejidos procedentes de CMMs, específicamente de las células madre de la médula ósea, tras sufrir una lesión, expresan una regulación positiva de Notch1 y Wnt 11 provocando un aumento de los niveles de EROs. Además, se ha observado que, concretamente la vía Wnt-3a, incrementa significativamente la generación de EROs en las CMMs, promoviendo su diferenciación y la autorrenovación del tejido. Sin embargo, un exceso de EROs puede ser perjudicial para las CMMs. La formación exacerbada de EROs inducida por la activación de la vía Wnt en las CMMs, causa daño tanto a nivel del ADN como en la estructura celular. Varios trabajos muestran que la activación de la vía Wnt promueve la biogénesis mitocondrial y favorece el incremento de los niveles de EROs y de daño oxidativo. Debido a estas acciones, la vía Wnt/ $\beta$ -catenina se ha descrito como un mediador muy importante del envejecimiento de las CMMs. De hecho, se ha observado que la señalización Wnt está incrementada en diversos tejidos envejecidos (D. yong Zhang et al., 2011).

La melatonina, gracias a su función protectora ayuda a controlar los efectos deletéreos derivados de las EROs. La melatonina actúa como un potente antioxidante reduciendo las EROs que se generan durante la respiración. Esta indolamina es capaz de donar electrones que se combinan con las EROs, generando nuevos metabolitos, los cuales son también sustancias antioxidantes (Acuña-Castroviejo et al., 2009). Además, la melatonina realiza funciones a nivel celular y subcelular, como la estabilización de las membranas biológicas, especialmente a nivel mitocondrial; protege al ADN de la oxidación y previene la apoptosis celular. También es capaz de disminuir la expresión de enzimas pro-oxidantes como NO sintasa y lipoxigenasas y regula enzimas antioxidantes como catalasas, peroxidasas y superóxido dismutasas (H. M. Zhang & Zhang, 2014)(De la Torre Moreno, 2019; H. M. Zhang & Zhang, 2014).

Se cree que la melatonina interviene activamente en la regulación del estrés oxidativo y en la diferenciación de las CMMs. Varios estudios muestran la existencia de altos niveles de melatonina en las CMMs, encontrándose posteriormente los receptores MT1 y MT2 en estas células. De hecho, se ha visto que la melatonina no solo afecta a la diferenciación de las CMMs, sino que también ayuda al desarrollo y regeneración de tejidos como el hueso, el músculo y el tejido adiposo.

El exceso de EROs afecta a la capacidad de autorrenovación, proliferación y diferenciación de las CMMs. La melatonina juega un papel muy importante a este nivel, participando en la reducción de las EROs y en la liberación de enzimas antioxidantes.

La melatonina tiene un efecto protector al mejorar la disfunción mitocondrial y prevenir la senescencia y el envejecimiento. Estudios previos han demostrado que la activación de proteínas relacionadas con el estrés oxidativo, como P38MAPK, reducen su actividad cuando las células son tratadas con melatonina, ya que ésta provoca su fosforilación, reduciendo el daño por estrés oxidativo. La actividad de P38MAPK y las quinasas reguladas por señales extracelulares 1 y 2 (ERK1/2) en las CMMs protegen de los efectos nocivos de la hipoxia. Además, esta indolamina participa en la regulación del destino de las CMMs al regular positivamente la expresión de enzimas antioxidantes y negativamente la expresión de algunos genes, principalmente genes proapoptóticos como Bax, mejorando así la actividad de las CMMs y reduciendo la producción de EROs de manera dosis – dependiente. De hecho, el tratamiento con melatonina reduce el ratio Bax/Bcl-2, lo que a su vez reduce la apoptosis (Hu & Li, 2019).

Durante los últimos años, la melatonina es considerada como una posible estrategia contra la senescencia celular y el envejecimiento. Varios estudios muestran que dosis altas de melatonina, no solo disminuyen los niveles de las EROs y la producción de citosinas

inflamatorias, sino que también promueven la proliferación celular, gracias a la liberación de factores mitógenos (Liu et al., 2013). Posteriormente, Zhou y colaboradores demostraron que el tratamiento con melatonina depende del momento de administración, de forma que la administración de melatonina previamente a la exposición aguda al oxidante H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, no puede prevenir significativamente la senescencia prematura; sin embargo, el tratamiento con melatonina posterior a la exposición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> revierte con éxito los fenotipos senescentes de las CMMs de una manera dependiente de la dosis (Zhou et al., 2015).

En resumen, la melatonina puede reducir la liberación de citocinas inflamatorias, mejorando la proliferación de las CMMs y reduciendo la apoptosis. Todas estas acciones las realiza reduciendo la cantidad de EROs y regulando positivamente la expresión de genes antioxidantes, protegiendo así a las CMMs del daño oxidativo (Hu & Li, 2019).

### **Examinar el potencial de acción de la melatonina sobre las células madre satélite en la diferenciación y regeneración muscular.**

En los últimos años las alteraciones del músculo esquelético han tenido una gran repercusión. La melatonina se muestra como una de las principales herramientas gracias a su acción anti-oxidante, anti-inflamatoria, regenerativa y del control de la inmunidad. La melatonina no solo es crucial para la reparación y regeneración muscular, sino que también retrasa el envejecimiento.

El envejecimiento es un proceso por el cual se producen cambios fisiológicos que alteran la función y estructura de los órganos. En el músculo se produce la pérdida de masa muscular, que se denomina sarcopenia (Curtis et al., 2015).

El envejecimiento no solo afecta a nivel celular, sino que además disminuye el número y tamaño de las fibras musculares. A nivel subcelular la acumulación de moléculas con daño por estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial, la acumulación de lipofuscina y el fallo en la síntesis de proteínas, especialmente importante para la formación de miofibrillas, dañan el músculo (Felipe Salech et al., 2012).

La disfunción mitocondrial es muy importante ya que genera EROs que dañan tanto la membrana interna como el ADN mitocondrial, lo cual a su vez produce más EROs y más daño mitocondrial. Este daño mitocondrial es debido a la inestabilidad del genoma, ya que no presenta sistemas de reparación y por tanto hay un deterioro de los genes encargados de generar proteínas. La acumulación de estos errores puede conducir a la aparición de enfermedades (Capote & Miranda, 1999). Las células satélite son esenciales para la

regeneración muscular. La desregularización de éstas células o su reducción acelera la pérdida de masa muscular (Curtis et al., 2015).

Hay que tener en cuenta que el músculo esquelético es uno de los tejidos más importantes y que necesitan un gran aporte de glucosa. La resistencia a insulina es un problema que ha ido cobrando cada vez mayor importancia debido a que la insulina es la encargada de regular los niveles de glucosa en sangre. La melatonina previene además de la disfunción mitocondrial la resistencia a insulina (Teodoro et al., 2014).

- Reparación muscular

Tras sufrir una lesión el músculo tiene la capacidad para reparar dicha lesión. Durante este proceso se produce inflamación durante los primeros días y luego la proliferación de las células satélite dará lugar al nuevo tejido.

El proceso inflamatorio consta de una serie de fases: tras el daño se liberan una serie de mediadores químicos que inducen la inflamación, se produce vasodilatación y un incremento de la permeabilidad y la extravasación vascular, migración celular y proliferación del tejido conectivo. Todo ello da lugar a una modificación en la estructura de la zona dañada (Hung et al., 2004).

Las células del sistema inmune junto con las células miogénicas dañadas secretan una gran cantidad de factores de crecimiento y citoquinas (Viña Fernández, 2015). Las principales citoquinas son: interleucina (IL) 6 y 8, CXCL1, LIF, CSF3, interleucina - 1B y el factor de necrosis tumoral (TNF) (Scheler et al., 2013). Se genera así un ambiente pro inflamatorio.

Durante la inflamación, la alteración en las mitocondrias que son la principal fuente de EROs, pueden ver aumentada su acción. Estos niveles elevados producen disfunciones mitocondriales que todavía aumentan más los niveles de EROs. Estos niveles tan elevados pueden dañar las membranas y el ADN mitocondrial (Constanza Corrales & Muñoz Ariza, 2012).

El estrés oxidativo se ha propuesto como una de las mayores contribuciones a la degeneración del músculo esquelético. Aunque de forma normal el músculo necesita una gran cantidad de oxígeno, la parte de éste que no llega a metabolizarse completamente puede generar EROs que dañan las células (Salucci et al., 2017).

Sin embargo el músculo tiene una gran capacidad de reparación gracias a las células satélite descritas anteriormente, ya que tras la lesión las células se activan, proliferan y se diferencian hacia nuevas miofibrillas (Chen et al., 2020).

La melatonina presenta diferentes efectos que ayudan a la reparación muscular. Se ha comprobado experimentalmente que con la administración de melatonina, los miotúbulos se mantienen organizados y alineados, favoreciendo la formación de las miofibrillas (Salucci et al., 2017). Además, la melatonina es capaz de activar diferentes factores que reducen la biogénesis mitocondrial y por lo tanto disminuye los niveles de EROs (Teodoro et al., 2014).

Uno de los mayores problemas actuales son las lesiones producidas en músculos envejecidos, ya que con la edad la concentración de melatonina disminuye y además hay un mayor número de mitocondrias disfuncionales que aumentan las EROs y reducen el equilibrio redox del músculo (Olmos Martínez et al., 2007).

- Regeneración muscular

La regeneración muscular es un proceso complejo. Tras la lesión se pueden diferenciar dos fases. Una fase degenerativa, que comienza con un proceso inflamatorio que provoca la pérdida de la masa muscular (Stratos et al., 2012) y una rápida necrosis, llamada concretamente miolisis; cuyo objetivo es eliminar las fibras dañadas. Luego las células satélite forman las nuevas miofibrillas y posteriormente se producirá la maduración y remodelación de la nueva miofibrilla formada (Chen et al., 2020; Yin et al., 2013). La regeneración del tejido es mediada por una gran variedad de factores de crecimiento y citoquinas (Stratos et al., 2012).

La segunda es la fase regenerativa que se caracteriza por la activación de las células miogénicas para proliferar, diferenciarse y unirse unas a otras para la formación de nuevas fibras. Algunos estímulos que pueden producir la regeneración son: daño ultraestructural, daños en segmentos de la fibra y la liberación de sustancias inflamatorias y/o liberación de factores de crecimiento (Figura 7).

El fenómeno de la regeneración muscular requiere de la participación de una serie de factores de crecimiento que tras unirse a sus receptores en la membrana plasmática activan vías de transmisión de señales al interior celular, produciendo la regulación del estado de actividad de las células satélite (Guadalupe Grau et al., 2007).





satélite (Chen et al., 2020). Numerosos estudios correlacionan el envejecimiento con el deterioro mitocondrial (Taniuchi et al., 2020).

Con concentraciones de 10mg/Kg se produce la restauración del tejido por las propiedades antiinflamatorias y antiapoptóticas. También con concentraciones de 20mg/Kg tiene efectos antiinflamatorios y antioxidantes tras una lesión muscular. Estudios recientes muestran que el efecto antioxidante, antiapoptótico y antiinflamatorio son los responsables de la reparación y regeneración del tejido tras sufrir una lesión. Gracias a estos efectos también se mejora la función muscular. Estos resultados abren una ventana para el tratamiento de enfermedades musculares.

También se ha observado que concentraciones de 1mM promueven la proliferación de las células C2C12 pero inhibe su diferenciación (Chen et al., 2019).

Otra acción de la melatonina que está cobrando gran importancia es la regulación de la homeostasis de la glucosa, ya que el músculo consume una gran cantidad de glucosa. De hecho se ha visto que los pacientes con síndromes metabólicos tiene alteraciones en la producción de melatonina (Teodoro et al., 2014).

La melatonina se ha revelado como un gran hallazgo para la ciencia. Se sabía de sus propiedades para regular el sueño, pero no fue hasta los años 50 en que se empezó a estudiar en otros campos relacionados con enfermedades como el Alzheimer o este que nos ocupa de regeneración muscular.

Cabe destacar que los mecanismos de regulación están en fase de experimentación con animales, por lo que se necesita una mayor investigación en este campo, siendo de especial importancia para enfermedades degenerativas del músculo.

## 6 CONCLUSIONES

Los datos obtenidos en los estudios considerados en el presente trabajo de revisión nos indican que la melatonina juega un papel muy importante en el destino y diferenciación de las CMMs al regular el estrés oxidativo, sus vías de control y la expresión positiva de factores antiinflamatorios. Por tanto, se han podido obtener las siguientes conclusiones:

1. La melatonina promueve la diferenciación osteogénica y condrogénica e inhibe la diferenciación adipogénica de las CMMs modulando la vía Wnt/ $\beta$ -catenina.
2. La melatonina promueve la diferenciación de las CMMs y la reparación del daño en el ADN mediante el incremento en la duración del ciclo celular, por la expansión de la fase G1 y el retraso en la entrada en la fase S.

3. La melatonina actúa como un agente protector en las CMMs reduciendo el daño oxidativo y favoreciendo la diferenciación celular.
4. La melatonina reduce los procesos autofágicos y apoptóticos aumentando la viabilidad de células satélite y favoreciendo la reparación muscular.
5. La melatonina mejora la función mitocondrial promoviendo la proliferación de las células satélite.
6. La melatonina es capaz de estabilizar y organizar los miofibrilos favoreciendo la formación de miofibrillas necesarias para la regeneración muscular.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

- Acuña-Castroviejo, D., Escames, G., López, L. C., Ortiz, F., López, A., & García, J. A. (2009). Evidencias de la utilidad de la melatonina frente al envejecimiento y los procesos neurodegenerativos. *Psicogeriatría*, *1*, 3–21. [http://www.viguera.com/sepg/pdf/revista/0101/0101\\_03\\_21.pdf](http://www.viguera.com/sepg/pdf/revista/0101/0101_03_21.pdf)
- Alexander, M. (1961). Satellite cell of skeletal muscle fibers. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, *9*(2), 493–495.
- Amaral, F. G. do, & Cipolla Neto, J. (2018). A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Arch. Endocrinol. Metab.*, *62*, 472–478.
- Aravamudhan, A., M. Ramos, D., Nip, J., Subramanian, A., James, R., D. Harmon, M., Yu, X., & Sangamesh G., K. (2013). Moléculas pequeñas osteoinductoras: alternativas de factor de crecimiento para la ingeniería de tejidos óseos. *Current Pharmaceutical Desing.*
- Arévalo Romero, J. A., Pardo, V. M., & Paéz Guerrero, D. M. (2007). Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas. *Nova*, *5*(8), 177. <https://doi.org/10.22490/24629448.387>
- Atashi, F., Modarressi, A., & Pepper, M. S. (2015). The role of reactive oxygen species in mesenchymal stem cell adipogenic and osteogenic differentiation: A review. *Stem Cells and Development*, *24*(10), 1150–1163. <https://doi.org/10.1089/scd.2014.0484>
- Avila Aviles, R. D., Lopez Mendez, L. C., & Hernandez Hernandez, J. M. (2019). Células satélite y su contribución a la regeneración muscular en salud y enfermedad. *Revista Mexicana de Industria y Salud*, *9*, 56–63.
- Bianco, P., Robey, P. G., & Simmons, P. J. (2008). Mesenchymal Stem Cells: Revisiting

- History, Concepts, and Assays. *Cell Stem Cell*, 2(4), 313–319.  
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.03.002>
- Brunt, K. R., Weisel, R. D., & Li, R. K. (2012). Stem cells and regenerative medicine - future perspectives. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 90(3), 327–335. <https://doi.org/10.1139/y2012-007>
- Capote, K. R., & Miranda, E. C. (1999). Estrés oxidativo y envejecimiento. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, 18(2), 67–76.
- Carrasco Yalan, A., Ríos Díaz, H., & Castillo Aguirre, J. (2010). Células mesenquimales estromales. *Horizonte Médico (Lima)*, 10(2), 32–36.
- Chen, B., You, W., & Shan, T. (2019). Myomaker, and Myomixer-Myomerger-Minion modulate the efficiency of skeletal muscle development with melatonin supplementation through Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Experimental Cell Research*, 385(2), 111705. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2019.111705>
- Chen, B., You, W., & Shan, T. (2020). The regulatory role of melatonin in skeletal muscle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 41(2–3), 191–198. <https://doi.org/10.1007/s10974-020-09578-3>
- Claustrat, B., Brun, J., & Chazot, G. (2005a). The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Medicine Reviews*, 9, 11–24.
- Claustrat, B., Brun, J., & Chazot, G. (2005b). The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Medicine Reviews*, 9(1), 11–24. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2004.08.001>
- Collins, C. A., Olsen, I., Zammit, P. S., Heslop, L., Petrie, A., Partridge, T. A., & Morgan, J. E. (2005). Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell*, 122(2), 289–301. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.05.010>
- Constanza Corrales, L., & Muñoz Ariza, M. M. (2012). *Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno*. 1–13.
- Curtis, E., Litwic, A., Cooper, C., & Dennison, E. (2015). Determinants of Muscle and Bone Aging. *Journal of Cellular Physiology*, 230(11), 2618–2625. <https://doi.org/10.1002/jcp.25001>
- De la Torre Moreno, A. (2019). *Trabajo Fin de Grado*. 0–43. <http://zaguan.unizar.es/TAZ/EUCS/2014/14180/TAZ-TFG-2014-408.pdf>
- Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F. C., Krause, D. S.,

- Deans, R. J., Keating, A., Prockop, D. J., & Horwitz, E. M. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315–317. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
- Dumont, N. A., Wang, Y. X., & Rudnicki, M. A. (2015). Intrinsic and extrinsic mechanisms regulating satellite cell function. *Development (Cambridge)*, 142(9), 1572–1581. <https://doi.org/10.1242/dev.114223>
- Felipe Salech, M., Rafael Jara, L., & Luis Michea, A. (2012). Cambios fisiológicos asociados al envejecimiento. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(1), 19–29. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(12\)70269-9](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(12)70269-9)
- Flores-Figueroa, E., Montesinos, J. J., & Mayani, H. (2006a). Células troncales mesenquimales: Historia, biología y aplicación clínica. *Revista de Investigacion Clinica*, 58(5), 498–511.
- Flores-Figueroa, E., Montesinos, J. J., & Mayani, H. (2006b). Células troncales mesenquimales: Historia, biología y aplicación clínica. In *Revista de Investigacion Clinica* (Vol. 58, Issue 5, pp. 498–511).
- Guadalupe Grau, A., Guerra Hernández, B., & López Calbet, J. A. (2007). PAPEL DE LAS CÉLULAS SATÉLITE EN LA HIPERTROFIA Y REGENERACIÓN MUSCULAR EN RESPUESTA AL EJERCICIO. *Archivos De Medicina Del Deporte*, 24(January), 187–196.
- Gutiérrez González, Á., & Ángela. (2018). *Influencia de la melatonina en el desarrollo de la mama, tanto normal como tumoral.* 1–50. <https://repositorio.unican.es/xmlui/handle/10902/14359>
- Heo, J. S., Pyo, S., Lim, J. Y., Yoon, D. W., Kim, B. Y., Kim, J. H., Kim, G. J., Lee, S. G., & Kim, J. (2019). Biological effects of melatonin on human adipose-derived mesenchymal stem cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 44(6), 2234–2244. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4356>
- Hu, C., & Li, L. (2019). Melatonin plays critical role in mesenchymal stem cell-based regenerative medicine in vitro and in vivo. *Stem Cell Research and Therapy*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1114-8>
- Hung, M.-C., Chen, F.-A., & Hsu, C.-H. (2004). Efectos de las drogas antiinflamatorias no esteroides sobre musculo esquelético. *PubliCE*.
- Lázaro, C. A., Herrera, G., Miriam, I. L., Cartaya, M., Est, I. I., Lázaro, A., & Moliner, G. (2016). Alexis Carrel : los aportes de un gran cirujano Alexis Carrel : the contributions of

- a great surgeon. *Rev Méd Electrón*, 38, 757–764.  
<http://www.revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/1958/3173>
- Lehka, L., & Rędowicz, M. J. (2020). Mechanisms regulating myoblast fusion: A multilevel interplay. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 104(January), 81–92.  
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.02.004>
- Liu, X., Gong, Y., Xiong, K., Ye, Y., Xiong, Y., Zhuang, Z., Luo, Y., Jiang, Q., & He, F. (2013). Melatonin mediates protective effects on inflammatory response induced by interleukin-1 beta in human mesenchymal stem cells. *Journal of Pineal Research*, 55(1), 14–25. <https://doi.org/10.1111/jpi.12045>
- Logan, C. Y., & Nusse, R. (2004). The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 20, 781–810.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.20.010403.113126>
- Luchetti, F., Canonico, B., Bartolini, D., Arcangeletti, M., Ciffolilli, S., Murdolo, G., Piroddi, M., Papa, S., Reiter, R. J., & Galli, F. (2014). Melatonin regulates mesenchymal stem cell differentiation: A review. *Journal of Pineal Research*, 56(4), 382–397.  
<https://doi.org/10.1111/jpi.12133>
- M. Guerrero, J., Carrillo Vico, A., & J. Lardone, P. (2007). La Melatonina. *Investigación y Ciencia*, 30–38.
- Mata-Miranda, M., Vázquez-Zapién, G., & Sánchez-Monroy, V. (2013). Generalidades y aplicaciones de las células madre. *Perinatología y Reproducción Humana*, 27(3), 194–199.
- Medical University Vienna, & Ekmekcioglu, C. (2006). Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 60, 97–108.
- Muñoz Pinto, M. F. (2016). *Estudio de la viabilidad y diferenciación de las células madre mesenquimales de tejido adiposo en condiciones de estrés oxidativo y envejecimiento. Enero.*
- Olmos Martinez, J. M., Martínez García, J., & Gonzalez Macías, J. (2007). *Envejecimiento musculoesquelético.* 1–7.
- Ono, Y., Boldrin, L., Knopp, P., Morgan, J. E., & Zammit, P. S. (2010). Muscle satellite cells are a functionally heterogeneous population in both somite-derived and branchiomeric muscles. *Developmental Biology*, 337(1), 29–41.  
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.10.005>
- Poyton, R. O., Ball, K. A., & Castello, P. R. (2009). Mitochondrial generation of free

- radicals and hypoxic signaling. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 20(7), 332–340. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.04.001>
- Prósper, F., & Verfaillie, C. M. (2003). Células madre adultas. *Anales Del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(3), 345–356. <https://doi.org/10.4321/s1137-66272003000500002>
- Puente Ruiz, N. (2016). *La Melatonina Antitumoral Actions of Melatonin Autora : Nuria Puente Ruiz.*
- Relaix, F., Montarras, D., Zaffran, S., Gayraud-Morel, B., Rocancourt, D., Tajbakhsh, S., Mansouri, A., Cumano, A., & Buckingham, M. (2006). Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. *Journal of Cell Biology*, 172(1), 91–102. <https://doi.org/10.1083/jcb.200508044>
- Rios Lugo, M. J. (2011). *POSIBLE PAPEL DE LA MELATONINA EN LA INDUCCIÓN DE OBESIDAD POR DIETA HIPERCALÓRICA : EFECTOS METABÓLICOS EN RATAS MACHO.*
- Ruz-caracuel, I., Leiva-cepas, F., Luque Carabot, E., Jimena Medina, I., & José, P. A. (2013). *Médica. Actualidad Médica*, 98, 27–32.
- Salucci, S., Baldassarri, V., Canonico, B., Burattini, S., Battistelli, M., Guescini, M., Papa, S., Stocchi, V., & Falcieri, E. (2016). Melatonin behavior in restoring chemical damaged C2C12 myoblasts. *Microscopy Research and Technique*, 79(6), 532–540. <https://doi.org/10.1002/jemt.22663>
- Salucci, S., Battistelli, M., Baldassarri, V., Burini, D., Falcieri, E., & Burattini, S. (2017). Melatonin prevents mitochondrial dysfunctions and death in differentiated skeletal muscle cells. *Microscopy Research and Technique*, 80(11), 1174–1181. <https://doi.org/10.1002/jemt.22914>
- Scheler, M., Irmeler, M., Lehr, S., Hartwig, S., Staiger, H., Al-Hasani, H., Beckers, J., de Angelis, M. H., Häring, H. U., & Weigert, C. (2013). Cytokine response of primary human myotubes in an in vitro exercise model. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 305(8), 877–886. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00043.2013>
- Shefer, G., Wleklinski-Lee, M., & Yablonka-Reuveni, Z. (2004). Skeletal muscle satellite cells can spontaneously enter an alternative mesenchymal pathway. *Journal of Cell Science*, 117(22), 5393–5404. <https://doi.org/10.1242/jcs.01419>
- Stratos, I., Richter, N., Rotter, R., Li, Z., Zechner, D., Mittlmeier, T., & Vollmar, B. (2012). Melatonin restores muscle regeneration and enhances muscle function after crush injury in rats. *Journal of Pineal Research*, 52(1), 62–70. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2011.00919.x>

- Taniuchi, M., Islam, K., Platts-mills, J. A., Khabir, I. U., Rahman, M., Khan, Z. H., Begum, Y. A., Khanam, F., Khan, A. I., Liu, J., Houpt, E. R., Qadri, F., Health, I., & Dhaka, M. (2020). *The protective effect of melatonin against age-associated sarcopenia-dependant tubular aggregates formation, lactate depletion and mitochondrial changes*. 2014–2018. <https://doi.org/10.1093/gerona/gly059/4942467>
- Teodoro, B. G., Baraldi, F. G., Sampaio, I. H., Bomfim, L. H. M., Queiroz, A. L., Passos, M. A., Carneiro, E. M., Alberici, L. C., Gomis, R., Amaral, F. G., Cipolla-Neto, J., Araújo, M. B., Lima, T., Akira Uyemura, S., Silveira, L. R., & Vieira, E. (2014). Melatonin prevents mitochondrial dysfunction and insulin resistance in rats skeletal muscle. *Journal of Pineal Research*, *57*(2), 155–167. <https://doi.org/10.1111/jpi.12157>
- Ventosa García, B. (2017). *Nutrición y cancer: empleo de la melatonina en terapia nutricional anticancerígena*. 1–32.
- Viña Fernández, J. (2015). *Inflamación Muscular: Etiología, Tratamientos, Prevención Y Poblaciones Susceptibles*. 37.
- Wang, J., Zhang, W., & Wu, G. (2021). Intestinal ischemic reperfusion injury: Recommended rats model and comprehensive review for protective strategies. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *138*(March), 111482. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111482>
- Yin, H., Price, F., & Rudnicki, M. A. (2013). Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiological Reviews*, *93*(1), 23–67. <https://doi.org/10.1152/physrev.00043.2011>
- Zhang, D. yong, Wang, H. jie, & Tan, Y. zhen. (2011). Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling induces the aging of Mesenchymal stem cells through the DNA damage response and the P53/P21 pathway. *PLoS ONE*, *6*(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021397>
- Zhang, H. M., & Zhang, Y. (2014). Melatonin: A well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. *Journal of Pineal Research*, *57*(2), 131–146. <https://doi.org/10.1111/jpi.12162>
- Zhou, L., Chen, X., Liu, T., Gong, Y., Chen, S., Pan, G., Cui, W., Luo, Z. P., Pei, M., Yang, H., & He, F. (2015). Melatonin reverses H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced premature senescence in mesenchymal stem cells via the SIRT1-dependent pathway. *Journal of Pineal Research*, *59*(2), 190–205. <https://doi.org/10.1111/jpi.12250>